



Linee Guida
A cura del Comitato SIU Linee Guida

COLLANA LINEE GUIDA • Edizione 2009

A. Pagliarulo, C. Foresta, V. Pagliarulo,
E. Palminteri, F. Pirozzi Farina, G. Pizzocaro,
R. Salvioni, C. Scoffone, F. Zattoni

Linee Guida

A cura del Comitato SIU Linee Guida



COLLANA LINEE GUIDA
Edizione 2009



SIU
Società Italiana di Urologia
Largo Rodolfo Lanciani, 1
00198 Roma

COMITATO ESECUTIVO

Vincenzo Mirone, Presidente

Marco Carini, Segretario

Francesco Sasso, Tesoriere

Claudio Ferri, Consigliere

Giuseppe Vespasiani, Consigliere

*La pubblicazione e la distribuzione è stata resa possibile
grazie alla Società Italiana di Urologia*

Tutti i diritti sono riservati. La riproduzione o la duplicazione di questa pubblicazione, o di parte di essa, è vietata.

L'editore non è responsabile dei contenuti scientifici e delle informazioni presenti nel volume.

Foto di copertina: **Fotolia**

Stampa: **Tipolitografia TRULLO - Roma**

Editore: **Eventi&Immagine Srl - Roma** • info@eventimmagine.it

COLLANA LINEE GUIDA

Prima edizione settembre 2008 (vedi Indice 2008 a pag. 387)

Seconda edizione ottobre 2009



Linee Guida

Comitato SIU Linee Guida

COORDINATORE: A. Pagliarulo

A. Bertaccini

G. Breda

G. D'Elia

C. Ferri

P. Gontero

R. Miano

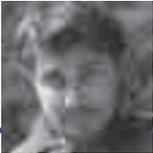
COLLANA LINEE GUIDA
Edizione 2009



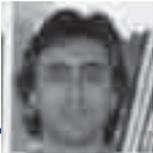
- Carlo Foresta
Università di Padova
-



- Arcangelo Pagliarulo
Università degli Studi di Bari
-



- Vincenzo Pagliarulo
Università degli Studi di Bari
-



- Enzo Palminteri
Centro di Chirurgia Uretrale e Genitale, Arezzo
-



- Furio Pirozzi Farina
Università degli Studi di Sassari
-



- Giorgio Pizzocaro
Clinica Urologica II, Università degli Studi di Milano
-



- Roberto Salvioni
Urologia, Fondazione I.R.C.C.S. Istituto Tumori, Milano
-



- Cesare Scoffone
A.S.O. Ospedale San Luigi, Orbassano
-



- Filiberto Zattoni
Università di Verona
-

INFERTILITA' MASCHILE

Coordinatore

C. Foresta - *Cattedra di Patologia Clinica, Università di Padova*

Revisori

D. Fontana - *Università degli Studi di Torino - Divisione di Urologia II*

V. Gentile - *Università "La Sapienza"- Policlinico Umberto I, Dipartimento di Urologia "U. Bracci" II Cattedra*

B. Giannusso - *Università degli Studi di Catania*

I DISTURBI DELL'EIACULAZIONE

Coordinatore

F. Pirozzi Farina - *Università degli Studi di Sassari*

Revisori

C. Basile Fasolo - *Università degli Studi di Pisa*

C. Bettocchi - *Università degli Studi di Bari*

B. Giannusso - *Università degli Studi di Catania*

E. Pescatori - *Hesperia Hospital, Modena*

G. Piediferro - *Ospedale San Paolo, Milano*

A. Salonia - *Università Vita e Salute San Raffaele, Milano*

NEOPLASIA DEL TESTICOLO

Coordinatore

R. Salvioni - *Urologia, Fondazione I.R.C.C.S. Istituto Tumori, Milano*

Revisori

S. Bracarda - *Oncologia Medica, Ospedale San Donato, Arezzo*

L. Da Pozzo - *Urologia, Istituto San Raffaele, Milano*

U. De Giorgi - *Istituto Scientifico Romagnolo per lo Studio e la Cura dei Tumori, Meldola*

E. Emiliani - *Istituto Oncologico Romagnolo-Ospedale Santa Maria delle Croci, Ravenna*

L. Frassinetti - *Istituto Scientifico Romagnolo per lo Studio e la Cura dei Tumori, Meldola*

M. Marangolo - *Oncologia Medica, Istituto Oncologico Romagnolo-Ospedale Santa Maria delle Croci, Ravenna*

N. Nicolai - *Urologia, Fondazione I.R.C.C.S. Istituto Tumori, Milano*

S. Palazzi - *Istituto Oncologico Romagnolo-Ospedale Santa Maria delle Croci, Ravenna*

G. Palmieri - *Oncologia ed Endocrinologia Molecolare e Clinica, Università Federico II, Napoli*

U. Pastorino - *Urologia, Fondazione I.R.C.C.S. Istituto Tumori, Milano*

G. Pizzocaro - *Clinica Urologica II, Università degli Studi di Milano*

G. Rosti - *Oncologia Medica, Ospedale Ca' Foncello, Treviso*

S. Tana - *Urologia, Fondazione I.R.C.C.S. Istituto Tumori, Milano*

I. M. Tavolini - *Urologia, Ospedale SS Giovanni e Paolo, Venezia*

L. Tedeschi - *Oncologia, Ospedale San Carlo Borromeo, Milano*

NEOPLASIA DELLA VESCICA INFILTRANTE E METASTATICA

Coordinatore

V. Pagliarulo - *Università degli Studi di Bari*

Revisori

G. Arcangeli - *S. C. Radioterapia Oncologica, Regina Elena I.R.C.C.S., Roma*

M. Buscarini - *U. O. di Urologia, Campus Biomedico, Roma*

L. Dogliotti - *A.S.O. Ospedale San Luigi, Orbassano*

M. Porena - *Clinica Urologica, Università di Perugia*

CALCOLOSI DELL'URETERE

Coordinatori

C. Scoffone - *A.S.O. Ospedale San Luigi, Orbassano*

Revisori

E. Montanari - *A. O. San Paolo Polo Universitario, Milano*

F. Porpiglia - *A.S.O. Ospedale San Luigi, Orbassano*

R. M. Scarpa - *A.S.O. Ospedale San Luigi, Orbassano*

G. P. Zanetti - *Ospedale Maggiore Policlinico I.R.C.C.S., Milano*

CALCOLOSI RENALE

Coordinatori

F. Zattoni - *Clinica Urologica, Università di Verona*

Revisori

G. Bianchi - *Clinica Urologica - Policlinico, Modena*

A. Fabris - *Divisione di Nefrologia - Ospedale Civile Maggiore, Verona*

A. Masala - *U.O. Urologia - Ospedale Civile A. Cardarelli, Napoli*

A. Tasca - *U.O. Urologia - Ospedale S. Bortolo, Vicenza*

STENOSI DELL'URETRA: DIAGNOSI E TRATTAMENTO

Coordinatore

E. Palminteri - *Centro di Chirurgia Uretrale e Genitale, Arezzo*

Revisori

E. Berdondini - *Centro di Chirurgia Uretrale e Genitale, Arezzo*

F. Colombo - *SSD Andrologia, A.O. Universitaria S.Orsola-Malpighi di Bologna*

G. Franco - *Dipartimento di Scienze Urologiche U. Bracci, Università La Sapienza di Roma*

M. Gacci - *Clinica Urologica, A.O. Universitaria Careggi di Firenze*

A. Vitarelli - *Università degli Studi di Bari*

CARCINOMA DEL PENE

Coordinatore

G. Pizzocaro - *Clinica Urologica II, Università degli Studi di Milano*

Revisori

M. Colecchia - *Fondazione Istituto Nazionale Tumori, Milano*

V. Ficarra - *Università degli Studi di Padova*

E. Palminteri - *Centro di Chirurgia Uretrale-Genitale, Arezzo.*

S. Perdonà - *Istituto Nazionale Tumori, Fondazione "G. Pascale", Napoli*

S. Tana - *Fondazione Istituto Nazionale Tumori, Milano*

CARCINOMA DELLA PROSTATA - Aggiornamento 2009

Coordinatore

A. Pagliarulo - *Università degli Studi di Bari*

LINEE GUIDA 2009

1. INFERTILITA' MASCHILE	pag	11
2. I DISTURBI DELL'EIACULAZIONE	pag	165
3. NEOPLASIA DEL TESTICOLO	pag	191
4. NEOPLASIA DELLA VESCICA INFILTRANTE E METASTATICA	pag	217
5. CALCOLOSI DELL'URETERE	pag	249
6. CALCOLOSI RENALE	pag	261
7. STENOSI DELL'URETRA: DIAGNOSI E TRATTAMENTO	pag	329
8. CARCINOMA DEL PENE	pag	343

APPENDICE

CARCINOMA DELLA PROSTATA • aggiornamento 2009	pag	379
--	------------	------------

Capitolo 1

INFERTILITA' MASCHILE

C. Foresta

N. Caretta, A. Di Mambro, A. Ferlin
A. Garolla, M. Ghezzi, R. Selice

1. EPIDEMIOLOGIA E FATTORI DI RISCHIO DELL'INFERTILITA' MASCHILE	pag	15
2. APPROCCIO CLINICO-DIAGNOSTICO AL MASCHIO INFERTILE	pag	23
3. CAUSE GENETICHE DI INFERTILITA' MASCHILE	pag	77
4. QUADRI SEMINALI	pag	89
5. PRINCIPALI QUADRI CLINICI ASSOCIATI AD INFERTILITA'	pag	105
6. L'APPROCCIO TERAPEUTICO AL MASCHIO INFERTILE	pag	129
7. METODICHE DI CRIOCONSERVAZIONE	pag	141
8. PARAMETRI SEMINALI E TECNICHE DI PROCREAZIONE MEDICALMENTE ASSISTITA	pag	151

1. Epidemiologia e fattori di rischio dell'infertilità maschile

L'infertilità, definita come fallimento al concepimento di una coppia dopo almeno 12 mesi di rapporti regolari non protetti, rappresenta un problema di salute sociale dal momento che, secondo l'Organizzazione Mondiale della Sanità, circa il 15% delle coppie in età fertile nei paesi occidentali ne è affetta¹. In circa il 30% delle coppie infertili si riconosce un fattore maschile, nel 35% dei casi un fattore femminile, nel 20% dei casi entrambi i fattori ed infine nel 15% delle coppie l'eziologia rimane sconosciuta.

Tabella 1: Infertilità

INFERTILITA' (15% coppie in età fertile)

- **30% Fattore maschile:**

- Cause pre-testicolari (10%)
 - Cause testicolari (75%)
 - Cause post-testicolari (15%)
-

- **35% Fattore femminile:**

- Fattore tubarico (13.3%)
 - Infertilità endocrino-ovulatoria (4.7%)
 - Endometriosi (5.9%)
 - Ridotta riserva ovarica (4.5%)
 - Fattore multiplo femminile (5.8%)
 - Poliabortività (1.1%)
-

- **20% Fattore misto**

- **15% Infertilità idiopatica**

La definizione d'infertilità da fattore maschile di per sé non racchiude una sindrome clinica omogenea e ben definita, potendo sottintendere un'eziologia pre-testicolare (mancata o ridotta produzione spermatica da inadeguata secrezione gonadotropinica), testicolare (patologie primitive testicolari) o post-testicolare (da ostacolato trasporto spermatico lungo le vie escrettrici, da disturbi eiaculatori, da fattore immunologico o da alterata biofunzionalità nemaspermica). Ogni patologia si riflette in una alterazione dei parametri seminali che può coinvolgere il numero e/o la qualità degli spermatozoi.

Tabella 2: Percentuali dei singoli quadri seminali nella popolazione dei maschi infertili

QUADRO SEMINALE	%
Normozoospermia	25
Azoospermia	10
Oligozoospermia	5
Astenozoospermia	30
Teratozoospermia	10
Oligo-asteno-teratozoospermia	20

Negli ultimi anni numerosi studi hanno tentato di analizzare i possibili effetti di fattori ambientali e stili di vita sulla produzione spermatica e sulla fertilità maschile. Tuttavia, solo per pochi di essi vi è una solida evidenza scientifica di una qualche relazione causale, essenzialmente a causa dell'enorme variabilità nella conta spermatica fra i diversi individui e nello stesso soggetto.

Sia nell'uomo che nell'animale un aumento della temperatura scrotale si associa ad un danno della spermatogenesi^{2,3}. Sia un'esposizione ad alte temperature per un breve periodo, sia un'esposizione a modesti aumenti di temperatura per periodi più prolungati, sono in grado di danneggiare quantitativamente e qualitativamente la spermatogenesi. L'aumento della temperatura scrotale può aumentare il numero delle atipie spermatiche, può ridurre la motilità spermatica o ridurre il numero di spermatozoi nell'eiaculato^{2,3}. Di conseguenza, fattori ambientali e stili di vita che alterino la temperatura scrotale potrebbero rappresentare fattori di rischio per una ridotta produzione spermatica. Inoltre, alcune attività lavorative possono incrementare il rischio di infertilità per esposizione a radiazioni, tossici o microtraumi (ad es. nei camionisti).

Alcuni autori hanno riportato un aumento negli ultimi anni di diverse patologie del tratto riproduttivo maschile, tra cui criptorchidismo, ipospadia e soprattutto tumore del testicolo. Questo dato, assieme al supposto aumento di alterazioni della spermatogenesi negli ultimi decenni, ha fatto ipotizzare che alcuni fattori comuni del determinare tali patologie possano agire durante la vita fetale e neonatale. Tali fattori agirebbero sulle cellule del Leydig, sulle cellule del Sertoli o sulle cellule germinali primordiali e spermatogoni, e rappresenterebbero dunque fattori di rischio per il successivo sviluppo di patologie del tratto riproduttivo. L'insieme di queste quattro patologie (tumore del testicolo, criptorchidismo, ipospadia, infertilità) viene talvolta considerato una sindrome, la sindrome da disgenesia testicolare (TDS), sottintendendo che queste quattro patologie riconoscano fattori di rischio comuni e siano l'una fattore di rischio per l'altra⁴.

Per quanto riguarda l'esposizione ambientale a pesticidi, inquinanti ambientali o altre sostanze note o sospettate essere degli "endocrine disruptors", solo un numero limitato di relazioni causali sono state stabilite tra l'esposizione a tali sostanze e gli effetti avversi sulla salute umana⁵⁻⁸.

Alcuni studi recenti hanno comunque confermato che alcune esposizioni, per esempio quelle agli inquinanti del traffico, siano in relazione ad una riduzione dei parametri seminali⁹⁻¹⁰. Il possibile ruolo svolto da sostanze esogene ad attività ormonale sul tratto riproduttivo maschile porta inoltre a considerare il possibile effetto negativo dell'uso di ormoni ai fini sportivi o di body-building. Per quanto riguarda il fumo di sigaretta, esso si associa ad una più alta percentuale di spermatozoi con morfologia anormale, ma non vi è alcuna relazione tra fumo e produzione spermatica¹¹⁻¹².

L'età avanzata si associa a riduzione del volume dell'eiaculato, riduzione della percentuale normale di spermatozoi, riduzione della motilità spermatica, senza effetti evidenti sulla concentrazione degli spermatozoi. Inoltre, l'aumento dell'età si associa ad un incremento delle aneuploidie spermatiche e delle mutazioni germinali de novo, condizioni che a loro volta possono essere responsabili di aborti ripetuti e malattie genetiche nella prole¹³.

Le infezioni del tratto riproduttivo maschile (orchiti, epididimiti, prostatiti, etc) rappresentano ovviamente un fattore di rischio importante, così come una storia di traumi testicolari, torsione del funicolo spermatico o la presenza di malattie concomitanti, quali il diabete mellito, epatopatie, nefropatie o neuropatie, o pregressi interventi chirurgici a livello inguinale, vescicale o sul tratto riproduttivo maschile. Tutti questi fattori, così come l'uso di farmaci ad attività ormonale o farmaci iperprolattinizzanti o farmaci che possono alterare la motilità spermatica, o l'abuso di alcool e droghe, andranno comunque indagati nella valutazione del soggetto infertile.

Certamente, i fattori di rischio più importanti e meglio definiti per l'infertilità maschile sono rappresentati da quelli che direttamente sono in grado di alterare la struttura e la funzione del testicolo stesso.

Tabella 3: Principali fattori di rischio dell'infertilità maschile

- CRIPTORCHIDISMO
 - VARICOCELE
 - TUMORI DEL TESTICOLO
 - TRAUMI TESTICOLARI
 - INFEZIONI DEL TRATTO RIPRODUTTIVO (orchiti, epididimiti, prostatiti)
 - CAUSE IATROGENE (chirurgia, chemioterapia, radioterapia)
 - FAMILIARITA' per INFERTILITA' e POLIABORTIVITA'
 - MALATTIE SISTEMICHE e/o ENDOCRINE
 - TORSIONE del FUNICOLO SPERMATICO
 - ESPOSIZIONE a FATTORI TOSSICI AMBIENTALI e/o OCCUPAZIONALI
-

Il criptorchidismo, sia in forma monolaterale che bilaterale, indipendentemente dalla sede del testicolo ritenuto (addominale o inguinale) e dall'età al momento dell'intervento di orchidopessi, espone ad un aumentato rischio di infertilità, oltre che di tumore del testicolo¹⁴.

Con il termine "criptorchidismo" si indica la mancata discesa di uno o di entrambi i testicoli all'interno della borsa scrotale ed è il più frequente difetto congenito nei neonati maschi (2-4% dei nati maschi)¹⁵. Negli ultimi anni sono stati compiuti passi importanti nella comprensione della fisiologia della discesa testicolare, ma l'esatta eziologia del criptorchidismo rimane ancora per gran parte sconosciuta^{16,17}. Numerosi studi hanno evidenziato che i principali regolatori della discesa testicolare sono

gli ormoni prodotti dalle cellule di Leydig, INSL3 e testosterone, coinvolti rispettivamente nella fase trans-addominale ed inguino-scrotale della discesa dei testicoli¹⁶, attraverso il loro legame con i recettori RXFP2 (relaxin family peptide 2) e AR (androgen receptor). Un possibile contributo genetico al criptorchidismo, quindi, potrebbe essere sostenuto da mutazioni del sistema INSL3/RXFP2 o dell'AR o da alterazioni cromosomiche associate a deficit assoluto o relativo di androgeni. In un recente lavoro su ampia casistica¹⁸ è stato dimostrato che le aberrazioni cromosomiche rappresentano l'anomalia genetica più frequente nei casi di criptorchidismo, soprattutto se persistente (1.6% forme monolaterali, 4.2% forme bilaterali) e che tali alterazioni del cariotipo sono esclusivamente rappresentate dalla Sindrome di Klinefelter (cariotipo 47XXY). In linea generale possono essere individuate due distinte categorie di pazienti criptorchidi: soggetti con alterazioni genetiche, frequentemente affetti da criptorchidismo bilaterale, che mostrano un progressivo danno testicolare (coinvolgente anche il testicolo sceso normalmente in caso di criptorchidismo monolaterale)¹⁹ e che sono ad elevato rischio di infertilità e tumore del testicolo²⁰⁻²⁴; soggetti con basso peso alla nascita, nati prematuri, spesso dopo gravidanze complicate da diabete o preeclampsia, nei quali solitamente si verifica la discesa spontanea dei testicoli durante i primi mesi di vita; questo secondo gruppo di pazienti è a minor rischio di degenerazione testicolare, soprattutto se l'intervento di orchidopessi viene eseguito precocemente²⁴ e raramente presentano anomalie genetiche.

Un altro importante fattore di rischio per l'infertilità maschile, anche in considerazione della sua elevata prevalenza nella popolazione maschile giovane-adulta, è il **varicocele**.

Questa patologia, caratterizzata da un'abnorme dilatazione delle vene del plesso pampiniforme, è presente in circa il 15% della popolazione maschile e in circa il 40% degli uomini infertili.

Il meccanismo con cui il varicocele induce il danno testicolare non è stato ancora del tutto chiarito, ma un ruolo centrale sembrerebbe giocato dall'ipertensione venosa, che in cronico determina ristagno di sangue con ipossia parenchimale e quindi atrofia e fibrosi dell'organo²⁵.

In realtà tali alterazioni non compaiono in tutti i soggetti affetti da varicocele, ma solo in alcuni di essi. Perché il varicocele abbia un effetto dannoso sulla spermatogenesi solo in alcuni uomini non è ancora chiarito e numerosi meccanismi fisiopatologici sono stati invocati quali causa del danno testicolare: ipossia, ipertermia, disfunzioni ormonali, autoimmunità, stress ossidativo, apoptosi ed aumento della pressione idrostatica nel sistema di drenaggio venoso testicolare²⁶.

Il tumore a cellule germinali del testicolo è la più frequente neoplasia maligna nei maschi caucasici tra i 15 ed i 40 anni ed affligge approssimativamente l'1% degli uomini con ridotta fertilità. La sua incidenza annuale varia da 10/100,000 (in Norvegia e Danimarca) a 2/100,000 (in Finlandia e nei Paesi Baltici) e negli ultimi anni è significativamente aumentata²⁷. Generalmente la neoplasia si sviluppa inizialmente come CIS e poi progredisce in forma invasiva se non trattata²⁸⁻³⁰. Molti dei pazienti affetti da tumore testicolare hanno una storia pregressa di criptorchidismo e/o ipospadia o disgenesia testicolare, per cui tali condizioni vengono considerate fattori di rischio per lo sviluppo della neoplasia in età adulta. Infine, nei testicoli dei pazienti affetti da tumore testicolare si riscontra frequentemente la presenza di microlitiasi, un'entità clinica, il cui significato non è stato ancora del tutto chiarito. La maggioranza dei soggetti affetti da tumore testicolare a cellule germinali presenta una ridotta qualità seminale, persino prima della diagnosi³¹ ed il trattamento con chemioterapia e/o radioterapia, sia in epoca pre-puberale che adulta, possono peggiorare ulteriormente i parametri seminali³², a causa del danno, transitorio o permanente, che inducono sulla spermatogenesi. I farmaci citotossici in grado di danneggiare la funzione testicolare sono numerosissimi e praticamente tutti sono in grado di portare ad una riduzione importante del numero delle cellule germinali (a seconda del dosaggio utilizzato e dello schema tera-

peutico), ma gli agenti alchilanti, il cisplatino e la procarbazina sembrano provocare gli effetti più deleteri sulla spermatogenesi. Per tale motivo deve essere sempre consigliata una crioconservazione del liquido seminale prima dell'inizio della terapia. Inoltre, insieme al danno spermatogenetico, i pazienti con tumore germinale testicolare presentano una disfunzione delle cellule di Leydig, che coinvolge anche il testicolo sano controlaterale³³ ed incrementa il rischio di sviluppo di ipogonadismo negli anni³⁴.

Le alterazioni genetiche possono rappresentare fattori di rischio per infertilità. Infatti in circa il 15% dei soggetti maschi infertili è possibile identificare una specifica anomalia genetica³⁵ responsabile dell'alterazione riproduttiva, ma c'è ormai accordo nel sottintendere meccanismi genetici non ancora identificati anche nella maggioranza di casi di infertilità idiopatica (vedi capitolo 3).

Infine, un capitolo a parte è rappresentato dalla **microlitiasi testicolare**.

Con tale termine si definisce la presenza ecografica di multiple lesioni iperecogene, uniformemente distribuite nel parenchima testicolare ("a cielo stellato"). Tale alterazione si riscontra incidentalmente nello 0.6-9% dei soggetti che si sottopongono ad ecografia testicolare³⁶⁻³⁸.

Numerosi studi hanno trovato un'associazione tra le microlitiasi e le neoplasie del testicolo, ma non è ancora chiaro se queste due entità abbiano una comune eziologia oppure se tra di esse esista una relazione di causa-effetto. Diversi studi evidenziano che l'incidenza della microlitiasi è maggiore nei soggetti affetti da neoplasia testicolare, variando dal 6% al 46% nei soggetti affetti da tumore germinale del testicolo³⁹⁻⁴¹ e dati preliminari da studi su ampia casistica sembrano rilevare una maggior prevalenza di microcalcificazioni testicolari in pazienti con alterazioni dei parametri seminali (soggetti oligozoospermici severi o azoospermici). La microlitiasi, quindi, sarebbe il segno clinico di un severo danno a carico dei tubuli seminiferi. Sulla base di tali considerazioni, il riscontro di microcalcificazioni diffuse testicolari, in quanto espressione di un possibile danno della spermatogenesi, impone una valutazione della fertilità del soggetto, mediante esecuzione dell'esame seminale.

Bibliografia

1. De Kretser DM. Male infertility. *Lancet*. 1997; 349(9054): 787-90.
2. Miesusset R and Bujan L. Testicular heating and its possible contributions to male infertility: a review. *Int J Androl* 1995; 18: 169-184.
3. Setchell BP. Heat and the testis. *J Reprod Fertil* 1995; 114:179-184.
4. Main KM, Skakkebaek NE, Toppari J. Cryptorchidism as part of the testicular dysgenesis syndrome: the environmental connection. *J. Endocr Dev*. 2009; 14: 167-73.
5. De Jager C, Farias P, Barraza-Villarreal A, Avila MH, Ayotte P, Dewailly E, Dombrowski C, Rousseau F, Sanchez VD, Bailey JL. Reduced seminal parameters associated with environmental DDT exposure and p,p'-DDE concentrations in men in Chiapas, Mexico: a cross-sectional study. *J Androl* 2006; 27(1): 16-27.
6. Aneck-Hahn NH, Schulenburg GW, Bornman MS, Farias P, de Jager C. Impaired semen quality associated with environmental DDT exposure in young men living in a malaria area in the Limpopo-Province- South-Africa. *J Androl* 2007; 28(3): 423-434.
7. Petrelli G and Figà-Talamanca I. Reduction in fertility in male greenhouse workers exposed to pesticides. *Eur J Epidemiol* 2001; 17(7): 675-677.
8. Petrelli G and Mantovani A: Environmental risk factors and male fertility and reproduction. *Contraception* 2002; 65(4): 297-300.
9. Figà-Talamanca I, Cini C, Varricchio GC, Dondero F, Gandini L, Lenzi A, Lombardo F, Angelucci L, Di Grezia R, Patacchioli FR. Effects of prolonged automobile driving on male reproductive function: a study among taxi drivers. *Am J Ind Med* 1996; 30:750-758.
10. Telisman S, Colak B, Pizent A, Jurasović J, Cvitković P. Reproductive toxicity of low-level lead exposure in men. *Environ Res* 2007; 105(2): 256-266.

11. Gandini L, Lombardo F, Lenzi A, Culasso F, Pacifici R, Zuccaro P, Dondero F. The in-vitro effects of nicotine and cotinine on sperm motility. *Hum Reprod* 1997; 12(4): 727-733.
12. Hassa H, Yildirim A, Can C, Turgut M, Tanir HM, Senses T, Sahin-Mutlu F. Effect of smoking on semen parameters of men attending an infertility clinic. *Clin Exp Obstet Gynecol* 2006; 33(1): 19-22.
13. Kidd SA, Eskenazi B, Wyrobek AJ. Effects of male age on semen quality and fertility: a review of the literature. *Fertil Steril* 2001; 75: 237-248.
14. Foresta C, Zuccarello D, Garolla A, Ferlin A. Role of hormones, genes and environments in human cryptorchidism. *Endocr Rev* 2008; 29(5): 560-580.
15. Boisen KA, Kaleva M, Main KM. Difference in prevalence of congenital cryptorchidism in infants between two Nordic countries. *Lancet*. 2004; 363(9417): 1264-1269.
16. Foresta C, Zuccarello D, Garolla A, Ferlin A. Role of hormones, genes and environment in human cryptorchidism. *Endocr Rev*. 2008;29(5): 560-580.
17. Virtanen HE, Toppari J. Epidemiology and pathogenesis of cryptorchidism. *Hum Reprod Update*. 2008; 14(1):49-58.
18. Ferlin A, Zuccarello D, Zuccarello B, Chirico MR, Zanon GF, Foresta C. Genetic alterations associated with cryptorchidism. *JAMA*. 2008; 300(19): 2271-2276.
19. Foresta C, Ferlin A, Garolla A, Milani C, Oliva G, Rossato M. Functional and cytologic features of the contralateral testis in cryptorchidism. *Fertil Steril*. 1996; 66(4):624-629.
20. Giwercman A, von der Maase H, Skakkebaek NE. Epidemiological and clinical aspects of carcinoma in situ of the testis. *Eur Urol*. 1993; 23(1): 104-110.
21. Cortes D, Thorup JM, Visfeldt J. Cryptorchidism: aspects of fertility and neoplasms: a study including data of 1,335 consecutive boys who underwent testicular biopsy simultaneously with surgery for cryptorchidism. *Horm Res*. 2001; 55(1): 21-27.
22. Rajpert-De Meyts E. Developmental model for the pathogenesis of testicular carcinoma in situ: genetic and environmental aspects. *Hum Reprod Update*. 2006; 12(3): 303-323.
23. Husmann DA. Cryptorchidism and its relationship to testicular neoplasia and microlithiasis. *Urology*. 2005; 66(2): 424-426.
24. Walsh TJ, Dall'Era MA, Croughan MS, Carroll PR, Turek PJ. Prepubertal orchiopexy for cryptorchidism may be associated with lower risk of testicular cancer. *J Urol*. 2007; 178(4 pt 1):1440-1446.
25. Nagler HM, Luntz RK, Martinis FG. Varicocele. In: Lipshultz LI, Howards SS eds. *Infertility in the Male*. St. Louis: Mosby Year Book; 1997: 336-359.
26. The Practice Committee of The American Society for Reproductive Medicine. Report on varicocele and infertility. *Fertil Steril* 2008; 90(supp 3): S247-S249.
27. Gianotten J et al. Familial clustering of impaired spermatogenesis: no evidence for a common genetic inheritance pattern. *Fertil Steril* 2004; 19: 71-76.
28. Huyghe E, Matsuda T, Thonneau P. Increasing incidence of testicular cancer worldwide: a review. *J Urol* 2003;170(1): 5-11.
29. Skakkebaek NE. Carcinoma in situ of the testis: frequency and relationship to invasive germ cell tumours in infertile men. *Histopathology* 1978;2(3): 157-170.
30. Von der Maase H, Rorth M, Walbom-Jorgensen S, Sorensen BL, Christophersen IS, Hald T, Jacobsen GK, Berthelsen JG, Skakkebaek NE. Carcinoma in situ of contralateral testis in patients with testicular germ cell cancer: study of 27 cases in 500 patients. *Br Med J* 1986;293(6559): 1398-1401.
31. Giwercman A, Muller J, Skakkebaek NE. Carcinoma in situ of the undescended testis. *Semin Urol* 1988;6(2): 110-119.
32. Petersen PM, Skakkebaek NE, Vistisen K, Rorth M, Giwercman A. Semen quality and reproductive hormones before orchiectomy in men with testicular cancer. *J Clin Oncol* 1999;17(3): 941-947.
33. Eberhard J, Stahl O, Giwercman Y, Cwikiel M, Cavallin-Stahl E, Lundin KB, Flodgren P, Giwercman A. Impact of therapy and androgen receptor polymorphism on sperm concentration in men treated for testicular germ cell cancer: a longitudinal study. *Hum Reprod* 2004;19(6): 1418-1425.
34. Willemse PH, Sleijfer DT, Sluiter WJ, Schraaffordt Koops H, Doorenbos H. Altered Leydig cell function in patients with testicular cancer: evidence for bilateral testicular defect. *Acta Endocrinol (Copenh)* 1983;102(4): 616-624.

35. Nord C, Bjoro T, Ellingsen D, Mykletun A, Dahl O, Klepp O, Bremnes RM, Wist E, Fossa SD. Gonadal hormones in long-term survivors 10 years after treatment for unilateral testicular cancer. *Eur Urol* 2003;44(3):322-328.
36. Parra BL, Venable DD, Gonzalez E, Eastham JA. Testicular microlithiasis as a predictor of intratubular germ cell neoplasia. *Urology* 1996;48(5):797-9.
37. Peterson AC, Bauman JM, Light DE, McMann LP, Costabile RA. The prevalence of testicular microlithiasis in an asymptomatic population of men 18 to 35 years old. *J Urol* 2001;166(6):2061-4.
38. 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(5):818-24.
39. 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(869):494-7.
40. 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(6):1133-7.
41. Miller FN, Sidhu PS. Does testicular microlithiasis matter? A review. *Clin Radiol* 2002;57(10):883-90.

2. Approccio clinico-diagnostico al maschio infertile

2.1 ANAMNESI ED ESAME OBIETTIVO

I punti base di un corretto orientamento diagnostico in medicina sono rappresentati dall'anamnesi e dall'esame obiettivo, quindi l'approccio iniziale al paziente infertile dovrà prevedere una adeguata ed accurata anamnesi generale ed un esame obiettivo internistico, completati da eventuali accertamenti strumentali e di laboratorio, che possano aiutare nella diagnosi.

Superata questa prima fase si focalizzerà l'attenzione sull'indagine anamnestica specificatamente andrologica. Questa dovrà orientarsi sulla ricerca di eventuali patologie familiari di tipo genetico, metabolico od endocrino, che possano alterare lo sviluppo gonadico; su abitudini di vita (fumo, alcolici, droghe, attività sportive), sul tipo di attività lavorativa (contatti con tossici o radioattivi, esposizione ripetuta a microtraumi), sull'uso di farmaci che possano danneggiare la funzione testicolare; sulle caratteristiche genitali alla nascita e nei primi anni di vita, sullo sviluppo puberale per individuare forme congenite di ipogonadismo; su eventuali patologie pregresse dell'apparato genitale (flogosi, traumi, algie) che possano aver determinato un danno dei tubuli seminiferi o delle vie seminali; sull'attività sessuale del soggetto e sulla situazione della coppia, allo scopo di evidenziare eventuali fattori relazionali e psicogeni confondenti nella valutazione del paziente. Infine, la valutazione del maschio infertile non può prescindere dalla conoscenza dello stato di salute della partner femminile.

L'esame obiettivo andrologico approfondirà le caratteristiche strutturali e morfologiche del pene, allo scopo di individuare eventuali curvature, placche, flogosi del glande, lesioni condilomatose; dei testicoli, per escludere ipotrofia testicolare, masse solide parenchimali, idrocele; degli epididimi, per individuare ingrandimenti, cisti, algie; dei deferenti per apprezzarne la presenza; delle strutture funicolari per escludere la presenza di ectasie del plesso pampiniforme e/o di reflusso venoso; della prostata e delle vescicole seminali, per valutarne il volume, la consistenza e l'evocabilità del dolore. È bene condurre, dapprima, un'esplorazione con paziente in ortostatismo in quanto in tale postura si evidenziano con maggiore facilità le singole strutture della borsa scrotale; inoltre, eventuali varicosità della vena spermatica (varicocele), potranno essere evidenziate e amplificate con la manovra di Valsalva (varicocele con reflusso) solo in questa posizione. Il passaggio in clinostatismo potrà confermare diagnosi di stasi vascolare (svuotamento del varicocele) e consentire lo studio di altre patologie (idrocele comunicante, canale inguinale pervio, criptorchidismo). La prostata e le vescicole seminali devono essere studiate mediante l'esplorazione rettale che consente, se correttamente eseguita, di dare notizie preziose sullo "status interno" dell'apparato genitale. Terminata questa prima fase clinica, la diagnostica dell'infertilità maschile si orienta su indagini strumentali e di laboratorio.

2.2 ESAME DEL LIQUIDO SEMINALE

L'esame standard del liquido seminale (spermiogramma) rappresenta il punto di partenza (primo livello) e l'analisi guida per l'impostazione di tutte le successive analisi di secondo livello. Per una corretta esecuzione laboratoristica dell'esame del liquido seminale è fondamentale standardizzare delle precise norme di raccolta e consegna nonché di valutazione del campione stesso: da alcuni anni viene considerato come punto di riferimento per tale scopo il manuale del WHO.

Tabella 1: Esame del liquido seminale (WHO, 1999)

PARAMETRI SEMINALI STANDARD	RANGE DI NORMALITA'
VOLUME SEMINALE	> 2 ml
pH	> 7.2
CONCENTRAZIONE SPERMATOZOI/ML	> 20x 10 ⁶
CONCENTRAZIONE SPERMATOZOI/EIACULATO	> 40x 10 ⁶
MOTILITÀ (%)	> 50% motilità progressiva (grado a+b) o > 25% motilità rapidamente progressiva (grado a)
MORFOLOGIA (%)	> 30
VITALITÀ (%)	> 50
LEUCOCITI	< 1x 10 ⁶ /ml
LUNOBEAD TEST O MAR TEST	< 50% spermatozoi mobile con bead adese < 50% spermatozoi con particelle adese

Tabella 2: Terminologia utilizzata per la classificazione delle caratteristiche del liquido seminale

Normozoospermia	Normalità dei parametri seminali
Oligozoospermia	Concentrazione spermatica < 20x 10 ⁶ /ml
Astenozoospermia	< 50% di spermatozoi con motilità progressiva (grado a+b) oppure < 25% di spermatozoi motilità rapidamente progressiva (grado a)
Teratozoospermia	< 30% di spermatozoi con morfologia normale
Oligo-asteno-teratozoospermia	Alterazione del numero, della motilità e della morfologia degli spermatozoi
Criptozoospermia	Assenza di spermatozoi nell'eiaculato, ma presenza di cellule spermatiche dopo centrifugazione (concentrazione spermatica < 1x 10 ⁶ /ml)
Azoospermia	Assenza di spermatozoi nell'eiaculato anche dopo centrifugazione
Aspermia	Assenza di eiaculato

L'esame del liquido seminale comprende la valutazione di parametri macroscopici e microscopici dell'eiaculato. Per quanto riguarda i parametri macroscopici vanno considerate le caratteristiche reologiche del liquido seminale (aspetto, viscosità, fluidificazione) e vengono valutati il volume di eiaculato ed il pH seminale. Per quanto concerne l'esame microscopico, è necessario valutare la concentrazione nemaspermica, espressa per ml, il numero totale di spermatozoi per eiaculato, la percentuale di motilità differenziata per tipo ed, infine, la morfologia nemaspermica. Si passa quindi alla valutazione della componente cellulare non nemaspermica, costituita da leucociti, cellule della linea germinativa, cellule epiteliali, emazie, zone di spermioagglutinazione, corpuscoli prostatici.

Per una corretta valutazione dell'esame seminale è necessario ricordare che non sempre alterazioni dei parametri seminali riflettono condizioni patologiche, potendo essere anche la semplice espressione della fisiologica variabilità intraindividuale nella conta spermatica o conseguenza di errori nella modalità di raccolta, trasporto o valutazione del campione seminale. In particolare un periodo di astinenza troppo breve (<3 giorni) o eiaculazioni frequenti nel periodo precedente la raccolta seminale possono causare una riduzione del volume dell'eiaculato e del numero di spermatozoi e, a volte, possono indurre la presenza di leucociti e/o emazie. Al contrario un periodo di astinenza eccessivo (>5 giorni) può alterare la morfologia e la motilità degli spermatozoi. Analoghe alterazioni seminali possono riscontrarsi anche in campioni raccolti in una sede diversa da quella dell'analisi, a causa di possibili contaminazioni batteriche, dell'esposizione allo shock termico e dei tempi necessari al trasporto del campione. Va inoltre sempre indagata la presenza nei tre mesi precedenti l'esame seminale di febbre, di terapie farmacologiche o di eventi stressanti, in grado di alterare transitoriamente i parametri seminali. Infine è necessario affidarsi ad operatori capaci e rigorosi, poiché l'esame seminale è un'indagine che più di altre risente di tale variabile.

Una volta escluse le variabili che possono interferire con la corretta interpretazione seminale, ci si può concentrare sui singoli parametri da analizzare e sulle loro alterazioni.

Una corretta esecuzione dell'esame del liquido seminale prevede una opportuna successione di passaggi che analizzeremo in dettaglio suddividendole in fasi.

FASE 1: ACCETTAZIONE

Il paziente proveniente da vari ambulatori, reparti o divisioni ospedaliere viene ricevuto previo appuntamento.

La fase dell'accettazione consiste nel controllo dei dati anagrafici del paziente, che fornisce un valido documento di riconoscimento all'operatore, permettendo così la corretta compilazione del modulo di lavoro. Al paziente vengono richiesti, oltre a nome e cognome, la data di nascita ed i giorni di astinenza dall'ultimo rapporto sessuale o dall'ultima eiaculazione. Quest'ultimo dato va segnato con precisione e dovrebbe, quanto più possibile, rientrare in un intervallo compreso tra 2 e 7 giorni.

I dati vengono riportati su un'etichetta che va fissata al contenitore "a bocca larga" per la raccolta, rigorosamente sterile.

La raccolta avviene per masturbazione ed il campione deve essere consegnato entro 30 minuti dall'eiaculazione e conservato a temperatura costante di 37° C per evitare escursioni termiche che potrebbero deteriorare la qualità del liquido seminale.

È necessario accertarsi che il paziente non abbia perso parti dell'eiaculato, che, per le sue caratteristiche intrinseche risulta suddivisibile in più frazioni, caratterizzate da secrezioni prostatiche o vescicolari. In particolare, dal momento che la maggior quantità di spermatozoi è presente nella prima frazione, è necessario segnalare l'eventuale perdita di tale componente.

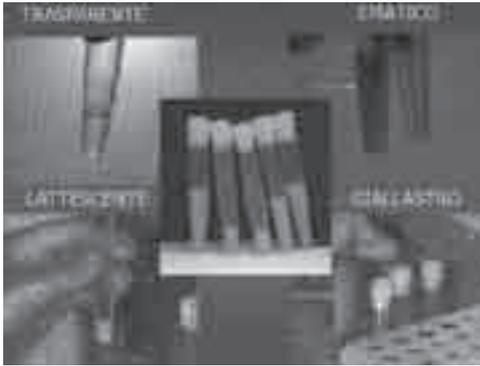
FASE 2: ANALISI

La fase analitica viene suddivisa in 2 momenti distinti: valutazione macroscopica e microscopica. La prima parte prevede la registrazione di parametri macroscopici, quali volume, aspetto, viscosità, fluidificazione e pH.

L'analisi del **volume** offre già una prima serie di informazioni sullo status fisiologico dell'apparato uro-genitale, dal momento che permette una valutazione dell'attività testicolare complessiva (il valore di normalità è stabilito dall'intervallo compreso tra 2 e 5 ml, al di sotto del quale il paziente risulta affetto da ipoposia, mentre valori superiori ai 5 ml sanciscono uno status di iperposia). La quantificazione del volume offre anche un'idea della funzionalità delle ghiandole accessorie e della pervietà delle vie genitali. Le alterazioni del volume del liquido seminale possono essere caratterizzate dalla completa assenza di liquido seminale nell'eiaculato o dall'aumento o dalla riduzione della sua quantità.

- **ASPERMIA:** con tale termine si indica genericamente l'assenza di eiaculato. Tale fenomeno può essere conseguente ad anorgasmia (aneiaculazione anorgasmica), ad eiaculazione retrograda o a mancata fase di emissione del liquido seminale in uretra (aspermia vera). Nella prima forma la causa può essere psicogena o più raramente neurogena (da lesione neurologica centrale o da neuropatia sensitiva periferica); in tali casi l'eiaculazione può essere indotta mediante vibrostimolazione del pene con un apposito strumento (Ferticare) o mediante elettrostimolazione. L'eiaculazione retrograda è dovuta invece ad inefficace chiusura del collo vescicale e riconosce molteplici cause: anatomiche, congenite o più frequentemente acquisite come gli interventi chirurgici sulla prostata, sul collo vescicale o sull'uretra posteriore; cause farmacologiche (terapie con alfa-bloccanti, antidepressivi, antipsicotici); infine cause neurologiche, come nelle lesioni midollari toracolumbari, nelle resezioni rettali o sigmoidee allargate e nel diabete mellito.
- **IPOPOSIA:** con il termine di ipoposia si intende un volume di eiaculato inferiore ai 2 ml. Tale alterazione può essere dovuta ad una ridotta astinenza da rapporti sessuali o eiaculazioni, ad una raccolta seminale incompleta (pertanto deve essere sempre indagata un'eventuale perdita di eiaculato al momento della raccolta), a flogosi prostatovescicolari (associate a pH alto) che possono determinare una alterata funzionalità secretoria ghiandolare, ad un quadro di ipogonadismo, ad assenza o ostruzione delle vie escrettrici (associata a pH basso) o a forme cosiddette idiopatiche quando non è possibile riscontrare cause ben documentabili.
- **IPERPOSIA:** tale quadro è caratterizzato da un volume di eiaculato superiore ai 5 ml. L'iperposia può essere dovuta ad una astinenza prolungata, alla presenza di flogosi prostatovescicolari (pertanto è opportuno sempre nel sospetto di queste forme valutare la contemporanea presenza di leucospermia e/o emospermia), o a forme idiopatiche quando non sono presenti elementi seminali atti alla sua caratterizzazione.

L'aspetto viene valutato avvicinando la provetta con il liquido seminale ad una fonte luminosa. È possibile definire una scala categoriale, da trasparente a lattescente, scegliendo come valore di normalità il colore opalescente. Un liquido seminale trasparente può indicare una riduzione della componente nemaspermica, mentre liquidi giallastri o ematici indicano, rispettivamente, un'elevata concentrazione di leucociti o emazie segno di flogosi o infezione delle vie seminali. Infine, un liquido seminale lattescente indica la presenza di una forte componente prostatica.



La **viscosità** può essere sia normale che aumentata, che diminuita. Una viscosità aumentata può a sua volta avere diversa gradazione, riportata nel referto con gradazione quantitativa, e può essere associata ad uno stato di flogosi. La misurazione avviene facendo gocciolare il liquido da una pipetta, osservando come le gocce dovrebbero susseguirsi in maniera ritmica una dopo l'altra. La formazione di filamenti è un segnale di aumentata viscosità.

Anche la **fluidificazione** va valutata attentamente, dal momento che, nei primi minuti successivi all'eiaculazione, il liquido, per effetto dell'azione di enzimi prodotti dalle vescichette seminali, forma un coagulo che arriva a sciogliersi dopo circa 15 minuti dalla consegna ad opera delle proteinasi del secreto prostatico, permettendo la scomparsa di strie di muco che potrebbero interferire con la motilità degli spermatozoi. In questa fase possono essere presenti nel liquido granuli che, vanno prontamente sottratti e quantificati. L'assenza del coagulo in condizioni basali indica una possibile agenesia delle vescichette seminali o una agenesia dei dotti eiaculatori. Se dopo 60 minuti la fluidificazione non è completa, si parla di fluidificazione ritardata. La misurazione viene effettuata tramite percolamento del liquido lungo le pareti della provetta ed osservazione della qualità del liquido contro una sorgente luminosa. Tale quadro è compatibile con un disturbo prostatico.

Il **pH** del liquido seminale, misurato con apposite cartine indicatrici, deve rientrare tra 7.2 e 8.0 per poter essere definito normale, senza che vi sia compromissione a livello prostatico o vescicolare.

Livelli di pH acidi (< 7.2), in associazione ad una ipoposia, indicano la prevalenza della componente prostatica per compromissione delle vescichette seminali, pertanto possono essere segno di ostruzione o agenesia dei dotti eiaculatori.

Livelli di pH basici (> 8) indicano la prevalenza della componente vescicolare per compromissione prostatica da verosimile causa flogistica.

La seconda parte dell'analisi consiste nella valutazione dei **parametri microscopici**.

In primo luogo l'operatore verifica la **concentrazione spermatica** attraverso la camera di conta di Makler (vedi Fig. 1); si tratta di una griglia 10 x 10 che consente di determinare la concentrazione spermatica (milioni di spermatozoi/ml) attraverso il conteggio e la lettura del numero di spermatozoi nelle singole righe. Tale valore viene poi moltiplicato per il volume totale, così da ottenere una concentrazione spermatica che dia un'idea del numero di spermatozoi nell'eiaculato indicando il grado di attività della spermatogenesi. L'assenza di spermatozoi viene definita **azoospermia**, concentrazioni inferiori a 1 milione/ml definiscono la **criptozoospermia**, mentre tra 1 e 20 milioni/ml di spermatozoi si parla di oligozoospermia. Valori superiori a 20 milioni/ml

e 40 milioni/eiaculato stabiliscono la **normozoospermia**.

Nel caso in cui la valutazione a fresco indichi una presenza molto bassa di spermatozoi, si ricorre a camere a sensibilità maggiore rispetto alla camera di Makler (Fig. 1) e, più precisamente, alla camera di Neubauer (Fig. 2), in cui 1 spermatozoo in griglia corrisponde a 10.000 spermatozoi per ml.

Fig. 1 Camera di Makler

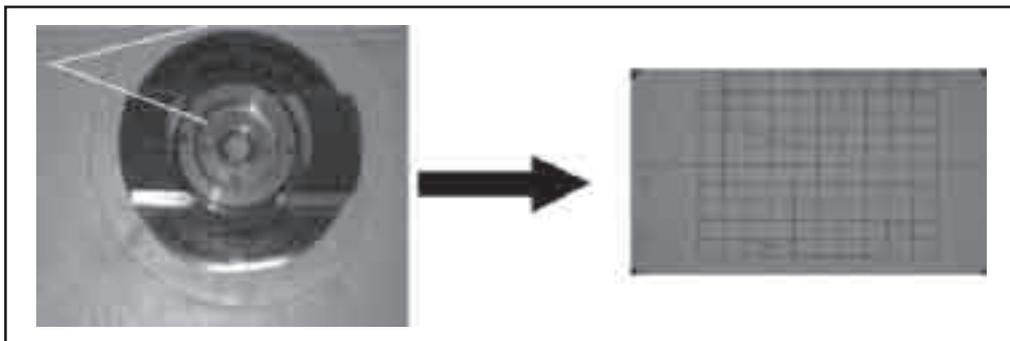
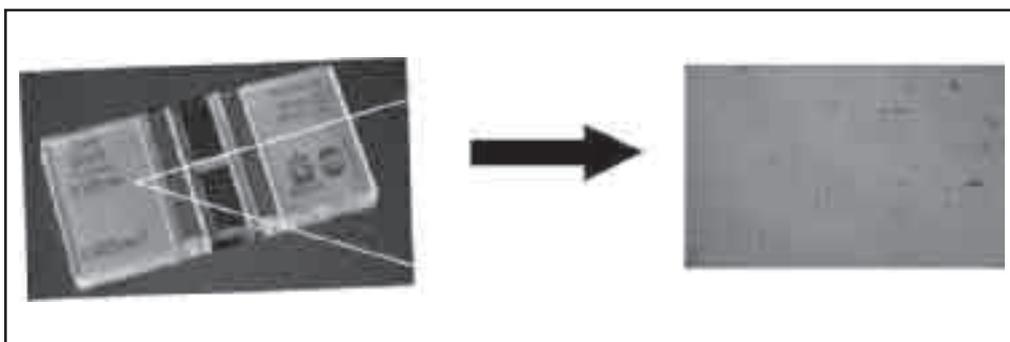


Fig. 2 Camera di Neubauer



L'osservazione in camera di Makler è utilizzata, inoltre, per valutare la componente non gametica, rappresentata da cellule di sfaldamento, round cells (v.n. < 5.0 milioni/ml), emazie (v.n. < 1.0 milioni/ml), leucociti (v.n. < 1.0 milioni/ml) e spermatici.

La motilità, valutata generalmente in camera di Makler o su un vetrino con copri oggetto da 24x24 a fresco, viene ripartita in 4 classi:

A) PROGRESSIVA RAPIDA

lo spermatozoo si sposta in linea retta, senza ondulazioni, ad una velocità superiore a 25 μ m/s.

B) PROGRESSIVA

lo spermatozoo si muove in una direzione con forti ondulazioni della coda.

C) NON PROGRESSIVA

lo spermatozoo produce vibrazioni che ne consentono il movimento in situ.

D) ASSENTE

Una motilità normale è definita da una percentuale di forme progressive rapide superiore al 25% o, se questa percentuale fosse inferiore, dalla somma delle percentuali di spermatozoi con motilità progressiva rapida e progressiva superiore al 50%. Per valori inferiori si parla di astenozoospermia.

In caso di astenozoospermia è importante valutare la modalità della raccolta del liquido seminale, la sua conservazione/trasporto al laboratorio analisi, il pH, la viscosità seminale e la eventuale presenza di spermioagglutinazioni ed anticorpi antispermatozoo. Il dosaggio di alcuni indicatori biochimici di funzionalità prostatica, vescicolare, epididimaria quali la fosfatasi acida, zinco, fruttosio, alfa-glucosidasi, anche se poco indicativi e poco utilizzati, possono in taluni casi indirizzare verso un'alterazione delle ghiandole accessorie quale possibile causa dell'astenozoospermia. E' necessario pertanto eseguire accertamenti di approfondimento con una spermiocoltura e/o urinocoltura del primo mitto, per escludere la presenza di infezioni del tratto riproduttivo e delle vie urogenitali, responsabili di un danno sugli spermatozoi diretto o indiretto tramite la produzione di citochine o altri prodotti da parte delle cellule della risposta infiammatoria. In caso di infezione batterica la terapia antibiotica mirata dovrà essere seguita da una spermiocoltura di controllo almeno 2-3 settimane dopo la fine del trattamento e da nuova analisi del liquido seminale da eseguire almeno tre mesi dopo l'eradicazione dell'infezione.

Un altro importante test a cui sottoporre gli spermatozoi è il test della vitalità, che valuta l'integrità cellulare dello spermatozoo, ovvero la sua capacità di non accettare sostanze dall'esterno. La sostanza usata per questo test è l'eosina. Sarà necessario distinguere le forme vive da quelle morte, osservando, in un campo, quanti spermatozoi risultano colorati di rosso (spermatozoi morti) e quanti di bianco (spermatozoi vivi). Si parla di necrozoospermia quando la percentuale di forme vitali è inferiore al 50%. Associato al test dell'eosina c'è il test di rigonfiamento osmotico (Swelling test), un ulteriore test di vitalità nemaspermica, che stabilisce la capacità osmoregolatrice degli spermatozoi in funzione dell'integrità funzionale di membrana. Si attua mescolando 0.1 ml di liquido seminale con 1 ml di soluzione di Swelling ed incubando per almeno 30 minuti a 37° C (non più di 45 minuti). La lettura si effettua individuando la percentuale di spermatozoi rigonfi (morti) (Fig. 3).

Fig. 3



Spermatozoi vitali



Spermatozoi morti

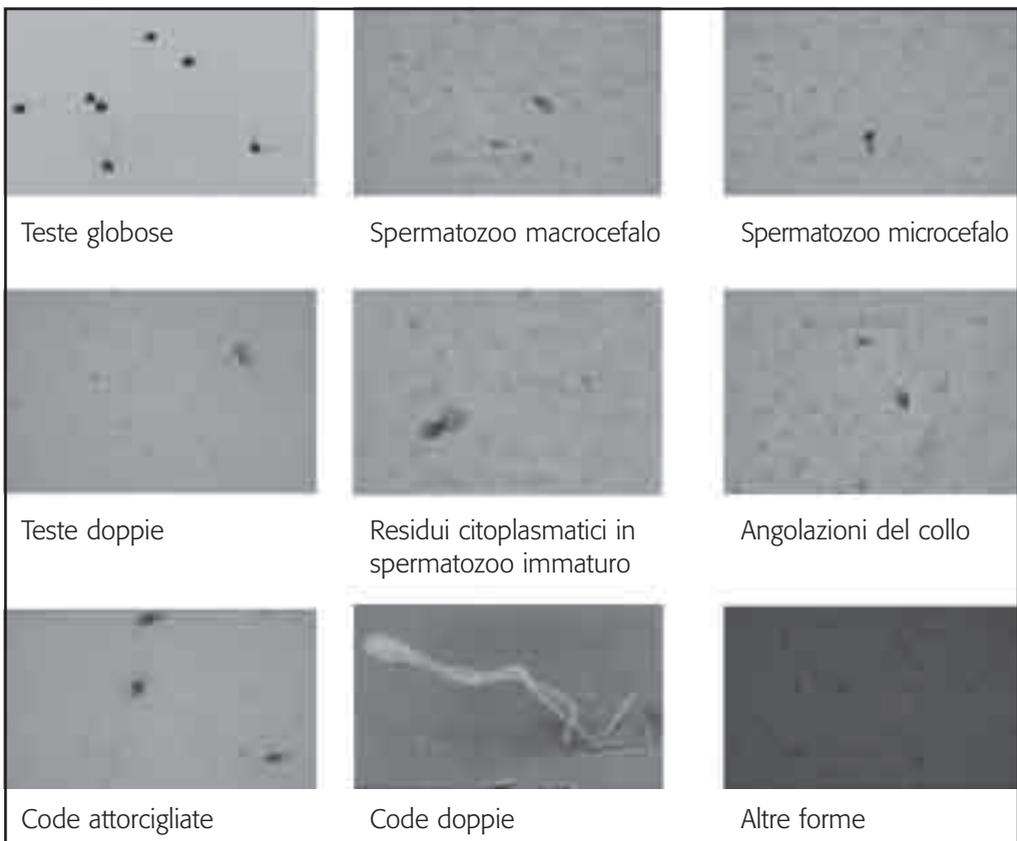
La valutazione morfologica si basa sulla distinzione tra forme tipiche (Fig. 4) (v.n. $\geq 30\%$) e forme atipiche.

Fig. 4 Spermatozoi con normale morfologia



Le atipie possono interessare la testa, il collo e la coda (Fig. 5) e generalmente comprendono: macrocefali, microcefali, anomalie dell'acrosoma, teste allungate, teste appuntite, teste doppie, angolazioni del collo, immaturi, code attorcigliate, code doppie, altre forme (amorfi, teste vacuolate, ecc...).

Fig. 5 Spermatozoi con atipie



Nel caso in cui la percentuale di forme atipiche superi il 70 %, si parla di teratozoospermia. Lo studio della morfologia può essere di aiuto talvolta anche per indirizzare la diagnosi: in caso di alterazioni testicolari può essere presente un aumento delle forme allungate e anomalie della testa; in caso di alterazioni a livello epididimario, dove avviene la maturazione finale dello spermatozoo, ci sarà una prevalenza delle forme immature caratterizzate dalla presenza di residui citoplasmatici; nelle flogosi genitali possono essere incrementate le anomalie del collo (presenza di spermatozoi angolati o con deconnessione testa-flagello).

Nell'esame del liquido seminale va tenuta in considerazione anche la presenza di eventuali agglutinazioni, che possono coinvolgere testa, tratto intermedio e coda. Nel referto viene utilizzata una gradazione semiquantitativa che va da ---- (assenza) a ++++ (agglutinazioni massive). Inoltre, è importante valutare l'eventuale presenza di anticorpi IgG sulla superficie della membrana plasmatica. Il test risulta patologico quando più del 50% degli spermatozoi presenta le particelle adese.

Bibliografia

1. World Health Organization (1999) WHO Laboratory Manual for the Examination of Human Semen and Sperm-Cervical Mucus Interaction. Cambridge University Press, Cambridge.

2.3 TEST FUNZIONALI SUGLI SPERMATOZOI

L'infertilità maschile è comunemente definita in relazione all'analisi convenzionale del liquido seminale, che fornisce informazioni sul numero di spermatozoi presenti nell'eiaculato, sulla percentuale di spermatozoi mobili e con morfologia normale. E' noto che la relazione tra questi criteri convenzionali e la fertilità non è diretta e in molti casi l'analisi del seme non è in grado di trovare le cause di una perdita di fertilità. Per questo negli ultimi anni si sono sviluppati nuovi test addizionali che definiscono la competenza funzionale e forniscono informazioni sul potenziale di fertilizzazione dello spermatozoo umano. Le metodiche attualmente più utilizzate prevedono la valutazione e la quantificazione dei fenomeni apoptotici (modificazione strutturale della membrana cellulare, perdita della funzionalità mitocondriale e frammentazione del DNA nucleare) e lo studio dell'integrità e della maturità della cromatina dello spermatozoo (test dell'arancio di acridina, colorazione con Blu di anilina e test di decondensazione).

Le cellule possono andare incontro a due modalità di morte differenti: la necrosi e l'apoptosi. La necrosi si verifica quando la cellula si trova in condizioni ambientali non compatibili con la propria sopravvivenza e presenta un decorso rapido durante il quale la cellula subisce una compromissione irreversibile della propria organizzazione strutturale. In corso di necrosi le cellule liberano sostanze flogogene che promuovono processi infiammatori intorno alle zone necrotiche di un organo.

L'apoptosi è invece un fenomeno di morte cellulare finemente controllato che avviene in tempi più lunghi. L'apoptosi, detta anche morte cellulare programmata, è un processo che coinvolge una serie di cambiamenti biochimici e morfologici, il cui risultato consiste nello smaltimento di cellule invecchiate, o prodotte in eccesso, nell'ambito di organi e tessuti a elevato ricambio cellulare.

A differenza della necrosi che si conclude con la lisi cellulare e il rilascio del materiale citoplasmatico nell'ambiente extracellulare, durante l'apoptosi la cellula si frammenta in vescicole, dette corpi apoptotici, che sono rapidamente fagocitate e digerite dai macrofagi o da cellule vicine, evitando in questo modo gli effetti flogistici descritti per la necrosi.

L'apoptosi si può dividere in varie fasi: una fase di induzione, una fase di integrazione, una fase di esecuzione ed infine la fase della rimozione del materiale apoptotico. La fase della induzione è caratterizzata dai segnali esterni alla cellula che stimolano l'inizio del fenomeno dell'apoptosi. Questi stimoli esterni sono eterogenei: la mancanza di un ormone o di un fattore di crescita, l'azione delle citochine o di altri ligandi che hanno uno specifico recettore sulla superficie cellulare o la presenza di agenti lesivi specifici. I recettori più caratteristici sono il Fas (detto anche Apo1) e il TNFR1 (recettore del fattore di necrosi tumorale) che sono stimolati dai rispettivi ligandi: il FasL (ligando del Fas) e il TNF.

Il *Fattore di Necrosi Tumorale* o *Tumor Necrosis Factor*, una proteina di 17 kDa con funzione di segnale intercellulare (appartenente alla classe delle citochine), è prodotta principalmente dai macrofagi, ed è il principale mediatore estrinseco dell'apoptosi. La membrana cellulare ha due recettori specializzati per TNF: TNF-R1 e TNF-R2. Il legame del TNF al TNF-R1 è considerato l'innescò della via che attiva le caspasi¹.

Fas (o Apo-1 o CD95), è un altro recettore dei segnali apoptotici estrinseci ed appartiene alla superfamiglia dei recettori TNF. Il ligando di Fas (*FasL* o *Fas Ligand*) è una proteina transmembrana ed è parte della famiglia dei TNF. L'interazione ligando-recettore si risolve nella formazione di un complesso di segnalazione che induce la morte cellulare (*DISC, da death-inducing signaling complex*), che contiene la *Fas-associated protein with death domains* (abbreviata come FADD e recante domini, detti di morte, fondamentali per la cascata proapoptotica) e le caspasi 8 e 10.

Accanto ai fattori appena descritti ve ne sono degli altri che giocano un altrettanto importante ruolo nella regolazione della apoptosi e sono costituiti dalla famiglia delle bcl-2. Tale famiglia contiene elementi sia antiapoptotici, come Bcl-2 e Bcl-XL, sia proapoptotici, come Bax, Bid, Bad, Bik, Bim, Bcl-XS.

Tali elementi possono unirsi formando omodimeri od eterodimeri che hanno attività sia proapoptotica (es: Bax/Bax) sia antiapoptotica (es: Bcl-2/Bcl-2, Bcl-XL/Bcl-2). Queste proteine in particolare agiscono sui mitocondri, il cui ruolo nella apoptosi è di fondamentale importanza, infatti il mitocondrio funziona da centrale d'integrazione degli stimoli apoptotici. Essi possono essere di molteplice natura e sono in grado di determinare l'apertura di un complesso poliproteico chiamato poro di transizione mitocondriale (Permeability Transition Pore Complex, PTPC) localizzato in alcuni punti di contatto tra le due membrane mitocondriali. Questo evento fa cadere la differenza di potenziale per uscita dei protoni ed ingresso di molecole prima interdette all'ingresso. Come risultato finale, il mitocondrio si riempie di liquido e la membrana esterna scoppia liberando nel citoplasma fattori stimolanti l'apoptosi come AIF, (Apoptosis Inducing Factor) che è in grado di raggiungere il nucleo ed attiva una via indipendente dalle caspasi in grado di degradare il DNA, ed il citocromo c che si lega alla proteina Apaf-1 (apoptotic protease activating factor), alla caspasi 9 ed ad una molecola di ATP formando un complesso definito apoptosoma. La caspasi 9 presente diviene in grado di attivare altre caspasi che danno il via ad una cascata molecolare che si conclude con la degradazione del DNA ad opera di fattori nucleari².

La fase effettrice è mediata dalla cascata proteolitica delle caspasi. Le caspasi sono una famiglia di almeno dieci proteasi, contenenti cisterna, con un ruolo fondamentale nei processi apoptotici. Le caspasi, come altre proteasi, esistono sotto forma di zimogeni e quindi devono essere attivate da un taglio proteolitico per poter svolgere la propria azione. Il sito di taglio può essere attivato non solo da altre caspasi, ma anche in modo autocatalitico come nel caso della caspasi 9 che viene attivata direttamente in presenza di danno del DNA. Abbiamo già parlato della caspasi 8 che è attivata dalla interazione Fas - Fas-ligando. Quando il segnale esterno arriva attraverso il ligando, viene trasmesso dal recettore al suo dominio citoplasmatico e quindi alle caspasi 8. Le caspasi 8 a loro volta attivano le caspasi effettrici 3-7 e 6. La caspasi 3 gioca un ruolo molto importante, infatti oltre ad essere responsabile della degradazione della maggior parte delle strutture proteiche intracellulare, agisce anche su un fattore di condensazione della cromatina che produce la picnosi nucleare. Uno dei più importanti bersagli delle caspasi è ICAD, l'inibitore di CAD (Caspase Activated DNase), un'endonucleasi specifica dell'apoptosi. Una volta liberata dall'inibitore grazie all'azione delle caspasi, CAD effettua tagli a doppio filamento nella regione internucleosomica della cromatina, generando quindi frammenti di 200 basi o di lunghezza multipla di 200 basi, rendendosi così responsabile della frammentazione del DNA tipica dell'apoptosi³. Le caspasi partecipano al fenomeno apoptotico oltre che con la loro attività enzimatica di taglio delle proteine cellulari, anche come riduttrici delle alterazioni delle membrane mitocondriali. In ogni caso, il taglio della matrice nucleare e delle proteine del citoscheletro produce le classiche alterazioni strutturali sia del nucleo sia del citoplasma che si osservano nelle cellule apoptotiche e quindi determina la formazione dei corpi apoptotici.

L'ultima fase della apoptosi è quella della rimozione del materiale prodotto. I corpi apoptotici vengono fagocitati dai macrofagi e dalle cellule parenchimali che riconoscono delle strutture sulla membrana cellulare. La cellula morente che si avvia all'ultimo stadio dell'apoptosi, espone sulla membrana plasmatica dei segnali eat me, come la fosfatidilserina. Normalmente la fosfatidilserina, fosfogliceride, si trova nello strato citosolico della membrana plasmatica, ma, durante l'apoptosi, è ridistribuita anche sulla faccia extracellulare. Questo è sufficiente per richiamare i macrofagi, che percepiscono l'esposizione della PS come un segnale opsonizzante.

L'intero processo richiede energia e una organizzazione cellulare non troppo danneggiata. Infatti,

se una cellula è danneggiata oltre un certo limite, non ha abbastanza "tempo" e "forze" di portare avanti il processo dell'apoptosi, ma va in necrosi.

E' evidente che le vie apoptotiche sono soggette a complessi meccanismi regolatori (quello che viene chiamato *Cellular Signaling Network*) e non c'è una relazione biunivoca tra la ricezione dei segnali TNF o FasL con un'esecuzione completa della via apoptotica. Fas, ad esempio, è anche implicata nella proliferazione cellulare, attraverso vie non ancora scoperte; e l'attivazione sia di Fas che di TNF-R1 portano anche all'attivazione di NF- κ B (*Fattore Nucleare kappa-B*), che induce l'espressione di alcuni geni che giocano importanti ruoli in diversi processi biologici, inclusi proliferazione cellulare, morte cellulare, sviluppo cellulare e risposta immunitaria.

Una cellula in apoptosi mostra evidenti caratteristiche morfologiche individuabili al microscopio:

1. La cellula diventa sferica e perde contatto con le cellule adiacenti. Questo avviene perché le proteine del citoscheletro vengono digerite da specifiche peptidasi, che sono state attivate all'interno del citoplasma.
2. La cromatina comincia ad essere degradata e condensata (il nucleo al microscopio risulta eterocromatico).
3. La cromatina continua il processo di degradazione (in tipici frammenti lunghi 200 paia di basi circa) e condensazione in corpi addossati al nucleolemma. Mentre il primo stadio di condensazione della cromatina è stato osservato anche in cellule non apoptotiche, questo stadio avanzato (chiamato picnotico) è considerato preludio dell'apoptosi.
4. Il nucleolemma diventa discontinuo e le molecole di DNA sono frammentate (il processo è definito carioressi). Il nucleo si rompe in alcuni corpi cromatinici o unità nucleosomiali.
5. Il plasmalemma si rompe.
6. La cellula si divide in più vescicole, chiamate corpi apoptotici, che sono in seguito fagocitate.

E' ormai noto che il mantenimento del potenziale di fecondazione dello spermatozoo dipende dall'integrità e dalla funzionalità di diverse strutture cellulari⁴, ed è stato dimostrato che alcuni spermatozoi maturi presentano distinti segni di danno cellulare correlati all'apoptosi⁵⁻⁶ sebbene manchino di attività trascrizionale e abbiano poco citoplasma⁷. A differenza delle cellule somatiche, la presenza e il significato dell'apoptosi nell'eiaculato rimane poco chiaro. Sicuramente ha il ruolo di mantenere il numero di cellule germinali dentro la capacità di supporto delle Cellule del Sertoli e di eliminare dall'organismo cellule con attività compromessa o potenzialmente dannose⁸. Probabilmente è associata anche alla presenza di spermatozoi anormali che non sono stati eliminati durante la spermatogenesi e per questo è anche definita "apoptosi abortiva"^{9,10}. In alcuni casi può iniziare anche nel periodo post-eiaculatorio a causa di stress ossidativi⁹.

L'analisi dell'eiaculato al microscopio elettronico mostra la presenza di alterazioni nucleari e citoplasmatiche compatibili con l'aspetto morfologico delle cellule somatiche apoptotiche: la condensazione cromatinica periferica associata alla rottura della membrana nucleare, la presenza di mitocondri rigonfi nel tratto intermedio, la presenza di vacuoli translucidi, una membrana plasmatica globalmente conservata e la presenza di corpi apoptotici. Queste alterazioni sono presenti sia negli spermatozoi maturi che negli spermatidi ma, mentre sono visibili in minima quantità (0,1%) nell'eiaculato di donatori fertili, una maggior incidenza si ritrova nei pazienti infertili che presentano un varicocele (10 %) o un'infezione o un seminoma testicolare¹¹.

E' stato ipotizzato che i fenomeni apoptotici presenti negli spermatozoi dell'eiaculato possano influenzare negativamente il potenziale di fecondazione. Per questo motivo si è reso necessario sviluppare ulteriori analisi per la diagnosi dell'infertilità maschile che vadano ad

integrare le indicazioni derivate dallo spermioγραμμα.

Questi test si basano sull'identificazione di markers apoptotici e sull'identificazione di alterazioni a carico del DNA degli spermatozoi. In particolare l'Annexina V, legandosi alla fosfatidilserina, evidenzia alterazioni della membrana plasmatica; il fluorocromo JC-1, penetrando o meno nei mitocondri, valuta la variazione del potenziale di membrana mitocondriale; la tecnica TUNEL permette di evidenziare facilmente la frammentazione del DNA; l'Arancio di Acridina discrimina tra DNA a singola o a doppia elica; la colorazione con Blu di anilina e il test di decondensazione danno un'indicazione sulla maturità della cromatina spermatica (Tabella 1 e Fig.1).

Tabella 1: Riassunto dei test funzionali degli spermatozoi

STUDIO FUNZIONALE DELLO SPERMATOZOO		
TEST	OGGETTO DI VALUTAZIONE	SIGNIFICATO CLINICO
Annexina V	Esternalizzazione fosfatidilserina	Apoptosi in fase iniziale
JC-1	Potenziale di membrana mitocondriale	Apoptosi in fase iniziale
Arancio di acridina	Integrità cromatinica	Stress ossidativo e alterazione dei meccanismi di riparazione del DNA
TUNEL	Frammentazione del DNA	Necrosi e apoptosi in fase avanzata nucleare
Anilina	Protamminazione del DNA nucleare	Alterazione dei processi di maturazione nucleare
Condensazione nucleare	Condensazione nucleare	Alterazione dei processi di condensazione nucleare
FISH	Aneuploidie spermatiche	Alterazione del numero dei cromosomi spermatici

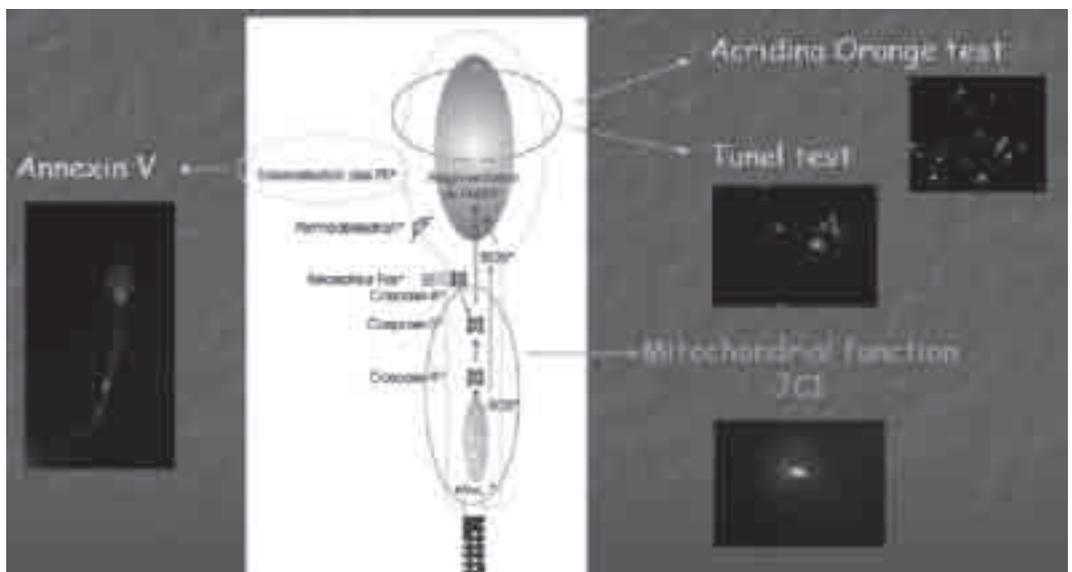


Fig. 1 ANNESSINA V

Preparazione del campione:

- Lavare le cellule due volte con PBS e quindi risospendere in Binding Buffer 1X a una concentrazione di 1×10^6 cell/ml.
- Alla soluzione aggiungere 10 μ l di Annessina V-FITC e lasciar incubare al buio per 10 min.
- Aggiungere 2 μ l di PI diluito in PBS
- Allestire un vetrino con una goccia di 10 μ l di soluzione e coprioggetto
- Analizzare al microscopio a fluorescenza con obiettivo 100X ad immersione

La membrana plasmatica è responsabile del meccanismo di mantenimento dell'equilibrio osmotico, agendo come barriera tra l'ambiente intra ed extracellulare. Danni nella sua struttura possono portare a perdita dell'omeostasi e quindi alla morte cellulare²⁰. Di conseguenza l'integrità della membrana è cruciale per la sopravvivenza dello spermatozoo nel tratto riproduttivo femminile e per la capacità fertilizzante⁴. La membrana plasmatica delle cellule integre consiste in un doppio strato di fosfolipidi distribuiti asimmetricamente, nel quale la fosfatidilserina si trova localizzata nella parte interna²¹. La PS possiede una forte affinità specifica per l'Annessina V, una proteina di 35-36 kDa che normalmente non riesce ad attraversare la membrana. Il legame della PS con l'Annessina quindi può dipendere dalla traslocazione della PS nella parte esterna della membrana, evento iniziale del processo apoptotico, o può avvenire a seguito della permeabilizzazione dell'Annessina nelle cellule necrotiche, in cui avviene un deterioramento della membrana.

Normalmente l'Annessina V è coniugata ad un fluorocromo per permettere la visualizzazione al microscopio a fluorescenza e viene usata in associazione con un colorante vitale come il Propidio Ioduro, per distinguere le cellule apoptotiche (Annessina positive, PI negative) da quelle necrotiche (Annessina positive, PI positive). Le cellule che non legano né l'Annessina né il PI sono vive.

Per questo test è stata utilizzata l'Annessina V-FITC (coniugata con Fluoresceina) in associazione con il Propidio Ioduro.

Le cellule vengono inizialmente visualizzate al microscopio ottico e successivamente al microscopio a fluorescenza. Quelle che non si colorano sono le cellule vitali, quelle che fluorescono nel rosso o nel rosso e verde sono cellule in necrosi mentre quelle che fluorescono solo nel verde sono cellule apoptotiche.

TEST FUNZIONALITA' MITOCONDRIALE (test del fluorocromo JC-1)

Preparazione della sonda:

- Ad 1 ml di Incubation Buffer aggiungere 2 μ l di sonda MitoSensor Reagent
- Omogeneizzare bene e centrifugare a 14000 rpm per 5 minuti per rimuovere i possibili aggregati

Preparazione del campione:

- Alla sonda aggiungere approssimativamente 1×10^6 cellule per ml
- Lasciare incubare per 40 minuti a 37°C
- Centrifugare a 3500 rpm per 10 minuti e risospendere il pellet in PBS 1X
- Centrifugare a 2500 rpm per 5 minuti
- Risospendere il pellet in circa 200 μ l di PBS
- Allestire un vetrino depositando una goccia di 10 μ l di sospensione e coprire con coprioggetto
- Analizzare al microscopio a fluorescenza con obiettivo 100X ad immersione

I mitocondri sono organelli richiesti per il metabolismo energetico, per la produzione di lipidi di membrana, per la crescita cellulare oltre ad essere i determinanti principali della vita o della morte cellulare¹⁷. Sono infatti coinvolti in diversi eventi cruciali per l'apoptosi, inclusa la perdita di potenziale di membrana mitocondriale⁸⁻¹⁹.

L'analisi della variazione di questo potenziale viene effettuata utilizzando il catione lipofilo 5, 5', 6, 6' -tetracloro- 1, 1', 1, 3, 3'tetraetil-benzimidazolcarbocianide iodato (JC-1) capace di localizzarsi nella membrana mitocondriale e di formare aggregati in funzione del potenziale di membrana stessa. In particolare, il JC-1 si trova in forma monometrica quando la membrana è depolarizzata e, se eccitato a 488 nm, emette nel verde; al contrario forma aggregazioni multimeriche quando la membrana mitocondriale è polarizzata e, se viene eccitato, emette nel rosso.

L'integrità funzionale dei mitocondri è stata analizzata con il kit commerciale ApoAlert Mitochondrial Membrane Sensor Kit (Mitosensor).

Se la cellula è vitale, in presenza del potenziale di membrana plasmatico il colorante penetra nel citoplasma della cellula ed emette fluorescenza nel verde.

Se i mitocondri sono funzionali il colorante penetra al loro interno dove forma aggregati ed emette fluorescenza nel rosso.

Le cellule morte, prive di potenziale di membrana, non sono visualizzabili.

TEST DI VALUTAZIONE DELL'INTEGRITA' CROMATINICA (ARANCIO DI ACRIDINA)

Preparazione della sonda:

- Sciogliere in 100 ml di acqua distillata 0,1 grammi di Arancio di Acridina in polvere
- Preparare il Tampone Citrato 0.1 M, sciogliendo 21.01 grammi di Tampone in un litro di acqua distillata e il Fosfato Bibasico di Sodio 0.3 M, sciogliendone 53,39 grammi in un litro di acqua distillata.
- Unire 10 parti di soluzione di Arancio di Acridina 0.1% con 40 parti di Tampone Citrato 0.1 M e 2.5 parti di Fosfato Bibasico di Sodio 0.3 M
- Dopo aver omogeneizzato il tutto, portare la soluzione a pH 2.5 con NaOH
- Per la lettura del campione preparare un vetrino sul quale si posiziona una goccia di circa 10µl di liquido seminale e la stessa quantità di Arancio di Acridina preparata come descritto precedentemente
- Omogeneizzare i due composti ed adagiare sopra un coprioggetto
- Esaminare le cellule con microscopio a fluorescenza con obiettivo 40X

Il test all'Arancio di Acridina è un test citochimico che si basa sul principio che il DNA possiede una differente suscettibilità alla parziale denaturazione indotta da uno shock termico o dal contatto con una soluzione acida. Il test utilizza la proprietà metacromatica dell'arancio di acridina, un fluorocromo della famiglia delle acridine specifico per gli acidi nucleici, che legandosi al DNA a doppia elica (forma nativa) emette fluorescenza verde mentre legandosi a DNA a singolo filamento (forma denaturata) si aggrega ed emette fluorescenza giallo-rossa²⁶⁻²⁷.

Le cellule, esposte alla luce blu, fluorescono in verde in presenza di DNA a doppia elica, o in arancio-rosso in presenza di DNA a singola elica.

TUNEL (Terminal Uridine Nick End Labeling) TEST

Preparazione della sonda:

- Rimuovere 100 µl di Label Solution per i controlli negativi
- Aggiungere il volume totale di Enzyme solution ai rimanenti µl di Label Solution e miscelare bene

Preparazione del campione:

- Lavare 3 volte con PBS il campione e risospendere ad una concentrazione di 2×10^6 cellule/ml
- Allestire un vetrino strisciando una goccia di sospensione e lasciare asciugare
- Delimitare con la penna Vector una superficie di circa un centimetro di diametro e fissare con Parafolmaldeide 4% per circa un'ora a temperatura ambiente
- Lavare con PBS
- Trattare le cellule con una soluzione di permeabilizzazione (0.1% Triton-X 100 in 0.1% Sodio citrato) per 2 minuti a 4°C
- Lavare con PBS
- Incubare il controllo positivo con 50 μ l di DNase I per 10 minuti a temperatura ambiente, per indurre la frammentazione del DNA
- Incubare il controllo negativo con 50 μ l di Label Solution, in atmosfera umidificata per 60 minuti a 37°C
- Incubare il campione e il controllo positivo con 50 μ l di mix di reazione, in atmosfera umidificata per 60 minuti a 37°C
- Lavare due volte con PBS
- Lavare una terza volta con PBS addizionato con 3 μ l di DAPI per 40 secondi
- Aggiungere l'antifade e coprire con coprioggetto
- Analizzare al microscopio a fluorescenza con obiettivo 100X ad immersione

L'origine della frammentazione del DNA è tuttora oggetto di discussione e due sono le ipotesi più accreditate: la prima fa risalire i danni al DNA e le anomalie di condensazione della cromatina a problemi insorti nel corso della maturazione dei gameti (errata attività della Topoisomerasi II, incompleta protaminazione del DNA)²²; la seconda ascrive i danni al DNA come dovuti ad un processo apoptotico incompleto che non ha portato all'eliminazione precoce della cellula gametica dal pool riproduttivo²³. Un anormale impacchettamento della cromatina si manifesta anche in quei soggetti che mostrano una incompleta maturazione durante la spermatogenesi²⁴.

Danni al DNA sono rilevabili attraverso saggi in situ, che richiedono l'uso di enzimi esogeni, come per esempio la deossinucleotidil transferasi terminale che catalizza la polimerizzazione di nucleotidi marcati nelle estremità libere 3'-OH dei frammenti di DNA²⁵.

La frammentazione del DNA negli spermatozoi è stata valutata utilizzando il Kit In situ Cell Death Detection, composto da nucleotidi marcati con Fluoresceina (Label Solution) e dall'enzima TdT (Enzyme Solution).

Le cellule con DNA frammentato fluorescono in verde perché hanno incorporato i nucleotidi marcati con fluoresceina, mentre le cellule con DNA integro fluorescono in blu perché non reagiscono con la mix di reazione ma si controcolorano con il DAPI.

TEST DI VALUTAZIONE DELLA MATURAZIONE NUCLEARE (BLU DI ANILINA)

Preparazione del campione:

- Lavare 1 ml di liquido seminale (minimo 3×10^6 cellule) in soluzione fisiologica
- Centrifugare a 2500 rpm per 10 minuti
- Strisciare 10 μ l di pellet su un vetrino e lasciare asciugare a temperatura ambiente
- Colorare con Blu di anilina 3,5% a pH 3,5 per 1,5 minuti
- Risciacquare con acqua demonizzata e lasciare asciugare a temperatura ambiente
- Analizzare al microscopio ottico con obiettivo 100X ad immersione

Il Dna dello spermatozoo è organizzato in modo tale da rendere la cromatina nucleare compatta e stabile²⁸⁻²⁹. Per raggiungere questo stato altamente condensato, il DNA dello spermatozoo è organizzato in maniera sostanzialmente differente da quello delle cellule somatiche³⁰ e richiede una sequenza di eventi precisi, tra i quali la transizione da istoni a protamine. La struttura finale molto compatta, dovuta ai complessi protamine-DNA, rendono il nucleo dello spermatozoo maturo circa 40 volte più piccolo di quello delle cellule somatiche³¹⁻³². Questa natura così condensata e altamente organizzata della cromatina serve a proteggere l'integrità genetica durante il trasporto del genoma paterno attraverso i tratti maschili e femminili dell'apparato riproduttore ma anche a trasferire informazioni genetiche alla cellula uovo in una forma chimica e fisica tale che l'embrione abbia accesso facilitato a queste informazioni.

Per valutare il grado di condensazione cromatinica si utilizza la colorazione degli istoni con il Blu di anilina.

Gli spermatozoi con normale maturazione nucleare, quindi con protamine, non si colorano mentre quelli con anormale condensazione si colorano di blu perché non hanno sostituito gli istoni con le protamine. Il risultato viene espresso come percentuale di cellule con normale condensazione. Si considerano normali valori di condensazione superiori al 45%.

TEST DI CONDENSAZIONE NUCLEARE

Preparazione del campione:

- Lavare 1 ml di liquido seminale (minimo 3×10^6 cellule) in soluzione fisiologica
- Centrifugare a 2500 rpm per 10 minuti
- Risospendere il pellet in 1 ml di soluzione decondensante, contenente SDS 1%
- Incubare a 37°C per 15 minuti
- Depositare una goccia di soluzione sul vetrino
- Osservare al microscopio ottico con obiettivo 40X

La cromatina degli spermatozoi possiede la capacità di decondensarsi quando esposta ad adeguati stimoli. Essendo questa una prerogativa essenziale per la fecondazione, è importante valutare il grado di decondensazione come informazione sulla funzionalità degli spermatozoi.

In vitro la decondensazione avviene quando gli spermatozoi sono trattati con detergenti, come l'SDS, che lisano le membrane cellulari. Sono considerate normali le cellule che dopo trattamento con SDS presentano la testa normale, mentre quelle non funzionali vanno incontro a rigonfiamento a seguito della dispersione cromatinica. Quando la cromatina è correttamente condensata, la testa degli spermatozoi risulta chiara mentre, quando la cromatina è decondensata, la testa appare scura e gonfia.

La frammentazione del DNA degli spermatozoi, rilevata con la tecnica TUNEL, è più frequente nei pazienti infertili che nei donatori sani (38% vs 19,9%)¹² ed è stato dimostrato che questa frammentazione può influenzare negativamente la capacità fecondante degli spermatozoi in vitro a tal punto che, se più del 25% degli spermatozoi presenta DNA frammentato, il tasso di fecondazione con ICSI è inferiore al 20%¹³. Inoltre una fecondazione con uno spermatozoo con DNA frammentato può provocare delle anomalie durante lo sviluppo embrionale¹⁴.

Gli uomini infertili presentano anche una perdita di integrità della membrana plasmatica degli spermatozoi rispetto ai donatori sani¹⁵ e il potenziale mitocondriale è significativamente più basso¹⁶.

Bibliografia

1. Chen G, Goeddel DV. TNF-R1 signaling: a beautiful pathway. *Science* 2002; 296:1634-1635.
2. Murphy KM, Ranganathan V, Farnsworth ML, Kavallaris M, Lock RB. Bcl-2 inhibits Bax translocation from cytosol to mitochondria during drug-induced apoptosis of human tumor cells. *Cell Death differentiation* 2000; 7: 102-111.
3. Enari M, Sakahira H, Yokoyama H, Okawa K, Iwamoto A, Nagata S. A caspase-activated Dnase that degrades DNA during apoptosis, and its inhibitor ICAD. *Nature* 1998; 391: 43-50.
4. Oura C, Toshimori K. Ultrastructural studies on the fertilization of mammalian gametes. *Int Rev Cytol* 1990; 122:105-151.
5. Barroso G, Morshedi M, Oehninger S. Analysis of DNA fragmentation, plasma membrane translocation of phosphatidylserine and oxidative stress in human spermatozoa. *Hum Reprod* 2000; 15: 1338-1344.
6. Gandini L, Lombardo F, Paoli D, Caponecchia L, Familiari G, Verlengia C. Study of apoptotic DNA fragmentation in human spermatozoa. *Hum Reprod* 2000; 15: 830-839.
7. Weil M, Jacobson MD, Raff MC. Are caspases involved in the death of cells with a transcriptionally inactive nucleus? Sperm and chicken erythrocytes. *J Cell Sci* 1998; 111: 2707-2715.
8. Rodriguez I, Ody C, Araki K, Garcia I, Vassalli P. An early and massive wave of germinal cell apoptosis is required for the development of functional spermatogenesis. *EMBO J* 1997; 16: 2262-2270.
9. Sakkas D, Mariethoz E, Manicardi G, Bizzaro D, Bianchi PG, Bianchi U. Origin of DNA damage in ejaculated human spermatozoa. *Rev Reproduction* 1999; 4: 31-37.
10. Tesarik J, Martinez F, Rienzi L, Iacobelli M, Ubaldi F, Mendoza C, Greco E. In vitro effects of FSH and testosterone withdrawal on caspase activation and DNA fragmentation in different cells type of human seminiferous epithelium. *Hum Reprod* 2002; 17: 1811-1819.
11. Baccetti B, Collodel G, Piomboni P. Apoptosis in human ejaculated sperm cells. *J. Submicrosc Cytol Pathol* 1996; 28: 587-596.
12. Carrell D.T, Liu L, Peterson C.M, Jones K.P, Hatasaka H.H, Erickson L, Campbell B. Sperm DNA fragmentation is increased in couples with unexplained recurrent pregnancy loss. *Arch Androl* 2003; 49: 49-55.
13. Lopes S, Jurisicova A, Casper RF. Gamete-specific DNA fragmentation in unfertilized human oocytes after intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod* 1998; 13(3): 703-708.
14. Sergerie M, Laforest G, Bujan L, Bissonnette F, Bleau G. Sperm DNA fragmentation: threshold value in male fertility. *Hum Reprod* 2005; 20(12): 3446-3451.
15. Glander HJ, Schaller J. Binding of annexin V to plasma membranes of human spermatozoa: a rapid assay for detection of membrane changes after cryostorage. *Mol Hum Reprod* 1999; 5(2): 109-115.
16. Wang X, Sharma RK, Sikka SC, Thomas AJ jr, Falcone T, Agarwal A. Oxidative stress is associated with increased apoptosis leading to spermatozoa DNA damage in patients with male factor infertility. *Fertil Steril* 2003; 80(3): 531-535.
17. Arends MJ and Wyllie AH. Apoptosis: mechanism and roles in pathology. *Int Rev Exp Pathol* 1991; 32: 223-254.
18. Zamzami N, Marchetti P, Castedo M, Decaudin D, Macho A, Hirsch T, Susin SA, Petit PX, Mignotte B, Kroemer G. Sequential reduction of mitochondrial transmembrane potential and generation of reactive oxygen species in early programmed cell death. *J Exp Med* 1995; 182(2): 367-377.
19. Liu X, Kim CN, Yang J, Jemmerson R, Wang X. Induction of apoptotic program in cell-free extracts: requirement for dATP and cytochrome c. *Cell* 1996; 86(1): 147-157.
20. F.M. Flesch and B.M. Gadella. Dynamics of the mammalian sperm plasma membrane in the process of fertilization. *Biochim Biophys Acta* 2000; 1469: 197-235.
21. Vermes I, Haaneef C, Steffens-Nakken H, Reutelingsperger C. A novel assay for apoptosis. Flow cytometric detection of PS expression on early apoptotic cells using fluorescein labelled Annexin V. *J Immunol Methods* 1995; 184: 39-51.
22. Manicardi GC, Bianchi PG, Pantano S, Azzoni P, Bizzaro D, Bianchi U, Sakkas D. Presence of endogenous nicks in DNA of ejaculated human spermatozoa and its relationship to chromomycin A3 accessibility. *Biol Reprod* 1995; 52: 864-867.
23. Goreaczyca W, Traganos F, Jesionowska H, Darzynkiewicz Z. Presence of strand breaks and increased sensitivity of DNA in situ to denaturation in abnormal human sperm cells: analogy to apoptosis of somatic cells. *Exp Cell Res* 1993a; 207: 202-205.

24. Sakkas D, Manicardi G, Bianchi PG, Bizzaro D, Bianchi U. Relationship between the presence of endogenous nicks and sperm chromatin packaging in maturing and fertilizing mouse spermatozoa. *Biol Reprod* 1995; 52(5): 1149-1155.
25. Gavrieli Y, Sherman Y, Ben-Sasson SA. Identification of programmed cell death in situ via specific labeling of nuclear DNA fragmentation. *J Cell Biol* 1992; 119(3): 493-501.
26. Evenson DP, Jost LK, Marshall D, Zinaman MJ, Clegg E, Purvis K, De Angelis P, Claussen OP. Utility of the sperm chromatin assay as a diagnostic and prognostic tool in the human fertility clinic. *Hum Reprod* 1999; 14:1039-1049.
27. Zini A, Meriano J, Kader K, Jarvi K, Laskin CA, Cadesky K. Potential adverse effect of sperm DNA damage on embryo quality after ICSI. *Hum Reprod* 2005; 20: 3476-3480.
28. Agarwal A, Said T. Role of sperm chromatin abnormalities and DNA damage in male infertility. *Hum Reprod Update* 2003; 9:331-345.
29. Agarwal A, Saleh RA, Bedaiwy MA. Role of reactive oxygen species in the pathophysiology of human reproduction. *Fertil Steril* 2003; 79: 829-843.
30. Ward WS, Coffey DS. DNA packaging and organization in mammalian spermatozoa: comparison with somatic cells. *Biol. Reprod.* 1991; 44: 569-574.
31. Oosterhuis GJ, Mulder AB, Kalsbeek-Batenburg E, Lambalk CB, Schoemaker J, Vermes I. Measuring apoptosis in human spermatozoa: a biological assay for semen quality? *Fertil Steril* 2000; 74: 245-250.
32. Spano M, Bonde J, Hjollund HI, Kolstad HA, Cordelli E, Leter G. Sperm chromatin damage impairs human fertility. *Fertil Steril* 2000; 73: 43-50.

ANALISI FISH PER LO STUDIO DELLE ANEUPLOIDIE SPERMATICHE

Gli spermatozoi umani sono cellule aploidi ($n=23$), contenenti 22 autosomi e 1 cromosoma sessuale, X o Y. Le variazioni del numero di cromosomi danno origine all'aneuploidia, condizione per cui una cellula ha uno, due o più cromosomi in aggiunta o in difetto rispetto all'assetto di base.

L'aneuploidia è causata da una mancata disgiunzione dei cromatidi fratelli alla mitosi, o dei cromosomi omologhi alla meiosi. La produzione di gameti aneuploidi rappresenta un fattore di rischio molto importante per l'infertilità, ma anche per l'insorgenza di ritardo mentale, mortalità perinatale e aborti; infatti solamente pochi feti aneuploidi sopravvivono alla nascita¹ ed il 50% degli aborti spontanei nel primo trimestre è dovuto ad anomalie cromosomiche.

Il test della FISH, fluorescence in-situ hybridization, ha permesso lo studio della percentuale delle aneuploidie in spermatozoi umani di uomini infertili^{2,3}. Tale tecnica permette di localizzare specifiche sequenze di acido nucleico, tramite l'utilizzo di sequenze nucleotidiche complementari marcate, chiamate sonde⁴.

Questa procedura è particolarmente indicata nei casi di ripetuti fallimenti riproduttivi, ma le sue applicazioni sono molteplici: test prenatali, postnatali e di preimpianto per predire l'esito della gravidanza e la futura qualità della vita del nascituro; determinazione di aberrazioni cromosomiche nei tumori solidi come il cancro al polmone, alla prostata e alla vescica; nei disordini del sistema ematopoietico come la leucemia mielogenosa cronica e acuta, la leucemia linfocitica cronica e acuta ed il mieloma multiplo, per determinare traslocazioni, delezioni e rotture cromosomiche.

L'ibridazione in situ consiste nel far avvenire la denaturazione del bersaglio e della sonda utilizzata, in modo che le rispettive regioni complementari si rinaturino tra loro. La sequenza verrà poi identificata in base al tipo di sonda usata: originariamente erano impiegati metodi isotopici, sensibili, ma poco pratici per i lunghi tempi di analisi ed i segnali generati spesso indistinti; attualmente vengono utilizzati metodi non isotopici, tra cui la FISH, che utilizza la marcatura con fluorocromi, tecnica vantaggiosa per la rapidità di esecuzione e per il contrasto⁵.

La marcatura con fluorocromi può avvenire con metodo diretto e indiretto.

Nel metodo diretto il fluorocromo viene incorporato direttamente nella sonda durante la sintesi, oppure si attacca covalentemente, in modo da permettere la visualizzazione del complesso DNA sonda attraverso un microscopio a fluorescenza. L'unico svantaggio di questa tecnica è la ridotta sensibilità⁶, sebbene questo non sia di solito una seria limitazione.

Nel metodo indiretto si utilizzano sonde di DNA che contengono un marcatore come la digossigenina o la biotina; dopo l'ibridazione, per identificare il DNA, il marcatore viene usato per riconoscere una proteina coniugata al fluorocromo oppure si procede con l'utilizzo di un anticorpo.

I vantaggi di questa tecnica sono l'elevata sensibilità, la capacità di intensificare il segnale e la possibilità di avere un range di riconoscimento dei reagenti esteso; gli svantaggi sono i costi elevati e i tempi di marcatura del DNA lunghi^{7,8}.

Le sonde di DNA proposte per la FISH sono centromeriche, in grado cioè di riconoscere sequenze ripetitive di DNA nella regione centromerica, e sono state messe a punto per ogni cromosoma umano. Queste sonde producono un piccolo segnale nel centromero e sono usate di routine nella ricerca di aneuploidie (Fig. 1), e in minima parte anche per riconoscere la presenza di traslocazioni Robertsoniane.

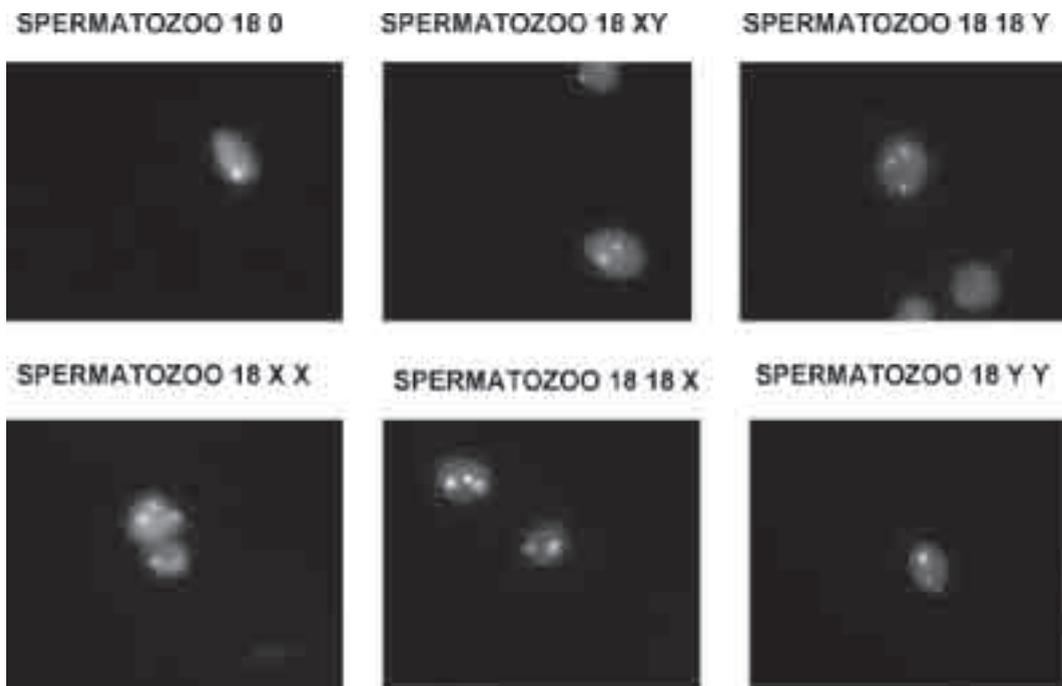


Fig. 1

Altri tipi di sonde sono quelle telomeriche, più adatte per la ricerca di anomalie strutturali dei cromosomi, come delezioni e riarrangiamenti che interessano i bracci dei cromosomi.

Numerose osservazioni cliniche indicano che anomalie cromosomiche dei gameti maschili influenzano negativamente il tasso di gravidanza, di impianto e di sopravvivenza fetale⁹⁻¹¹ ed il tasso di successo delle tecniche di fecondazione in vitro (ICSI). In particolare un aumento del tasso di disomie dei cromosomi sessuali è stato osservato nel liquido seminale dei partner maschili di coppie con aborto ricorrente²; inoltre, i cariotipi prenatali degli embrioni generati mediante ICSI hanno una percentuale di aneuploidie cromosomiche maggiore rispetto a quella riscontrata nella popolazione generale¹³⁻¹⁴. Tale fenomeno in parte è spiegato dal fatto che una significativa percentuale dei soggetti sottoposti ad ICSI per grave oligozoospermia o azoospermia è portatore di anomalie genetiche e citogenetiche. Infatti un numero incrementato di aneuploidie cromosomiche è noto nei soggetti portatori di traslocazioni cromosomiche 15-18, poiché i cromosomi traslocati sono più suscettibili ad errori meiotici; nei soggetti affetti da Sindrome di Klinefelter, sia a carico dei cromosomi sessuali che degli autosomi, confermando l'ipotesi che cellule germinali geneticamente alterate (47XXY) possano comunque completare i processi meiotici, dando vita a spermatozoi XX o XY; inoltre in soggetti affetti da neoplasia maligna trattati con farmaci chemioterapici, almeno temporaneamente, è stato riportato un aumento delle aneuploidie spermatiche.

Studi recenti tuttavia hanno messo in evidenza che anche soggetti sani e con normale corredo cromosomico, ma affetti da oligozoospermia, hanno un numero di spermatozoi aneuploidi maggiore rispetto a soggetti normozoospermici¹⁹, ad indicare che la patologia testicolare responsabile dell'alterazione seminale è in grado di danneggiare anche i meccanismi di segregazione cromosomica durante la mitosi e/o la meiosi delle cellule germinali²⁰. In particolare è stata dimostrata una relazione inversa tra il tasso di aneuploidie spermatiche ed i tre principali parametri seminali (concentrazione, motilità e morfologia), suggerendo che più grave è il danno spermatogeneti-

co, maggiore è la probabilità di trovare spermatozoi con alterazione del cariotipo²⁰. L'aumentata percentuale di anomalie cromosomiche spermatiche a sua volta si associa ad un minor tasso di impianto e gravidanza e ad un maggior tasso di aborto^{21, 22}.

CONCLUSIONI

Pur essendo stati definiti dei parametri di normalità nell'interpretazione dell'esame seminale, la scoperta di casi di infertilità maschile causati da anomalie nel potenziale di fertilizzazione dello spermatozoo (fenomeni apoptotici e/o alterazione dell'integrità cromatinica) ha portato alla ribalta nuove problematiche. Infatti, spermatozoi, persino con parametri tradizionali normali, possono presentare frammentazione del DNA, alterazione del potenziale di membrana mitocondriale o incremento delle aneuploidie spermatiche, che in natura difficilmente consentono un normale concepimento. Pertanto il valore dello spermiogramma nella diagnosi d'infertilità è relativo e va comunque integrato da esami specifici, che valutino l'integrità genomica della cellula spermatica e quindi la reale funzionalità dello spermatozoo. In particolare le metodiche più utili sono rappresentate dal test di frammentazione del DNA (TUNEL TEST), dallo studio dell'integrità cromatinica (Arancio di acridina), dal test di condensazione nucleare e dalla valutazione delle aneuploidie spermatiche mediante FISH. Tali approfondimenti sono indicati nei maschi con infertilità idiopatica e nelle coppie con storia di aborti ricorrenti o ripetuti fallimenti delle tecniche di riproduzione assistita o con cattiva qualità embrionale.

Bibliografía

1. Egozcue S, Blanco J, Vendrell JM, García F, Veiga A, Aran B, Barri PN, Vidal F, Egozcue J. Human male infertility: chromosome anomalies, meiotic disorders, abnormal spermatozoa and recurrent abortion. *Hum Reprod Update*. 2000; 6 (1): 93-105.
2. Chandley AC. Infertility and chromosome abnormality. *Oxf Rev Reprod Biol*. 1984; 6: 1-46.
3. Martin RH, Rademaker A. The relationship between sperm chromosomal abnormalities and sperm morphology in humans. *Mutat Res*. 1988; 207(3-4): 159-164.
4. Martin RH, Ko E, Chan K. Detection of aneuploidy in human spermatozoa by FISH. *Cytogenet Cell Genet* 1993; 64: 23-26.
5. Spriggs EL, Rademaker AW, Martin RH. Aneuploidy in human sperm: results of two-and three-color fluorescence in situ hybridization using centromeric probes for chromosomes 1, 12, 15, 18, X, and Y. *Cytogenet Cell Genet* 1995; 71(1): 47-53.
6. Ried T, Landes G, Dackowski W, Klinger K, Ward DC. Multicolor fluorescence in situ hybridization for the simultaneous detection of probe sets for chromosome 13, 18, 21, X and Y in uncultured amniotic fluid cells. *Hum Mol Genet* 1992; 1: 307-313.
7. Downie SE, Flaherty SP, Swann NJ, Matthews CD. Estimation of aneuploidy for chromosomes 3, 7, 16, X and Y in spermatozoa from 10 normospermic men using fluorescence in-situ hybridization. *Mol Hum Reprod*. 1997; 3(9): 815-819.
8. Bischoff FZ, Nguyen D, Burt KJ, Shaffer LG. Estimates aneuploidie using multi-colour FISH on human sperm. *Cytogenet Cell Genet* 1994; 66: 237-243.
9. Calogero AE, De Palma A, Grazioso C, Barone N, Burrello N, Palermo I, Gulisano A, Pafumi C, D'Agata R. High sperm aneuploidy rate in unselected infertile patients and its relationship with intracytoplasmic sperm injection outcome. *Hum Reprod* 2001; 16(7): 1433-1439.
10. Burrello N, Vicari E, Shin P, Agarwal A, De Palma A, Grazioso C, D'Agata R, Calogero AE. Lower sperm aneuploidy frequency is associated with high pregnancy rates in ICSI programmes. *Hum Reprod* 2003; 18(7): 1371-1376.
11. Rubio C, Gil-Salom M, Simón C, Vidal F, Rodrigo L, Mínguez Y, Remohí J, Pellicer A. Incidence of sperm chromosomal abnormalities in a risk population: relationship with sperm quality and ICSI outcome. *Hum Reprod*. 2001; 16(10): 2084-2092.
12. Rubio C, Simón C, Blanco J, Vidal F, Mínguez Y, Egozcue J, Crespo J, Remohí J, Pellicer A. Implications of sperm chromosome abnormalities in recurrent miscarriage. *J Assist Reprod Genet*. 1999; 16 (5): 253-258.
13. In't Veld P, Brandenburg H, Verhoeff A, Dhont M, Los F. Sex chromosomal abnormalities and intracytoplasmic sperm injection. *Lancet*. 1995; 346 (8977): 773.
14. Bonduelle M, Aytoz A, Van Assche E, Devroey P, Liebaers I, Van Steirteghem A. Incidence of chromosomal aberrations in children born after assisted reproduction through intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod*. 1998; 13(4): 781-782.
15. Spriggs EL, Martin RH. Analysis of segregation in a human male reciprocal translocation carrier, t(1;11)(p36.3;q13.1), by two-colour fluorescence in situ hybridization. *Mol Reprod Dev*; 38(3): 247-250.
16. Chevret E, Rousseaux S, Monteil M, Pelletier R, Cozzi J, Sèle B. Meiotic segregation of the X and Y chromosomes and chromosome 1 analyzed by three-color FISH in human interphase spermatozoa. *Cytogenet Cell Genet*. 1995; 71(2): 126-130.
17. Rousseaux S, Chevret E, Monteil M, Cozzi J, Pelletier R, Delafontaine D, Sèle B. Sperm nuclei analysis of a Robertsonian t(14q21q) carrier, by FISH, using three plasmids and two YAC probes. *Hum Genet* 1995; 96(6): 655-660.
18. Benet J, Oliver-Bonet M, Cifuentes P, Templado C, Navarro J. Segregation of chromosomes in sperm of reciprocal translocation carriers: a review. *Cytogenet Genome Res* 2005; 111 (3-4): 281-290.
19. Durakbasi-Dursun HG, Zamani AG, Kutlu R, Görkemli H, Bahce M, Acar A. A new approach to chromosomal abnormalities in sperm from patients with oligoasthenoteratozoospermia: detection of double aneuploidy in addition to single aneuploidy and diploidy by five-color fluorescence in situ hybridization using one probe set. *Fertil Steril* 2008; 89(6): 1709-1717.
20. Calogero AE, Burrello N, De Palma A, Barone N, D'Agata R, Vicari E. Sperm aneuploidy in infertile men. *Reprod Biomed Online*. 2003; 6(3): 310-317.
21. Gianaroli L, Magli MC, Ferraretti AP, Fiorentino A, Garrisi J, Munné S. Preimplantation genetic diagnosis increases the implantation rate in human in vitro fertilization by avoiding the transfer of chromosomally abnormal embryos. *Fertil Steril*. 1997; 68 (6): 1128-1131.
22. Rubio C, Pehlivan T, Rodrigo L, Simón C, Remohí J, Pellicer A. Embryo aneuploidy screening for unexplained recurrent miscarriage: a minireview. *Am J Reprod Immunol*. 2005; 53 (4):159-165.

2.4 DIAGNOSTICA ORMONALE

All'anamnesi e all'esame clinico, che insieme all'esame del liquido seminale costituiscono il primo stadio nella valutazione del maschio infertile, segue lo studio ormonale, necessario per definire la diagnosi ed indirizzare la terapia. Lo studio ormonale di base comprende la determinazione delle gonadotropine (LH ed FSH) e del testosterone totale (T).

L'FSH e LH svolgono un'azione sinergica nel maschio per un perfetto svolgimento della spermatogenesi. In particolare alla pubertà entrambe le gonadotropine sono necessarie per completare la maturazione spermatogenetica; in età adulta, invece, anche in assenza di FSH, la spermatogenesi è qualitativamente normale, ma numericamente ridotta. In epoca fetale e neonatale l'FSH attiva la proliferazione delle cellule del Sertoli, successivamente nella fase puberale influenza l'attività mitotica degli spermatogoni e ne favorisce il differenziamento lungo la via spermatogenetica, attraverso la meiosi, fino allo stadio di spermatidi rotondi. Il testosterone prodotto dalle cellule di Leydig sotto lo stimolo dell'LH, invece, sembra influenzare le ultime fasi maturative spermatogenetiche (spermiogenesi). In particolare le cospicue concentrazioni intratesticolari di testosterone, necessarie per la sua azione di stimolo sulla spermatogenesi¹, sembrerebbero almeno in parte mediate dall'FSH: l'FSH stimola la sintesi della 5- α -reduttasi nei tubuli seminiferi e della proteina legante gli androgeni (ABP). Il meccanismo di trasporto mediato dall'ABP permette al testosterone di raggiungere elevate concentrazioni all'interno dei tubuli seminiferi (da 50 a 100 volte superiori rispetto ai livelli del testosterone periferico) dove viene in parte ridotto a diidrotestosterone (DHT) e in parte ad estradiolo. Nella valutazione del dosaggio del T bisogna tenere presente che questo ormone ha una variazione circadiana con valori massimi in prima mattina e minimi durante le ore serali. Il dosaggio contemporaneo dei livelli sierici di Testosterone, FSH ed LH permette di definire un eventuale stato di ipogonadismo e la sede dell'alterazione dell'asse ipotalamo-ipofisi-gonade (Tabella 1).

Tabella 1

	LH	FSH	T	
1	N	N	N	Cause post-testicolari, cause testicolari (patologie unilaterali o bilaterali lievi)
2	↑	↑	↓	Cause testicolari (patologie bilaterali severe)
3	N	↑	N	Cause testicolari (interessamento selettivo componente tubulare)
4	↓	↓	↓	Cause pre-testicolari
5	↓	↓	↑	Cause pre-testicolari (somministrazione androgeni, tumori androgeno-secermenti)
6	↑	↑	↑	Cause testicolari (AIS)

Livelli elevati di gonadotropine associati a bassi livelli di T indicano una condizione di ipogonadismo primitivo o testicolare (ipogonadismo ipergonadotropo), bassi livelli di T associati a bassi o normali livelli di gonadotropine sono a favore di un ipogonadismo secondario a patologia o disfunzione di origine centrale ipotalamo-ipofisaria (ipogonadismo ipogonado-

tropo). In quest'ultimo caso è necessario valutare la restante funzione ipofisaria, in prima battuta attraverso il dosaggio mattutino degli altri ormoni ipofisari e degli ormoni prodotti dalle ghiandole bersaglio (prolattina, ACTH e cortisolo, GH ed IGF-1, TSH ed FT4), eventualmente completata dagli opportuni test di stimolo, e richiedere uno studio per immagini della regione diencefalo-ipofisaria per differenziare le forme secondarie a patologia organica dalle forme funzionali o idiopatiche. I dati clinici (presenza di anosmia e/o di malformazioni associate) e l'anamnesi familiare possono giustificare l'avvio di uno studio molecolare per identificare eventuali alterazioni di specifici geni responsabili di ipogonadismo ipogonadotropo (gene KAL, DAX1, GnRH recettore, betaLH etc). Livelli elevati di LH e T possono essere indicativi di una resistenza agli androgeni che viene invocata in alcuni rari casi di infertilità.

Il T biologicamente attivo o T libero (FT), cioè non legato alle proteine di trasporto (SHBG ed albumina), è solo il 2% del T totale ed è strettamente correlato a questo. Pertanto sebbene la determinazione del T totale può essere sufficiente per gli scopi diagnostici nella pratica clinica, in certe particolari condizioni patologiche vi può essere una variazione significativa delle proteine leganti sia nel senso di un aumento (ipertiroidismo, assunzione di antiepilettici) o di una diminuzione (obesità di grado elevato) con parallelo aumento o diminuzione dei livelli di T totale. Condizioni fisiologiche (invecchiamento, attività fisica intensa, stress), farmaci (anestetici, ketoconazolo, antitiroidei di sintesi) e malattie croniche (epatiche, renali, cardiovascolari) possono causare una diminuzione dei livelli di T per una riduzione dei livelli di SHBG. In tutti questi casi il livelli dell'FT appaiono immutati. Poiché il dosaggio dell'FT con metodi competitivi non dà risultati attendibili e quello con metodiche affidabili come la dialisi all'equilibrio o la precipitazione con ammonio solfato non sono applicabili alla routine di laboratorio, si può ricorrere alla determinazione indiretta tramite un calcolo tra testosterone totale, albumina e SHBG.

L'FSH è costituito da un complesso di molecole dotate di una microeterogeneità strutturale, a seconda della diversa composizione dei gruppi glucidici. La glicosilazione condiziona l'emivita della molecola stessa e quindi l'attività biologica in vivo, infatti le isoforme di FSH con pochi residui di acido sialico (forme basiche) sono rapidamente rimosse, mentre quelle caratterizzate da un maggior numero di residui di acido sialico (forme acide) permangono più a lungo in circolo. Le forme basiche rappresentano una piccola parte del totale delle molecole presenti in circolo, ma presentano una maggiore affinità di legame recettoriale (2-5 volte maggiore delle forme acide), mentre l'emivita plasmatica delle forme acide è circa dieci volte maggiore di quella delle isoforme basiche². La regolazione della sua sintesi e secrezione avviene attraverso un complesso controllo che vede interagire l'ormone ipotalamico che ne stimola il rilascio (GnRH), fattori intrainipofisari quali l'attivina e la follistatina ed il feedback gonadico esercitato da ormoni steroidei e peptidici. Il GnRH è un peptide di 10 aminoacidi secreto da neuroni peptidergici, i cui assoni sono prevalentemente localizzati a livello dell'ipotalamo, a livello del nucleo arcuato e dell'eminenza mediana e sono sottoposti ad un controllo da parte del sistema nervoso centrale attraverso l'azione di numerosi neurotrasmettitori e neuro peptidi inibitori ed eccitatori (noradrenergici, dopaminergici, serotoninergici ed oppioidi endogeni), ma anche a segnali di feedback provenienti dalle gonadi. Una caratteristica della funzione nervosa è la periodicità intrinseca di scarica con ampiezza e frequenza variabili che stimola a livello ipofisario la sintesi e la secrezione di LH ed in misura minore di FSH.

I differenti pattern di pulsilità possono modulare la secrezione delle gonadotropine: la pulsilità a più lunga frequenza (due o più ore) induce la liberazione di FSH, mentre la pulsilità a più rapida frequenza (da 30 a 90 minuti) sembra favorire la secrezione di LH. Il testosterone e l'estradiolo esercitano un feedback negativo sulla secrezione delle gonadotropine direttamente attraverso l'interazione con specifici recettori localizzati a livello sia ipotalamico che ipofisario; il testosterone ha anche un'azione indiretta, prevalentemente ipotalamica, dopo la sua aromatizzazione ad estradiolo. Ruolo centrale nella regolazione della secrezione dell'FSH è svolto dall'inibina

B che rappresenta il prodotto della secrezione delle cellule del Sertoli. Negli ultimi anni l'ipotesi che l'inibina B rappresenti il principale ormone di controllo della secrezione di FSH è stata supportata da numerose evidenze cliniche e sperimentali. Il riscontro di concentrazioni di inibina B molto ridotte in pazienti affetti da grave testicolopatie (quali l'ipogonadismo ipogonadotropo e la sindrome di Klinefelter) e la sua assenza in pazienti orchiettomizzati hanno indotto a ritenere il testicolo l'unica sede di produzione di questo peptide. La secrezione di inibina B da parte delle cellule del Sertoli sembra essere gonadotropino-dipendente, come dimostrato dall'evidenza che la somministrazione di levonorgestrel e testosterone è in grado di sopprimere la secrezione delle gonadotropine endogene riducendo secondariamente anche le concentrazioni di inibina B. Inoltre in pazienti affetti da ipogonadismo ipogonadotropo per deficit isolato del GnRH, il trattamento sostitutivo con GnRH pulsatile si è rivelato in grado di normalizzare i livelli di FSH, LH e testosterone e di aumentare significativamente le concentrazioni di inibina B. Questi elementi sono in accordo con l'ipotesi che l'FSH sia in grado di stimolare la secrezione di inibina B da parte delle cellule del Sertoli testicolari e che l'inibina a sua volta, attraverso un meccanismo di feedback negativo, sia in grado di controllare la secrezione ipofisaria di questa gonadotropina. I livelli mattutini di inibina B correlano con quelli dell'FSH, con il volume testicolare e con la concentrazione spermatica. I suoi livelli sono significativamente più alti in pazienti con cellule germinali conservate e spermatozoi maturi nel testicolo, mentre alti livelli di FSH (>10 UI/L) in combinazione con bassi livelli di inibina B (<80 pg/ml) hanno un valore predittivo del 100% nell'identificare concentrazioni spermatiche inferiori ai 20 milioni/ml³ e sono costantemente presenti nei soggetti con quadro istologico caratterizzato da sindrome a sole cellule del Sertoli⁴⁻⁵. I livelli plasmatici di FSH rappresentano un marker della funzione spermatogenetica tubulare e della funzionalità delle cellule di Sertoli: l'elevazione dell'FSH è inversamente proporzionale alla riduzione del patrimonio di cellule germinali tubulari ed alla concentrazione spermatica. Quindi, elevati livelli di FSH, associati ad azoospermia o oligozoospermia ed al dato clinico di ridotto volume testicolare, sono indicativi di una compromissione primaria della spermatogenesi. Al contrario, l'azoospermia con normali livelli di FSH e normale volume testicolare può essere dovuta ad un problema ostruttivo e quindi associata ad una preservata spermatogenesi⁶⁻⁷. In particolare diversi studi^{8,9} individuano un cut-off di 7,6UI/L per l'FSH come miglior parametro discriminante tra soggetti con azoospermie o criptoospermie ostruttive e secretorie. Ulteriori studi, invece, sono necessari per chiarire il ruolo dell'FSH nelle forme di ipogonadismo ipogonadotropo funzionale, caratterizzate da livelli normali di FSH ed inibina in soggetti oligozoospermici da causa idiopatica. La determinazione dei livelli di prolattina (PRL) in tutti i casi di infertilità maschile non è giustificata. I livelli di PRL sono influenzati da svariati fattori come l'orario del prelievo (la secrezione di PRL ha un ritmo circadiano, con livelli alti nella notte e bassi durante il giorno), lo stress e l'assunzione di farmaci. Solo la presenza di disturbi come disfunzione erettile, calo della libido, ginecomastia, galattorrea, di segni clinici suggestivi di presenza di processo espansivo ipofisario o una storia di assunzione cronica di farmaci stimolanti il rilascio di PRL (fenotiazine, dopamino-antagonisti etc) può giustificare la determinazione dei livelli plasmatici di PRL che va effettuata sempre su due-tre campioni prelevati ad intervalli di 30 minuti. Livelli di PRL superiori a 100 ng/mL sono suggestivi di adenoma ipofisario secernente, ma talora livelli intermedi possono associarsi al prolattinoma. La presenza di un adenoma va confermata con la diagnostica di immagine che oggi è altamente sensibile e specifica, mentre appare del tutto inutile praticare test di stimolo o di inibizione farmacologica. In presenza di adenoma naturalmente sarà necessario valutare la funzionalità degli altri assi ipofisi-ghiandole periferiche (GH-IGF1, TSH-tiroide, ACTHsurrene)¹⁰. I dosaggi di dell'E2 o/e dell'hCG possono essere utili in soggetti infertili con dati clinici che pongano quesiti diagnostici specifici: ginecomastia, disfunzione erettile, insufficienza epatica,

tumore testicolare. Lo studio completo di altri assi ipotalamo-ipofisi-ghiandole endocrine è indicato come detto sopra di fronte all'evidenza di un processo espansivo ipotalamo-ipofisario. In presenza di segni e sintomi di iper o di ipofunzione surrenalica (ipertensione, obesità, strie o ipotensione, dimagrimento, astenia, melanodermia) può trovare indicazione il dosaggio del cortisolo libero urinario e del cortisolo plasmatico alle 08.00 e alle 24:00. La determinazione dei metaboliti della steroidogenesi (17-OH progesterone, progesterone, pregnenolone, androstenedione) o del T (diidrotestosterone o DHT) basale e dopo hCG può essere indicata nel sospetto di deficit congenito della steroidogenesi o dell'azione degli androgeni (Tabella 2).

Tabella 2

ORMONE	ORARIO VALUTAZIONE	VALORI NORMALI	INTERPRETAZIONE
TESTOSTERONE	8:00	2.8-11 ng/ml	Esprime l'attività secretoria delle cellule di Leydig ed è stimolato dall'LH. Bassi livelli di T insieme a bassi livelli di gonadotropine indicano un ipogonadismo ipogonadotropo. Bassi livelli di T insieme ad alti livelli di gonadotropine indicano un ipogonadismo primario ipergonadotropo.
Free-TESTOSTERONE	8:00	56-200 pg/ml	Un uomo normale ha il 2% del T totale circolante in forma libera. Il calcolo del FT è utile nei soggetti con modificazione dei livelli di SHBG (obesi, ipertiroidei, cirrotici, tp con farmaci antiepilettici).
SHBG		0.5-1.5 ug/ml	Aumenta negli anziani e negli ipertiroidei, mentre diminuisce nell'obesità di grado elevato, causando l'apparente riduzione dei livelli di T totale.
FSH	8:00	1.5-11 mUI/L	E' un indice della funzione spermatogenetica. Elevati livelli esprimono un deficit delle cellule germinali tubulari e possono essere utilizzati come fattore prognostico negativo ai fini del recupero di spermatozoi dal testicolo.
LH	8:00	1.5-9 mUI/L	Stimola la produzione di testosterone da parte delle cellule di Leydig.
ESTRADIOLO	8:00	10-60 pg/ml	E' secreto dalle cellule di Leydig o prodotto da l'aromatizzazione periferica del T. E' aumentato in caso di incrementata attività aromatasica periferica (obesità) o di iperproduzione primitiva testicolare (tumori testicolari secernenti).
BhCG		<5 mUI/ml	Incrementa in caso di tumore testicolare germinale.
PROLATTINA	8:00	4-11 ng/ml	Va dosata solo in presenza di bassi livelli di T ed LH. Può essere aumentata in caso di insufficienza renale, cirrosi, ipotiroidismo, tp farmacologica (es. antidopaminergici, serotoninergici, inibitori di pompa protonica, verapamile), neoplasie ipotalamo-ipofisarie.
DHT		25-75 ng/ml	Va sempre dosato insieme al T. E' basso nel deficit di 5 α -reduttasi.

Bibliografia

1. Winters SJ. Endocrine evaluation of testicular function. *Clin Endocrinol* 1994; 23: 709.
2. Meduri G, Bachelot A, Cocca MP, Vasseur C, Rodien P, Kuttent F, Touraine P, Misrahi M. Molecular pathology of the FSH receptor: new insights into FSH physiology. *Mol Cell Endocrinol* 2008; 282(1-2): 130-142.
3. Jensen TK, Andersson AM, Jørgensen N, Andersen AG, Carlsen E, Petersen JH, Skakkebaek NE. Body mass index in relation to semen quality and reproductive hormones among 1,558 Danish men. *Fertil Steril*. 2004; (4): 863-870.
4. Anderson RA. Clinical studies: inhibin in the adult male. *Mol Cell Endocrinol* 2001; 180(1-2): 109-116.
5. Meachem SJ, Nieschlag E, Simoni M. Inhibin B in male reproduction: pathophysiology and clinical relevance. *Eur J Endocrinol* 2001; 145(5): 561-571.
6. Sussman EM, Chudnovsky A, Niederberger CS. Hormonal evaluation of the infertile male: has it evolved?. *Urol Clin North Am* 2008; 35(2): 147-155.
7. Bourcigaux N. Hormonal evaluation in infertile men. *Gynecol Obstet Fertil* 2008; 36(5): 551-556.
8. Foresta C, Selice R, Garolla A, Ferlin A. Follicle-stimulating hormone treatment of male infertility. *Curr Opin Urol*. 2008; 18(6): 602-607.
9. Andersson AM, Petersen JH, Jørgensen N, Jensen TK, Skakkebaek NE. Serum inhibin B and follicle-stimulating hormone levels as tools in the evaluation of infertile men: significance of adequate reference values from proven fertile men. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004; 89(6): 2873-2879.
10. Milardi D, Giampietro A, Baldelli R, Pontecorvi A, De Marinis L. Fertility and hypopituitarism. *J Endocrinol Invest* 2008; 31 (supp 9): 71-74.

2.5 DIAGNOSTICA IMMUNOLOGICA

Dai dati della letteratura si evince che il 10-15% delle coppie in età fertile con problemi di concepimento ha una "infertilità immunologica". Di questa percentuale circa l'8-10% coinvolge direttamente il partner maschile. Le patologie andrologiche che più frequentemente possono far sospettare un'autoimmunizzazione anti-spermatozoo sono rappresentate da traumi testicolari, torsioni del funicolo spermatico, tumori testicolari, ostruzioni parziali e/o totali dei deferenti, orchiepididimiti, flogosi genitali, che agiscono come fattore scatenante se associate ad una predisposizione genetica. Data l'assenza di sintomatologia specifica, la valutazione dell'infertilità immunologica è basata sulla diagnostica di laboratorio. Le tecniche impiegate attualmente consentono di dare una valutazione qualitativa e quantitativa della immunoreazione, di definire la classe immunoglobulinica e di individuare il sito della reazione antigene-anticorpo. Gli autoanticorpi antispermatozoo (ASA) possono essere rilevati nel siero di sangue e nel plasma seminale con i test "indiretti"; inoltre, possono essere presenti sulla superficie degli spermatozoi ed essere rilevati con i cosiddetti test "diretti"¹.

Le tecniche base di tutti gli studi in Immunologia della Riproduzione sono il Gelatin Agglutination Test (GAT) ed il Tray Agglutination Test (TAT). Il GAT rappresenta il primo macrometodo messo a punto per la determinazione degli anticorpi anti-spermatozoo. E' un test di flocculazione in gelatina che utilizza spermatozoi mobili come antigene; la positività è indicata dalla comparsa di un flocculato di dimensioni variabili, a seconda dell'intensità della reazione antigene-anticorpo, mentre i campioni negativi appaiono uniformemente torbidi. Il TAT è, invece, un test di microagglutinazione che rappresenta, ad oggi, per la sua sensibilità e specificità il metodo di elezione fra le tecniche microscopiche. Come antigene viene utilizzata una sospensione di soli spermatozoi mobili ottenuta mediante "swim-up" (migrazione spontanea degli spermatozoi in un terreno di coltura stratificato sul seme). La lettura viene effettuata con un microscopio rovesciato valutando il numero di spermatozoi mobili agglutinati rispetto al totale degli spermatozoi mobili liberi; vengono, inoltre, valutati l'intensità del legame ed il tipo di agglutinazione.

Le tecniche "dirette" consentono, invece, di definire la reazione autoimmune a livello della cellula nemaspermica. Fra queste ricordiamo il Mixed Antiglobulin Reaction Test (MAR Test) e l'Immunobead Test (IBT). Il MAR Test si basa su una modificazione del Test di Coombs ed è in grado di rilevare nel liquido seminale gli anticorpi della classe IgG adesi alla superficie nemaspermica. La tecnica prevede l'impiego di eritrociti umani di gruppo 0 Rh+ sensibilizzati con antisiero anti-D incompleto posti a contatto con il liquido seminale da testare e l'antisiero anti-IgG umane. Se gli spermatozoi presentano ASA sulla loro superficie, formeranno con gli eritrociti delle agglutinzioni miste (Fig. 1).



Fig. 1 MAR-test

Il Test viene letto al microscopio a 400x valutando la percentuale di spermatozoi mobili coinvolti in agglutinazioni. Sono considerati positivi i campioni che mostrano una percentuale di legame superiore al 20%.

L'IBT si basa, invece, sull'utilizzazione di sferule di poliacrilamide rivestite di antiimmunoglobuline G, A ed M; la reazione avviene fra il gruppo N-terminale ed il gruppo carbossilico del frammento Fc dell'anti-immunoglobulina umana, creando così un complesso sferula-antiimmunoglobulina (Fig. 2).

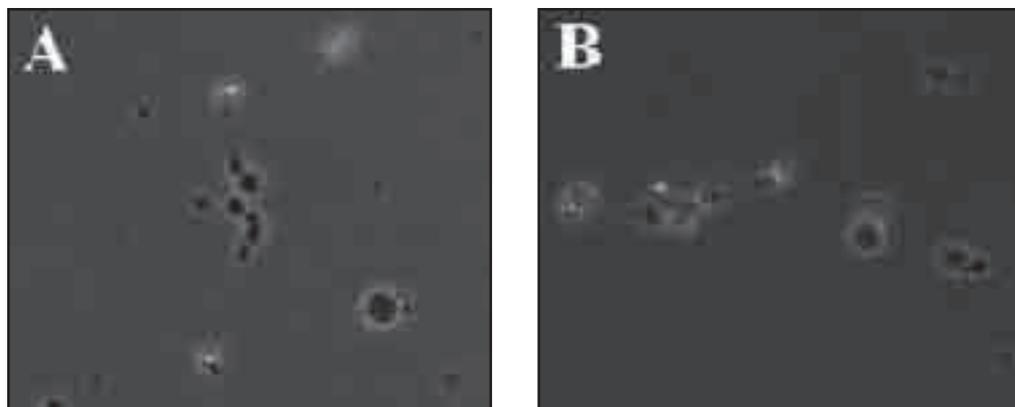


Fig. 2 Immunobead test:

- A. Particelle legate alla coda degli spermatozoi;
- B. Legami diffusi da multipla localizzazione anticorpale.

Tale tecnica presenta, quindi, il vantaggio rispetto al MAR Test di valutare tutte le classi Ig presenti sulla superficie nematospermica. L'IBT risulta strettamente correlato con i risultati del GAT e del TAT e con quelli del MAR Test; il limite dei test diretti è legato al fatto che essi non possono essere eseguiti su campioni seminali caratterizzati da severa oligozoospermia o ipomotilità grave². In conclusione è importante sottolineare che al fine di evitare risultati falsamente negativi, ogni campione deve essere analizzato con più di uno dei metodi sopra descritti, impiegando le tecniche più sperimentate. Un protocollo consigliabile è quello che prevede l'impiego del GAT e del TAT nel siero di sangue e nel plasma seminale e l'IBT diretto per lo studio degli anticorpi adesi alla superficie degli spermatozoi. È necessario, inoltre, impiegare la maggiore varietà di sistemi antigenici possibile: infatti la variabilità nel ruolo svolto dagli anticorpi anti-spermatozoo sulla capacità fecondante del seme potrebbe dipendere da un'immunizzazione contro antigeni presenti su spermatozoi dotati di differenti gradi di potenzialità fecondante. È altresì indispensabile titolare sino alla diluizione finale i campioni positivi ai metodi indiretti. Infine ogni campione risultato positivo deve essere studiato a diluizioni scalari per valutare il titolo anticorpale, che rappresenta l'espressione quantitativa dell'attività specifica dell'anticorpo in esame. Il fenomeno autoimmune è tanto più in grado di interferire con la fertilità quanto più è elevato il titolo anticorpale; tale titolo assume significatività clinica a partire da 1:32 per il siero ematico e da 1:16 per il plasma seminale; per i test diretti la soglia di significatività è del 50% di legame.

La presenza degli ASA rappresenta un importante fattore in grado di interferire con varie tappe del processo riproduttivo ed è, pertanto, necessario valutare correttamente la loro presenza ed impostare il trattamento più idoneo ad evitare alla coppia interventi medici o chirurgici inutili se non, addirittura, dannosi³⁻⁴.

Bibliografia

1. Coulam CB and Stern JJ. Evaluation of immunological infertility. *Am J Reprod Immunol* 1992; 27(3-4): 130-135.
2. Krapez JA, Hayden CJ, Rutherford AJ, Balen AH. Survey of the diagnosis and management of antisperm antibodies. *Hum Reprod* 1998; 13(12): 3363-3367.
3. Lombardo F, Gandini L, Dondero F, Lenzi A. Antisperm immunity in natural and assisted reproduction. *Hum Reprod Update* 2001; 7(5): 450-456.
4. Dondero F, Lenzi A, Gandini L, Lombardo F. Immunological infertility in humans. *Exp Clin Immunogenet* 1993; 10(2): 65-72.

2.6 DIAGNOSTICA MICROBIOLOGICA

La diagnostica microbiologica nel maschio infertile si basa essenzialmente sulla ricerca di eventuali infezioni del tratto urogenitale che sono responsabili di circa il 10-15% di tutti i casi di infertilità. L'infezione può interessare diverse sedi del tratto genitale maschile, come testicoli, epididimo e ghiandole sessuali accessorie. Nel caso di infezione del testicolo o dell'epididimo, gli spermatozoi possono essere interessati dall'infezione in diverse fasi del loro sviluppo e maturazione, con conseguente compromissione della spermatogenesi, sia dal punto di vista quantitativo che qualitativo. L'infezione può contribuire all'infertilità attraverso diversi meccanismi: produzione di citochine, come interleuchina 1 ed interleuchina 8, tossiche per gli spermatozoi; riduzione della motilità o della reazione acrosomiale causata da germi come *E. coli*, *Mycoplasma spp.* e *C. trachomatis*; alterazioni della composizione biologica e biochimica del plasma seminale con conseguente riduzione del potenziale fertilizzante degli spermatozoi. L'infiammazione, inoltre, oltre all'alterazione della struttura degli organi pelvici, può provocare disfunzione del pavimento pelvico e ostruzione del tratto genitale maschile.

CITOCINE INFIAMMATORIE E FUNZIONE GONADICA

Numerosi studi hanno evidenziato che le citochine, molecole proteiche prodotte da vari tipi di cellule e secrete nel mezzo circostante di solito in risposta ad uno stimolo, svolgono un ruolo centrale nella regolazione della funzione gonadica, sia attraverso un'azione locale che sistemica. Queste molecole, infatti, sono in grado di modificare il comportamento di altre cellule inducendo nuove attività come la crescita, il differenziamento e la morte cellulare¹, attraverso un'azione di solito autocrina (modificando il comportamento della stessa cellula che l'ha secreta) o paracrina (modificano il comportamento di cellule adiacenti), ma in alcuni casi anche endocrina (modificando il comportamento di cellule molto distanti da loro).

Vi sono prove crescenti, ad esempio, che le citochine siano coinvolte a livello testicolare nei meccanismi che regolano il rinnovo delle cellule staminali attraverso i processi di divisione cellulare mitotica e meiotica²⁻⁴. L'Interleuchina (IL) -1 e IL-6 prodotte dalle cellule del Sertoli potrebbero agire per regolare localmente le funzioni dei linfociti, importanti per la corretta protezione immunologica dei tessuti²⁻⁶. Altre interleuchine, come l'IL-1, IL-2, l'interferone-gamma (IFN- γ) ed il fattore di necrosi tumorale alfa (TNF- α), hanno mostrato di regolare (indurre/inibire) la steroidogenesi delle cellule di Leydig⁵⁻¹³ e la secrezione di transferrina da parte delle cellule del Sertoli⁷⁻¹⁴. È stato inoltre dimostrato nel topo che l'IFN- γ può inibire la secrezione di estradiolo da parte delle cellule del Sertoli¹¹.

In aggiunta all'effetto locale, un effetto regolatorio dell'IL-1 e dell'interferone alfa (IFN- α) è stato dimostrato anche sull'asse ipotalamo-ipofisi-gonadi, mediante studi condotti in vitro ed in vivo sia a livello del SNC sia a livello delle gonadi¹⁵⁻¹⁷: l'IL-1 somministrata per iniezione intracerebroventricolare nell'animale da esperimento è in grado di provocare la soppressione della secrezione di GNRH e conseguentemente dell'LH^{18,19}. Tale inibizione si verifica a livello del SNC ed appare dipendente dalla presenza di oppioidi endogeni.

A livello delle gonadi l'IL-1 esercita un'azione diretta inibitoria sulla steroidogenesi 20, potenziata dal TNF. Un effetto simile a quello dell'IL-1 è stato descritto, sia in vitro che in vivo, anche utilizzando interferone gamma (IFN-g)²¹.

L'attività delle citochine sull'asse ipotalamo-ipofisi-gonadi, pertanto, è prevalentemente di tipo inibitorio e potrebbe spiegare le alterazioni della funzione riproduttiva che si verificano in corso di stati infettivi ed infiammatori.

EFFETTO DELL'INFEZIONE SULLA QUALITÀ DELLO SPERMA

L'associazione tra infezione del testicolo o delle ghiandole sessuali accessorie e alterazione della qualità dello sperma e/o infertilità è stata riportata da numerosi studi pubblicati in letteratura: infezioni delle ghiandole sessuali accessorie sono riscontrate frequentemente in soggetti infertili; l'eiaculato di soggetti infertili contiene più leucociti rispetto ai soggetti fertili; la qualità dello sperma è ridotta in presenza di un elevato numero di leucociti²²⁻²³.

Orchiti ed epididimo-orchiti acute o croniche. Le infezioni del testicolo alterano profondamente la spermatogenesi. La più importante infezione che coinvolge il testicolo di pazienti in età riproduttiva è l'orchite causata dal virus della parotite. Questa patologia esita frequentemente in sclerosi tubulare, atrofia testicolare e gravi alterazione della spermatogenesi. Conseguenze simili si hanno anche nel caso di epididimo-orchiti causate da infezioni batteriche discendenti. L'infezione cronica da *M. tuberculosis* è una patologia rara che provoca una grave distruzione delle strutture testicolari.

Infezioni delle ghiandole sessuali accessorie maschili. Anche se da molto tempo viene riportato che le infezioni delle ghiandole sessuali accessorie maschili possono compromettere la capacità riproduttiva, mancano tuttora prove consistenti di un effetto negativo di queste infezioni sulla qualità del seme e sulla fertilità. Uno dei motivi di questa controversia deriva anche dalla non univoca definizione delle diverse forme di infezione. L'infezione cronica della prostata e delle vescicole seminali è stata associata a bassa qualità dello sperma con oligoastenoteratozoospermia, alterazione della viscosità e dei marker biochimici del plasma seminale^{24,25}. Uno dei principali meccanismi con cui l'infezione provoca alterazioni degli spermatozoi è la produzione di citochine e fattori di crescita da parte delle cellule dell'infiammazione e di radicali liberi da parte dei neutrofili, in grado di alterare direttamente la funzione degli spermatozoi^{26,27}. L'infezione cronica delle ghiandole sessuali accessorie rappresenta inoltre un fattore di rischio per la stenosi dei dotti seminiferi e l'orchite subclinica. La terapia antibiotica è stata dimostrata essere in grado non solo di curare l'infezione delle ghiandole sessuali accessorie, ma anche di normalizzare o migliorare lo spermogramma^{28,29}, anche se questo risultato non è però stato confermato da altri Autori³⁰.

Infezioni sistemiche. Infiammazioni acute o croniche generalizzate come la sepsi sono associate ad alterazioni della steroidogenesi e della spermatogenesi, che possono esitare in sterilità temporanea o permanente. Queste condizioni sono infatti associate a ridotti livelli di testosterone, ormone essenziale per il mantenimento della spermatogenesi.

RUOLO DI BATTERI E VIRUS NELL'INFERTILITÀ MASCHILE

I batteri gram-negativi aerobi sono i principali responsabili delle infezioni batteriche non gonococciche del tratto genitale maschile. L'*Escherichia coli*, per esempio, è responsabile del 20-30% dei casi di epididimite acuta e di molti casi di prostatite-vesciculite cronica. I batteri gram-positivi aerobi colonizzano frequentemente l'uretra maschile, ma sono raramente causa di uretrite, prostatite o epididimite acuta. Altri batteri, come *Ureaplasma urealyticum* e *Chlamydia trachomatis*, sono stati dimostrati essere responsabili di infezioni sintomatiche ed asintomatiche del tratto genitale maschile ed associati ad infertilità.

Escherichia coli. È in grado di aderire rapidamente agli spermatozoi umani in vitro, agglutinando gli spermatozoi e alterandone la motilità e la morfologia³¹. Le alterazioni morfologiche comprendono difetti della membrana plasmatica e degenerazione dell'acrosoma.

Ureaplasma urealyticum. Quattro specie di micoplasmi sono stati dimostrati colonizzare il tratto genitale maschile: *M. hominis*, *U. urealyticum*, *M. fermentans*, *M. genitalium*. *U. urealyticum* è considerato un patogeno facoltativo, in grado di provocare uretrite e prostatite. Questo microorganismo è in grado di aderire saldamente agli spermatozoi³² e la sua presenza si associa a ridotta motilità degli spermatozoi³³, alterazione della loro morfologia³⁴ e ridotta capacità di penetrazione in oociti³⁵.

Chlamydia trachomatis. Le infezioni da *Chlamydia* spp. sono le più frequenti e le più gravi malattie sessualmente trasmesse. La presentazione clinica dell'infezione da *Chlamydia trachomatis* è ben nota nella donna, nella quale è causa della maggior parte dei casi di salpingite e di malattia infiammatoria pelvica, e quindi del fattore femminile di infertilità. Nell'uomo è una delle cause più frequenti di uretrite ed epididimite acuta. Come nella donna, l'infezione dei vasi deferenti o dell'epididimo può causare stenosi parziale o completa, con conseguente alterazione della qualità dello sperma o oligo-azoospermia³⁶. *C. trachomatis* è anche un'importante causa di prostatite, essendo riscontrata in più del 30% dei soggetti con prostatite cronica non batterica³⁷. L'incidenza di *C. trachomatis* nei maschi infertili all'esame colturale varia dal 5% al 40%, a seconda della casistica e della metodica di determinazione impiegata^{38,39}. La presenza di DNA di *C. trachomatis* è stata dimostrata anche in campioni di seme crioconservato per la fecondazione assistita⁴⁰. La ricerca, invece, di immunoglobuline specifiche verso *C. trachomatis* dà risultati positivi nel 50-70% dei maschi infertili. Nonostante l'elevata prevalenza dell'infezione da *C. trachomatis*, non esiste una chiara associazione tra infezione e qualità dello sperma. È possibile che questo dipenda da problemi metodologici nell'esame colturale o sierologico. In ogni caso, poiché il ruolo di questo microorganismo nell'eziologia dell'infertilità femminile è ben documentato, l'infezione nel tratto genitale maschile è comunque rilevante, in quanto può rappresentare un serbatoio del germe, che viene inoculato ripetutamente nella partner⁴¹. Oltre alla dimostrazione che *C. trachomatis* può provocare alterazioni nella testa degli spermatozoi (*C. trachomatis* è in grado di aderire agli spermatozoi) e di ridurre la reazione acrosomiale⁴², è stato ipotizzato che *C. trachomatis* possa influire sulla fertilità inducendo la produzione di autoanticorpi anti-sperma^{44,41}.

Human immunodeficiency virus (HIV). HIV può localizzarsi sia negli spermatogoni che negli spermatozoi dell'epitelio germinale fin dalle prime fasi della malattia. L'infezione da HIV causa arresto della spermatogenesi in pazienti con malattia avanzata (AIDS), i quali possono essere fertili, pur presentando numerose anomalie dello spermiogramma⁴³. Con i notevoli progressi nella terapia dell'infezione da HIV e la riduzione del rischio di trasmissione verticale di HIV, i pazienti HIV-positivi non possono essere esclusi dalla possibilità della fecondazione assistita⁴⁴.

Virus adeno-associato (AAV). AAV sono stati riscontrati nel 30% degli eiaculati da maschi infertili, ma non nei controlli fertili⁴⁵. Inoltre, nella maggior parte dei casi, il virus è stato riscontrato nella sola frazione di spermatozoi del campione ed era associato ad oligoastenozoospermia⁴⁵.

Herpes virus. La prevalenza di virus erpetici negli spermatozoi di soggetti infertili varia nelle diverse casistiche. La presenza di HSV e CMV è stata associata da alcuni Autori ad alterazioni dei parametri seminali. In un gruppo di 252 maschi infertili, la prevalenza di virus erpetici nell'eiaculato era del 17.1%⁴⁶. Il virus riscontrato più di frequente era EBV (7.1%), mentre la prevalenza degli altri virus era più bassa (HSV 3.2%; CMV 3.6%; HHV6 4.0%; HHV7 0.4%; VZV 0%, HHV8 0%). La presenza di virus non correlava con la presenza di leucocitospermia né si associava a sintomatologia clinica. La prevalenza di virus erpetici è risultata essere più elevata in uno studio recente su una casistica di 113 maschi infertili (HSV 49.5%; EBV 16.8%; CMV 7.1%) e la presenza di HSV era associata ad oligoastenozoospermia⁴⁷. Poiché HSV e CMV possono essere responsabili di embriopatia, si raccomanda la ricerca di questi virus nello screening della coppia infertile.

Papillomavirus. I papilloma virus umani (HPV) sono membri della famiglia Papovaviridae con un genoma a DNA circolare a doppio filamento. Gli oltre 100 membri di HPV conosciuti appar-

tengono a 5 diversi generi: Alpha, Beta, Gamma, Mu e Nu. Quelli Alpha sono stati trovati solo negli uomini e nei primati e comprendono tipi di HPV ad alto rischio, a basso rischio e cutanei. Questa differenziazione riflette un diverso livello di evoluzione, una diversa sintomatologia e differenti patologie associate: quelli ad alto rischio come HPV 16 ($\alpha 9$) e HPV 18 ($\alpha 7$) causano oltre il 70% di tutti i carcinomi della cervice (il 16 oltre il 50% e il 18 circa il 20%), quelli a basso rischio come HPV 6 e HPV 11 ($\alpha 10$) sono generalmente associati a verruche genitali e gli HPV cutanei come HPV 2 ($\alpha 4$) causano verruche volgari soprattutto nei bambini. I Papillomavirus Beta, diversi in termini di evoluzione dagli Alpha, sono responsabili di infezioni asintomatiche o inapparenti. I generi Gamma, Mu e Nu raggruppano virus che causano papillomi cutanei. I Papillomavirus oltre ad essere ospite-specifici sono tessuto-specifici e possono completare un ciclo riproduttivo solo in presenza di un epitelio squamoso cheratinizzato completamente differenziato. Per tali caratteristiche possiamo individuare due gruppi di HPV: uno di quelli che infettano la pelle e le superfici cutanee (β, γ, μ, ν) e uno di quelli che infettano le mucose umido-squamose interne (α).

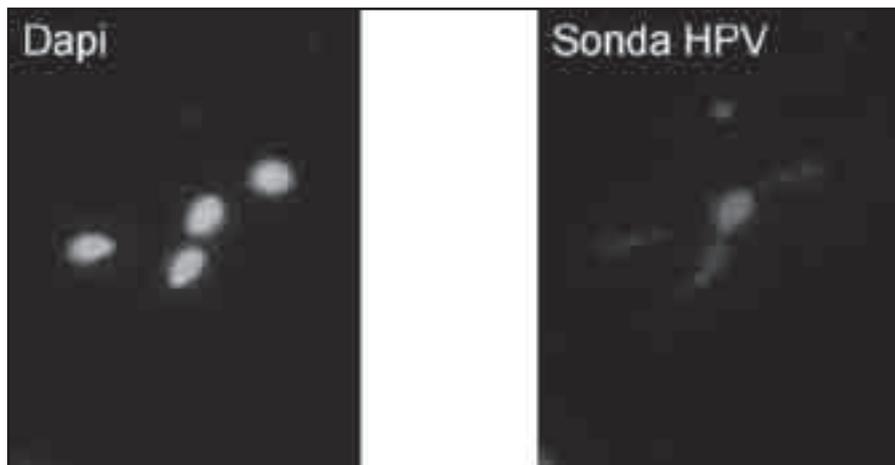
La trasmissione dell'infezione può essere orizzontale e avvenire per contatto, che può essere genitale-genitale, manuale-genitale, orale-genitale oppure può essere verticale ed essere trasmessa dalla madre al feto. I fattori di rischio che favoriscono l'instaurarsi di tale infezione sono gli intercorsi sessuali in giovane età, la molteplicità di partner sessuali, l'uso prolungato di contraccettivi orali, l'alto grado di parità, l'assenza di circoncisione, il fumo, l'immunodepressione, la coinfezione da HIV e da altre infezioni sessualmente trasmesse e ovviamente il mancato uso del preservativo. La diagnosi dell'infezione da HPV risulta difficile perché solo nella minoranza dei casi si riscontrano manifestazioni cliniche come verruche genitali, condilomi e neoplasie a cellule squamose, mentre nella maggior parte dei pazienti tale infezione è transitoria e asintomatica. La maggior parte degli studi effettuati fino ad ora ha cercato la relazione tra HPV e cancro della cervice e la prevalenza del Papillomavirus in tale patologia è risultata essere quasi del 100%. I tipi ad alto rischio più frequentemente presenti sono il 16, 18, 45, 31, 33, 52 ed il 58. Minore è stata l'attenzione rivolta all'HPV nell'uomo dove si riscontra la presenza di tale agente patogeno nel tratto uro-genitale in percentuale paragonabili a quelle femminili. L'uomo infetto rappresenta un vettore per il virus al pari della donna e anche nell'uomo può provocare neoplasie⁴⁸. I siti colpiti dall'HPV nell'uomo possono essere: superficie esterna o interna del prepuzio, glande, uretra distale, area perianale e scroto.

Il "brushing" penieno è ritenuto il metodo con maggior sensibilità, e una ricerca, condotta su 50 pazienti, partner di donne HPV positive, ha dimostrato che il campionamento penieno possiede una sensibilità dell'88,9%, quello uretrale del 50% e quello del liquido seminale del 33,3%; se però il campionamento penieno è associato a quello uretrale o del liquido seminale, la sensibilità è rispettivamente del 100% e del 97,2%. Le manifestazioni cliniche del pene più comunemente associate ai Papillomavirus sono condilomi acuminati, verruche, papule, neoplasie intraepiteliali e carcinomi in situ. Clinicamente le neoplasie e i carcinomi appaiono come papule iperpigmentate e spesso sono piatte. Non è ancora chiara la storia naturale dell'evoluzione di tali patologie ma rilevante è la prevalenza dell'HPV DNA nei carcinomi e nelle neoplasie. L'infezione da papilloma virus è considerato il fattore di rischio principale per lo sviluppo di neoplasie intraepiteliali anali ed è inoltre associata ad altre lesioni benigne quali condilomi. Particolare attenzione inoltre meritano le patologie HPV correlate del cavo orale nell'uomo come nella donna⁴⁹.

Infine particolare attenzione è suscitata dalla presenza di DNA-HPV nel liquido seminale. Non è chiaro se tale presenza sia dovuta a lesioni uretrali o di altri siti genitali, tuttavia studi sperimentali che illustrano il ritrovamento di materiale genetico dell'HPV nelle cellule di Sertoli, di Leydig e nei dotti deferenti, lasciano spazio a riflessioni su un probabile ruolo dell'infezione anche nell'infertilità⁵⁰. Un recente studio eseguito su 100 giovani soggetti maschi sessualmente attivi ha dimostrato, tramite metodica FISH, la presenza del virus nelle cellule spermatiche del 10% dei pazienti; tali soggetti presentavano un riduzione significativa della motilità spermatica. Tuttavia nei campioni infetti il virus veni-

va localizzato a livello della testa spermatica solo nel 25% delle cellule eiaculate, lasciando aperto l'interrogativo sulla possibile integrazione dell'HPV nel DNA spermatico⁵¹.

Fig. 1



A: Colorazione per l'identificazione delle cellule spermatiche.

B: Individuazione cellule spermatiche HPV positive

Bibliografia

1. Dinarello CA. Biologic basis for Interleukin-1 in disease. *Blood* 1996; 87: 2095-2147.
2. Gnassi L, Fabbri A, Spera G. Gonadal peptides as mediators of development and functional control of the testis: an integrated system with hormones and local environment. *Endocr Rev* 1997; 18: 541-609.
3. Hales DB, Diemer T, Hales KH. Role of cytokines in testicular function. *Endocrine* 1999; 10: 201-217.
4. Lunenfeld E, Zeyse D, Huleihel M. Cytokines in the Testis, Human Sperm Cells, and Semen. *Assist Reprod* 1998; 9: 157-165.
5. Skinner MK. Cell-cell interactions in the testis. *Endocrin Rev* 1991; 12: 45-77.
6. Verajankorva E, Martikainen M, Pollanen P. Cytokines in the BALB/c mouse testis in various conditions. *Asian J Androl* 2001; 3: 9-19.
7. Boockfor FR, Shwarz LK. Effects of interleukin-6, interleukin-2, and tumor necrosis factor α on transferrin release from Sertoli cells in culture. *Endocrinology* 1991; 129: 256-262.
8. Calkins JH, Sigel MM, Nankin HR, Lin T. Interleukin-1 inhibits Leydig cell steroidogenesis in primary culture. *Endocrinology* 1988; 123: 1605-1610.
9. Guo H, Calkins JH, Sigel MM, Lin T. Interleukin-2 is a potent inhibitor of Leydig cell steroidogenesis. *Endocrinology* 1990; 127: 1234-1239.
10. Orava M, Voutilainen R, Vihko R. Interferon-gamma inhibits steroidogenesis and accumulation of mRNA of the steroidogenic enzymes P450scc and P450c17 in cultured porcine Leydig cells. *Mol Endocrinol* 1989; 3: 887-894.
11. Branca AA, Franke MA, Sluss PM, Reichert Jr LE. Interferon inhibits FSH-stimulated estradiol production in rat Sertoli cell cultures. *Med Sci Res* 1987; 15: 739-743.
12. Warren DW, Pasupuleti V, Lu Y, Plater BW, Horton R. Tumor necrosis factor and interleukin-1 stimulate testosterone secretion in adult male rat Leydig cells in vitro. *J Androl* 1990; 11: 353-360.
13. Boockfor FR, Wang D, Lin T, Nagpal ML, Spangelo BL. Interleukin-6 secretion from rat Leydig cells in culture. *Endocrinology* 1994; 134: 2150-2155.
14. Hoeben E, Damme JV, Put W, Swinnen JV, Verhoeven G. Cytokines derived from activated human mononuclear cells markedly stimulate transferrin secretion by cultured Sertoli cells. *Endocrinology* 1996; 137: 514-521.
15. Crava M, Cantell K, Vihko R.: Human leukocyte interferon inhibits human chorionic gonadotropin stimulated testosterone production by porcine Leydig cells in culture. *Biochemical and Biophysical research Communications*, 1985; 127: 809-815.
16. Rivier C., Rivest S.: Effect of stress on the activity of the hypothalamic-pituitary-gonadal axis: peripheral and central mechanisms. *Biol. Reprod.*, 1991; 45: 523-532.
17. Shalts E, Feng Y.L., Ferin M.: Vasopressin mediates the interleukin-1 alpha induced decrease in luteinizing hormone secretion in the ovariectomized rhesus monkey. *Endocrinology*, 1992; 131: 153-158.
18. Kalra P.S., Fuentes M., Sahu A., Kalra S.P.: Endogenous opioid peptides mediate the interleukin-1 inhibition of luteinizing hormone (LH)-releasing hormone and LH. *Endocrinology*, 1990; 127: 2381-2386.
19. Kalra P.S., Sahu A., Kalra S.P.: Interleukin-1 inhibits the ovarian steroid-induced Luteinizing hormone surge and release of hypothalamic luteinizing hormone-releasing hormone in rats. *Endocrinology*, 1990; 126: 2145-2152.
20. Calkins J.H., Sigel N.M., Nankin H.R., Lin T.: Interleukin-1 inhibits Leydig cell steroidogenesis in primary culture. *Endocrinology*, 1988; 123: 1605.
21. Kauppila A., Cantell K., Janne O., Kokko E., Vihko R.: Serum sex steroid and peptide hormone concentrations and endometrial estrogen and progesterin receptor levels during administration of human leukocyte interferon. *International Journal of Cancer*, 1982; 29: 291-294.
22. Weidner W, Krause W, Ludwig M. Relevance of male accessory gland infection for subsequent fertility with special focus on prostatitis. *Hum Reprod* 1999; 5: 421-432.
23. Comhaire FH, Mahmoud AM, Depuydt CE, Zalata AA, Christophe AB. Mechanisms and effects of male genital tract infection on sperm quality and fertilization potential: the andrologist's viewpoint. *Hum Reprod* 1999; 5: 393-398.
24. Everaert K, Mahmoud A, Depuydt C, Maeyaert M, Comhaire F. Chronic prostatitis and male accessory gland infection – is there an impact on male infertility (diagnosis and therapy)? *Andrologia* 2003; 35: 325-330.
25. Ludwig M, Kümmler C, Schroeder-Printzen I, Ringert RH, Weidner W. Evaluation of seminal plasma parameters in patients with chronic prostatitis or leucocytospermia. *Andrologia* 1998; 30 (Suppl 1): 41-47.
26. Zalata AA, Christophe AB, Depuydt CE, Schoonjans F, Comhaire F. White blood cells cause oxidative damage to the fatty acid composition of phospholipids of human spermatozoa. *Int J Androl* 1998; 21: 154-162.

27. Depuydt C, Zalata A, Christophe A, Mahmoud A, Comhaire F. Mechanisms of sperm deficiency in male accessory gland infections. *Andrologia* 1998; 30: 29-33.
28. Giamarellou H, Tympanidis K, Bitos NA, Leonidas E, Daikos GK. Infertility and chronic prostatitis. *Andrologia* 1984; 16: 417-422.
29. Christiansen E, Tollefsrud A, Purvis K. Sperm quality in men with chronic bacterial prostatovesiculitis verified by rectal ultrasonography. *Urology* 1992; 38: 545-549.
30. Diemer T, Ludwig M, Huwe P, Hales DB, Weidner W. Influence of urogenital infection on sperm function. *Curr Opin Urol* 2000; 10: 39-44.
31. Huwe P, Diemer T, Ludwig M, Liu J, Schiefer HG, Weidner W. Influence of different uropathogenic microorganisms on human sperm motility parameters in an in vitro experiment. *Andrologia* 1998; 30(suppl 1): 55-59.
32. Fowkes DM, Dooher GB, O'Leary WM. Evidence by scanning electron microscopy for an association between spermatozoa and T-mycoplasmas in men of infertile marriage. *Fertil Steril* 1975; 26: 1203-1212.
33. Toth A, Lesser ML. *Ureaplasma urealyticum* and infertility: the effect of different antibiotic regimens on the semen quality. *J Urol.* 1982; 128: 705-707.
34. Busolo F, Zanchetta R, Lanzone E, Cusinato R. Microbial flora in semen of asymptomatic infertile men. *Andrologia.* 1984; 16: 269-275.
35. Busolo F, Zanchetta R. The effect of *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* on hamster egg in vitro penetration by human spermatozoa. *Fertil Steril.* 1985; 43: 110-114.
36. Dohle GR. Inflammatory-associated obstructions of the male reproductive tract. *Andrologia.* 2003; 35: 321-324.
37. Purvis K, Christiansen E. Infection of the male reproductive tract. Impact, diagnosis and treatment in relation to male infertility. *Int J Androl.* 1993; 16: 1-13.
38. Soffer Y, Ron ER, Golan A, Herman A, Caspi E, Samra Z. Male genital mycoplasmas and *Chlamydia trachomatis* in culture: its relationship with accessory gland function, sperm quality and autoimmunity. *Fertil Steril* 1990; 53: 331-336.
39. Vígil P, Morales P, Tapia A, Riquelme R, Salgado AM. *Chlamydia trachomatis* infection in male partners of infertile couples: incidence and sperm function. *Andrologia.* 2002; 34: 155-161.
40. Pannekoek Y, Westenberg SM, de Vries J, Repping S, Spanjaard L, Eijk PP, van der Ende A, Dankert J. PCR assessment of *Chlamydia trachomatis* infection of semen specimens processed for artificial insemination. *J Clin Microbiol* 2000; 38: 3763-3767.
41. Krause W, Bohring C. Male infertility and genital chlamydial infection: victim or perpetrator? *Andrologia* 2003; 35: 209-216.
42. Jungwirth A, Straberger A, Esterbauer B, Fink K, Schmeller N. Acrosome reaction in *Chlamydia*-positive and negative patients. *Andrologia* 2003; 35: 314-316.
43. Muller CH, Coombs RW, Krieger JN. Effects of clinical stage and immunological status on semen analysis results in human immunodeficiency virus type 1-seropositive men. *Andrologia* 1998; 30 (suppl 1): 15-22.
44. Drapkin Lyerly A, Anderson J. Human immunodeficiency virus and assisted reproduction: reconsidering evidence, reframing ethics. *Fertil Steril* 2001; 75: 843-858.
45. Rohde V, Erlen K, Sattler HP, Derouet H, Wullich B, Schlehofer JR. Detection of adeno-associated virus in human semen: does viral infection play a role in the pathogenesis of male infertility? *Fertil Steril* 1999; 72: 814-816.
46. Bezold G, Schuster-Grusser A, Lange M, Gall H, Wolff H, Peter RU. Prevalence of human herpesvirus types 1-8 in the semen of infertility patients and correlation with semen parameters. *Fertil Steril* 2001; 76: 416-418.
47. Kapranos N, Petrakou E, Anastasiadou C, Kotronias D. Detection of herpes simplex virus, cytomegalovirus, and Epstein-Barr virus in the semen of men attending an infertility clinic. *Fertil Steril* 2003; 79 (Suppl 3): 1566-1570.
48. Nielson CM, Harris RB, Dunne EF, Abrahamsen M, Papenfuss MR, Flores R, Markowitz LE, Giuliano AR. Risk factors for anogenital human papillomavirus infection in men. *J Infect Dis* 2007; 196(8): 1137-1145.
49. Nielson CM, Harris RB, Dunne EF, Abrahamsen M, Papenfuss MR, Flores R, Markowitz LE, Giuliano AR. Human papillomavirus prevalence and type distribution in male anogenital sites and semen. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2007; 16(6): 1107-1114.
50. Olatunbosun O, Deneer H, Pierson R. Human papillomavirus DNA detection in sperm using polymerase chain reaction. *Obstet Gynecol* 2001; 97(3): 357-360.
51. Foresta C, Garolla A, Zuccarello D, Pizzol D, Moretti A, Barzon L, Palù G. Human papillomavirus found in sperm head of young adult males affects the progressive motility. *Fertil Steril.* 2008 Dec 17.

2.7 DIAGNOSTICA ECOGRAFICA

Nel percorso diagnostico del maschio infertile particolare importanza è rivestita dallo studio ecografico scrotale e prostatico-vescicolare.

ECOGRAFIA SCROTALE

Lo studio ecografico della borsa scrotale prevede la valutazione degli involucri scrotali, dei testicoli, degli epididimi e dei dotti deferenti.

Nella valutazione degli involucri scrotali viene studiata la tonaca albuginea, che può essere talvolta sede di micro o macrocalcificazioni o cisti e viene ricercata l'eventuale presenza di idrocele, definito come raccolta di liquido nel contesto della borsa scrotale che può talvolta contenere materiale corpuscolato, fluttuante all'interno; l'idrocele può essere secondario a pregresso intervento di varicocele, esito di un precedente traumatismo o essere idiopatico.

Nello studio dei testicoli vengono valutati il volume, la sede, l'ecostruttura, la morfologia e la vascolarizzazione parenchimali.

Il volume testicolare può essere calcolato con la formula dell'ellissoide ($0.52 \times a \times b \times c$, dove a, b e c sono i tre diametri testicolari), sebbene le moderne apparecchiature possiedano il software necessario per calcolarlo automaticamente. Viene considerato nella norma un volume testicolare compreso fra 12 e 25 ml^l (Fig. 1).

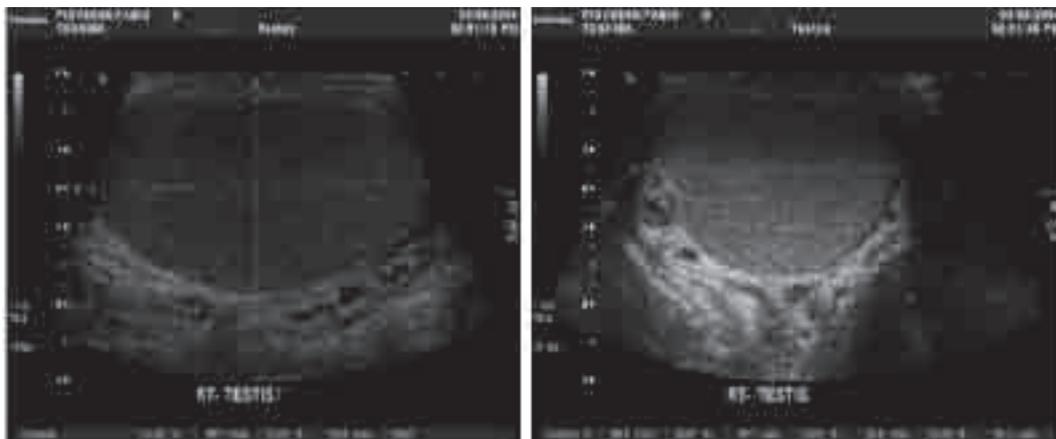


Fig. 1: Misurazione dei tre diametri testicolari e calcolo del volume testicolare mediante software automatico.

In condizioni normali il testicolo è mantenuto all'interno della borsa scrotale (cioè in sede) dalla presenza di legamenti la cui lassità potrà determinare la risalita del testicolo dopo contrazione del muscolo cremastere: se il testicolo tende a ritornare all'interno dello scroto dopo il rilassamento del suddetto muscolo si definirà "mobile", se, invece, tenderà a rimanere nel contesto del canale inguinale verrà definito "retrattile".

La normale ecostruttura parenchimale è caratterizzata da echi fini ed addensati, disposti con elevata omogeneità. La presenza di un ecopattern finemente disomogeneo, con aree debolmente iper- o ipo-ecoiche può essere manifestazione di testicoli interessati da orchiti o affetti da pregresso criptorchidismo². Particolare attenzione dovrà essere posta alla presenza di microlitiasi testicolare caratterizzata dal rilievo di almeno 5 microcalcificazioni per campo (la densità di tali foci iperecogeni è molto variabile, passando da poche decine fino a un migliaio), del diametro di 0,5-2 mm, localiz-

zate all'interno del lume dei tubuli seminiferi (Fig. 2). Tale alterazione è stata riscontrata con maggior frequenza nei soggetti con pregresso criptorchidismo, sindrome di Klinefelter o tumore testicolare e deve essere distinta da altri tipi di lesioni isolate testicolari iperecoiche, come le calcificazioni di granulomi, di ematomi, di tumori o esiti di pregressi traumatismi³.

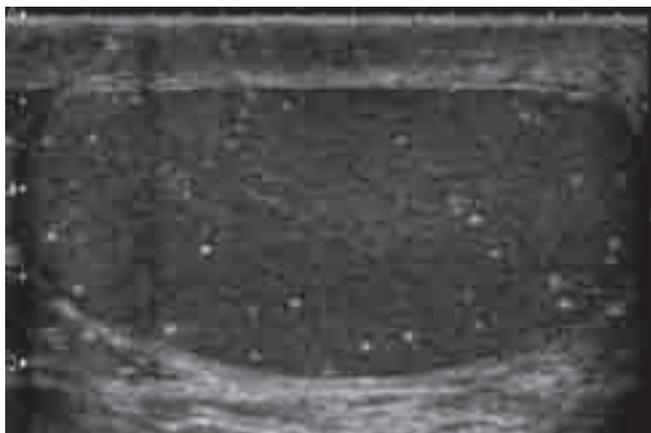


Fig. 2 Esempio di microlitiasi testicolare.

Non raramente l'esecuzione dell'ecografia scrotale su maschi infertili porta all'identificazione di noduli testicolari; tali lesioni possono essere singole o multiple, localizzate nella parte centrale o periferica della gonade. La differenziazione fra lesioni solide e liquide è solitamente agevole (Fig. 3), poiché le formazioni espansive liquide, primitivamente testicolari o dell'albuginea, presentano i tipici caratteri delle cisti: pareti sottili, rinforzo di parete posteriore e contenuto transonico.

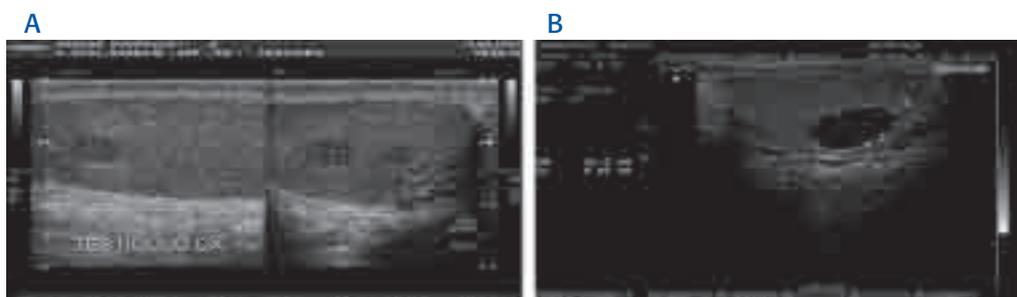


Fig. 3 A: nodulo solido intratesticolare; B: cisti testicolare

La valutazione delle lesioni solide, invece, risulta ecograficamente più problematica, poiché, anche se la presenza di un'abbondante vascolarizzazione peri ed intra-nodulare rappresenta un elemento di sospetta malignità della lesione⁴⁻⁵, nessun carattere morfostrutturale o vascolare consente di differenziare in maniera certa le lesioni benigne, come i leydigomi o i sertoliomi, da quelle maligne. Tra le lesioni maligne è stato evidenziato che i tumori seminomatosi sono solitamente più omogenei dei non seminomatosi; per cui il riscontro ecografico di un nodulo solido, ipoecogeno, discretamente omogeneo e ben delimitato fa sospettare la presenza di un seminoma; al contrario un nodulo che appare disomogeneo e meno delimitabile è più probabilmente da ritenere non seminomatoso. L'esecuzione dell'e-

cografia testicolare è particolarmente indicata in soggetti con fattori di rischio noti per neoplasia testicolare quali criptorchidismo, ipotrofia testicolare, infertilità, microlitiasi, sindrome di Klinefelter e pregresso tumore nel testicolo controlaterale.

Un ulteriore elemento da valutare nello studio testicolare è la vascolarizzazione intraparenchimale. Con i recenti sistemi ecodoppler è solitamente possibile visualizzare le arterie principali del testicolo (arterie capsulari), che decorrono lungo la superficie esterna del didimo (Fig. 4).



Fig. 4

Da tali vasi originano rami centripeti e, molto frequentemente, l'arteria transmediastinica, un vaso di grosso calibro che attraversa il testicolo con flusso diretto verso la periferia. In alcune patologie testicolari (pregresso criptorchidismo, testicoli ipotrofici, microlitiasi testicolare) spesso è presente una riduzione della vascolarizzazione intratesticolare⁶. Particolare attenzione va riservata alla valutazione di eventuali ectasie venose, che, in associazione alla presenza di reflusso venoso, identificano un quadro di varicocele (vedi capitolo 2).

La valutazione degli epididimi prevede la studio ecografico della testa, del corpo e della coda dell'epididimo (Fig. 5). La testa sovrasta il polo superiore del testicolo ed è sempre esplorabile con facilità perché ben contrastata dal liquido contenuto nel recesso funicolare; il corpo e la coda, invece, non sono sempre facilmente distinguibili. La porzione cefalica solitamente mostra un ecopattern omogeneo, isoecoico rispetto a quello del testicolo e le sue dimensioni normali non superano i 10 mm.



Fig. 5

Testa

Corpo

Coda

Essa è la sede più frequente di ostruzione o subostruzione delle vie seminali e spesso, insieme alla coda, appare dilatata in presenza di ostruzione distale (dotto deferente, dotti eiaculatori). In questi quadri la struttura può presentare un ecopattern disomogeneo caratterizzato dalla presenza di aree iper o ipo-ecoiche. Anche nello studio ecografico dell'epididimo è importante valutare l'eventuale presenza di microcalcificazioni, cisti (Fig. 6) o microcisti e, nel sospetto di quadri flogistici acuti, la vascolarizzazione, che può essere in questi casi notevolmente aumentata⁷.



Fig. 6

A livello della coda dell'epididimo si ha un evidente cambiamento dell'ecostruttura verso l'ipoeccogenicità, che consente di distinguere l'epididimo dal dotto deferente. Tale variazione è dovuta essenzialmente al maggior calibro del lume del deferente rispetto a quello dell'epididimo. Il diametro del dotto deferente solitamente non supera i 3 mm; esso presenta un decorso curvilineo dirigendosi verso il canale inguinale omolaterale. Il dotto deferente è esplorabile quasi per intero, ad eccezione del tratto pelvico e può presentare diametro aumentato in caso di infezioni e/o flogosi. Raramente può non essere visualizzabile per agenesia parziale o completa.

ECOGRAFIA PROSTATO-VESCICOLARE

Lo studio ecografico della prostata e delle vescichette seminali può essere effettuato sia per via sovrapubica che per via transrettale. La via sovrapubica consente di visualizzare la prostata e di definire l'eventuale presenza di grossolane alterazioni ecostrutturali ma non consente uno studio fine dell'ecostruttura parenchimale prostatica e non è adeguato allo studio delle vescichette seminali, spesso non permettendone neppure l'identificazione. Lo studio per via transrettale eseguito con sonda endocavitaria "end-fire" consente, invece, un esame completo sia della prostata che delle vescichette seminali.

La prostata normale, sempre ben delimitabile per il contrasto offerto dall'ipereccogenicità del tessuto adiposo perighiandolare, ha una morfologia abbastanza variabile nei diversi individui sul piano sagittale mediano, mentre appare più costante sul piano assiale.

L'ecostruttura prostatica è, nel giovane, solitamente omogenea, mediamente riflettente. In condizioni normali non si evidenziano lumi ghiandolari dilatati (Fig. 7).

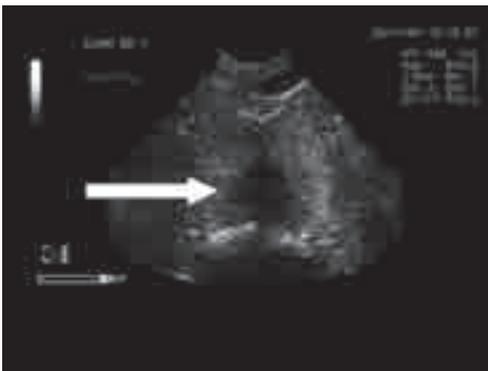


Fig. 7: Prostata normale

Le dimensioni della prostata variano anch'esse come la forma. Nei soggetti giovani lo spessore è in genere inferiore ai 26 mm mentre i diametri trasversale e sagittale variano tra i 32 e i 45 mm. Più precisa dei diametri ghiandolari è la volumetria prostatica, calcolabile mediante la formula dell'ellissoide (spessore x larghezza x lunghezza x 0.52) che risulta essere estremamente rapido e facilmente ripetibile perché calcolato direttamente dalla macchina ecografica (volume normale 19-29 ml)⁸.

Lo studio con color-Doppler deve essere eseguito sia nelle scansioni assiali che in quelle sagittali. Le sezioni assiali sono da preferire perché consentono non solo di quantificare i vasi ma anche di rilevare eventuali asimmetrie di perfusione. Nel quantificare la trama vascolare della prostata si deve tener presente che immediatamente dopo l'eiaculazione si verifica un notevole incremento dei flussi ghiandolari e che l'ipervascolarizzazione perdura per almeno 24 ore. In condizioni normali i vasi arteriosi prostatici si dispongono ordinatamente a raggiera sul piano assiale, con relativa simmetria dei flussi, diretti dorsalmente. Sul piano sagittale sono sempre ben visualizzabili le arterie periuretrali. Lo studio ECD della prostata assume particolare importanza in caso di prostatiti: nelle forme acute ed in quelle croniche riacutizzate, oltre al rilievo di tumefazione (globale o asimmetrica) della ghiandola (volume solitamente >22 ml) e riduzione dell'ecogenicità (che può essere diffusa, focale o plurifocale), è possibile documentare l'intensa ipervascolarizzazione dell'intera ghiandola se il processo è diffuso o delle aree ipoecogene già evidenziate all'esame basale se il processo è multifocale. Il follow-up ECD consente al medico di seguire nel tempo la risposta alla terapia e di accertare la remissione della prostatite e quindi fornisce informazioni sul grado dell'"attività" flogistica. Purtroppo sia l'esame ecografico di base che lo studio ECD non sono in grado di fornire informazioni utili per la diagnosi differenziale con il carcinoma prostatico. L'eventuale evoluzione ascessuale del processo flogistico si caratterizza per la comparsa di aree ipoecogene intraprostatiche a margini generalmente spessi, ben definiti o sfumati, che contengono sedimenti disomogenei⁹.

Elementi ecografici presuntivi di **prostatite cronica** possono essere rappresentati da disomogeneità diffusa con zone ipoecogene sfumate, da concrezioni iperecogene, disseminate o raggruppate, da aree ipoecogene cribrose o marcatamente pseudocistiche, solitamente ventrolaterali e talora deformanti il profilo ghiandolare, da calcificazioni isolate o sparse nel contesto del parenchima. Altri tipi di alterazioni ecostrutturali che possono essere riscontrate durante lo studio prostatico per via transrettale sono le cisti e la cosiddetta litiasi prostatica.

La sede più frequente delle cisti prostatiche è l'otricolo; le **cisti otricolari**, tipicamente mediane, a forma "di goccia", sono solitamente ritenute displasiche, in genere associate a difetti di sviluppo dell'uretra e si riscontrano più frequentemente durante l'infanzia. In genere queste lesioni contengono liquido a bassa pressione per cui non causano ostruzione; raramente provocano un difetto di svuotamento vescicolo-ampollare da compressione dutturale.

I **calcoli prostatici** (litiasi prostatica), che non rappresentano solamente l'esito o l'epifenomeno delle prostatiti, pur essendo frequentemente innocui ed asintomatici, possono fungere da deposito di germi patogeni, essere responsabili di contaminazione del liquido seminale e determinare dolore durante l'eiaculazione, emo- e/o leucospermia. Ecograficamente appaiono come formazioni iperecogene nel contesto degli echi ghiandolari e possono diversificarsi per la grandezza (calcificazioni puntiformi o "a blocco"), per la loro distribuzione (disseminati o raggruppati), per l'assorbimento acustico che determinano (assenza di cono d'ombra o grossolani coni d'ombra posteriori) e per la posizione intraghiandolare o per il rapporto con le strutture che attraversano la ghiandola (perisfinterici, periuretrali, centrali, periduttulari, mantellari)⁹.

Per quanto riguarda l'**iperplasia prostatica benigna**, frequente riscontro nei maschi di età >65 anni, lo studio transrettale con sonda biplanare o "end-fire" consente di quantificare la massa nodulare, di caratterizzare l'aspetto dei noduli (mono-, bi- o trilobare), di apprezzare il grado di

interferenza che essi determinano nella minzione, di studiarne i caratteri strutturali, di accertare la presenza di eventuali calcificazioni perinodulari e di quantificare con maggior precisione lo sviluppo di ciascun lobo. L'ecostruttura può variare dall'ipoecogenicità dei noduli adenomatosi, all'iso-iperecogenicità delle forme più complesse. Spesso si riscontrano all'interno dei noduli delle aree liquide, dovute a dilatazione cistica dei lumi ghiandolari. È importante sottolineare che la sede dell'iperplasia è la ghiandola interna, sovramontana, comprendente le ghiandole periuretrali e quelle della zona di transizione¹⁰ (Fig. 8).

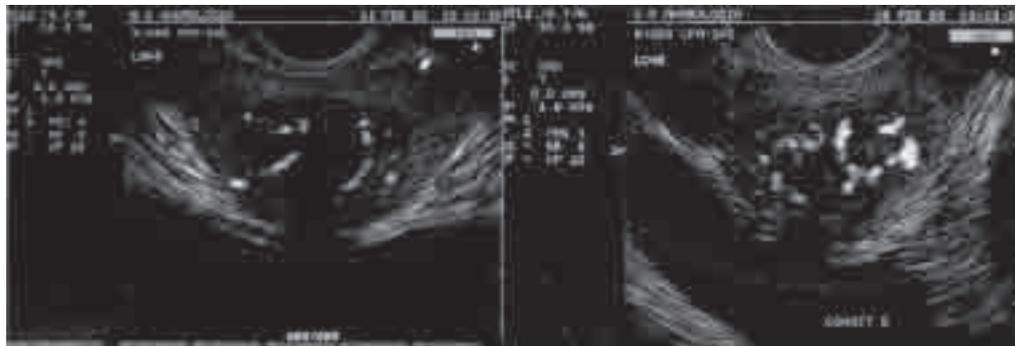


Fig. 8: Iperplasia prostatica benigna con nodulo tumefatto ed ipervascolarizzato

La zona di più frequente sviluppo del carcinoma prostatico è invece rappresentata dalla regione dorsale della ghiandola. Con l'avanzare dell'età, la crescente iperplasia centrale riduce le componenti laterali della ghiandola periferica mentre viene conservata la zona mantellare posteriore. Nel caso di carcinoma prostatico lo studio ecografico pone problemi di diagnosi differenziale con lesioni flogistiche e con quadri di iperplasia nodulare, essenzialmente per la bassa specificità delle lesioni ipoecogene, per la multifocalità e per l'elevata frequenza di lesioni isoecogene, non riconoscibili per l'insufficiente contrasto con il tessuto sano. Anche la distinzione fra tumore confinato alla ghiandola e tumore diffuso oltre la capsula non è ecograficamente agevole poiché la capsula vera della prostata è troppo sottile per poter essere delimitata dagli ultrasuoni. L'ecografista può con difficoltà andare a ricercare segni indiretti di invasione capsulare come la deformità dei contorni e l'irregolarità o l'interruzione degli echi periprostatici. Dopo intervento chirurgico il compito dell'ecografia è quello di valutare la presenza di possibili raccolte periuretrali nel periodo post-operatorio, dimostrare la pervietà dell'uretra ed evidenziare lo sviluppo di eventuali recidive locali¹⁰.

Le vescicole (o vescichette) seminali appaiono come strutture claviformi dai contorni finemente irregolari, la cui ecogenicità è finemente disomogenea, di intensità di poco inferiore a quella della prostata. Hanno lunghezza molto variabile da un soggetto all'altro (dai 40 ai 60 mm) mentre la larghezza (15-20 mm) e soprattutto lo spessore (7-12 mm) hanno un range di variabilità inferiore (Fig. 9).



Fig. 9: Vescichetta seminale normale

La misura meno soggetta a variazioni interindividuali è quella dello spessore del corpo, che varia dai 7 ai 12 mm; oltre ai 14 mm si può parlare di dilatazione vescicolare¹¹.

All'ecografia transrettale è possibile individuare eventuali alterazioni su base malformativa: agenesia bilaterale, agenesia monolaterale, ipoplasia mono- o bilaterale, cisti vescicolare. In questi casi è importante esplorare anche la loggia renale e le vie escrettrici omolaterali all'alterazione per i possibili difetti congeniti concomitanti dell'apparato urinario.

Un aumento delle dimensioni delle vescicole associato a riduzione della ecogenicità e al rilievo di multiple microaree liquide è indicativo di processo flogistico (Fig. 10).

La presenza di vescicole seminali ingrandite, con aree liquide di ristagno delle secrezioni, che non si modificano dopo l'eiaculazione può essere indicativa di difetto di svuotamento vescicolo-ampollare (Fig. 10).

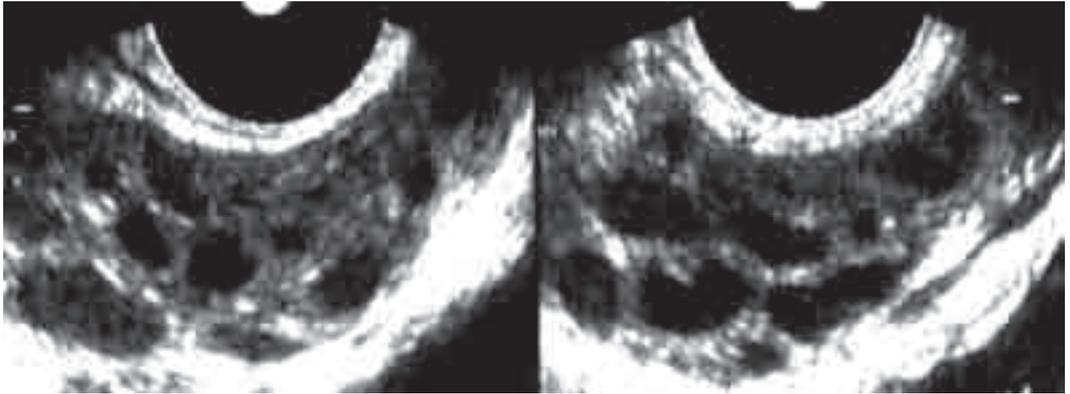


Fig. 10: Vescicole seminali ingrandite con numerose aree ed areole anecogene intraparenchimali e setti interni.

Una riduzione in lunghezza e spessore delle vescicole, talora con aspetto pseudocistico del fondo è tipica di una sclero-atrofia vescicolare, caratteristica delle forme infiammatorie specifiche¹¹.

La litiasi vescicolare, come quella ampollare, sono reperti rari e si collocano di solito all'interno di un quadro di prostatovescicolite cronica.

Bibliografia

1. Fuse H, Takahara M, Ishii H, Sumiya H, Shimazaki J. Measurement of testicular volume by ultrasonography. *Int J Androl* 1990; 13: 267-272.
2. Toppari J and Kaleva M. Maldescended testis. *Horm Res* 1999; 51: 261-269.
3. Peterson AC, Bauman JM, Light DE, McMann LP, Costabile RA. The prevalence of testicular microlithiasis in an asymptomatic population of men 18 to 35 years old. *J Urol* 2001; 166: 2061-2064.
4. Tiemstra JD, Kapoor S. Evaluation of scrotal masses. *Am Fam Physician* 2008; 78(10): 1165-1170.
5. Akin EA, Khati NJ, Hill MC. Ultrasound of the scrotum. *Ultrasound Q* 2004; 20(4): 181-200.
6. Schurich M, Aigner F, Frauscher F, Pallwein L. The role of ultrasound in assessment of male fertility. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2009; 144(suppl 1): S-192-198.
7. Lee JC, Bhatt S, Dogra VS. Imaging of the epididymis. *Ultrasound Q* 2008; 24(1): 3-16.
8. Sarteschi LM, Bertozzi A, Chiechi A, Palego PF, Porzano A, Rossi P, Turchi P, Menchini-Fabris F. Tridimensional ultrasonography in andrology. *Arch Ital Urol Androl* 2000; 72(4): 168-173.
9. Futterer JJ, Heijmink SW, Spermon JR. Imaging the male reproductive tract: current trends and future directions. *Radiol Clin North Am* 2008; 46(1): 133-147.
10. Martino P. Imaging of the prostate: three-dimensional ultrasonography. *Arch Ital Urol Androl* 2002; 74(4): 182-185.
11. Zahalsky M, Nagler HM. Ultrasound and infertility: diagnostic and therapeutic uses. *Curr Urol Rep* 2001; 2(6): 437-442.

2.8 DIAGNOSTICA CITOLOGICA ED AGOASPIRATO TESTICOLARE

L'agoaspirazione testicolare fu proposta nel 1992 ed attualmente è considerata una tecnica minimamente invasiva e facilmente riproducibile per lo studio dell'epitelio seminifero e del processo spermatogenetico in soggetti infertili^{1,2,3}. Tale metodica permette di distinguere azoospermie ed oligozoospermie di natura ostruttiva da quelle di natura secretiva e, nell'ambito di queste ultime, consente di individuare diversi gradi di ipospermatogenesi, associati o meno a turbe maturative. L'esatta categorizzazione del paziente consente di scegliere una terapia specifica, mirata per ciascun soggetto.

METODICA

L'agoaspirazione viene eseguita bilateralmente in ogni paziente, utilizzando un sottile ago butterfly di calibro 23 gauge (6-10 mm), precedentemente raccordato ad una siringa sterile da 50 ml. A paziente disteso e dopo accurata disinfezione della cute scrotale, si pratica anestesia superficiale con etile cloruro, si ferma il testicolo manualmente subito al di sotto della superficie scrotale e con manovra rapida e decisa si inserisce l'ago tra il terzo medio ed il terzo superiore dell'organo, aspirando ripetutamente fino ad osservare fuoriuscita di fluido tubulare. Estratto l'ago, si pratica emostasi con garza sterile; il materiale prelevato viene depositato e strisciato su due o più vetrini portaoggetto, precedentemente contrassegnati con il nome del paziente e la sede del prelievo. Prudenzialmente il paziente viene lasciato disteso per altri 10 minuti ed a riposo per l'intera giornata. Seppur raramente sono stati riportati casi di ematomi, ematoceli e/o segni flogistici locali, pertanto è consigliabile un tempestivo controllo ecografico nei pazienti sintomatici. Una volta strisciato, il materiale viene lasciato essiccare all'aria a temperatura ambiente per 24 ore e poi colorato con colorazione May-Grünwald-Giemsa (in caso di risposta necessaria in breve tempo è possibile effettuare fissazione rapida del preparato in acetone per 4-5 minuti e successiva immediata colorazione).

La lettura viene eseguita al microscopio ottico, inizialmente a piccolo ingrandimento (x 125), per individuare le zone con la più omogenea distribuzione e la miglior preservazione delle cellule, successivamente a medio ingrandimento (x 500) ed infine a maggior ingrandimento (x 1250) con obiettivo ad immersione.

L'individuazione dei vari tipi cellulari viene effettuata sulla base delle caratteristiche morfologiche, sia nucleari che citoplasmatiche, osservate a massimo ingrandimento; per ogni preparato devono essere contate almeno 200 cellule consecutive della serie spermatogenetica, che vanno distinte in spermatogoni, spermatociti primari e secondari, spermatidi rotondi ed allungati e spermatozoi, calcolando le relative percentuali.

La percentuale di spermatozoi, rispetto al totale delle cellule spermatogenetiche, viene espressa come indice spermatico (SI); la percentuale delle cellule di Sertoli (contate separatamente) rispetto al numero totale di cellule spermatogenetiche è definita, invece, indice sertoliano (SEI)⁴.

Valutazione qualitativa

La spermatogenesi è un processo complesso che richiede un'ordinata progressione attraverso replicazioni cellulari, mitotiche e meiotiche. Affinchè essa abbia inizio, è necessario che durante lo sviluppo embrionale e fetale una parte delle cellule si differenzino in direzione della linea germinale e che migrino a livello della futura gonade, dove rimarranno quiescenti fino alla pubertà. In questa fase, a seguito della stimolazione ormonale da parte delle gonadotropine sulle cellule di Leydig e del Sertoli, si attiva la spermatogenesi. Dopo le divisioni mitotiche spermatogoniali, gli spermatociti primari vanno incontro a divisione meiotica con formazione di spermatociti secondari; questi ultimi, al termine della meiosi, subiscono modificazioni morfologiche, attraverso un processo denominato spermiogenesi, trasformandosi in spermatidi rotondi, poi allungati ed, infine, in spermatozoi.

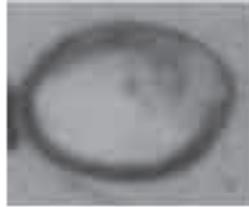
Sulla base delle caratteristiche morfologiche e tintoriali visibili all'esame microscopico dopo agoaspirazione testicolare, è possibile individuare in maniera precisa le caratteristiche delle varie cellule della spermatogenesi:

- **spermatogoni.** Nell'uomo, come nel ratto, sono stati identificati tre diversi tipi di spermatogoni, denominati A dark (Ad), A pale (Ap) e B^{4,5} (Fig.1).

Fig. 1



Spermatogonio A dark



Spermatogonio A pale



Spermatogonio B

Gli spermatogoni Ad rappresentano le cellule staminali che, in seguito a divisione mitotica, possono dare origine a nuove cellule staminali Ad o a spermatogoni più differenziati Ap. Dalla divisione mitotica di questi ultimi derivano gli spermatogoni B, che, infine, attraverso una successiva mitosi, danno luogo agli spermatociti primari. Gli spermatogoni presentano diametro medio di 15-18 μm , il loro citoplasma rotondeggiante, non chiaramente delineato, appare basofilo; il nucleo, voluminoso e più largo di quello delle cellule del Sertoli, presenta caratteristiche cromatiniche diverse a seconda del tipo di spermatogonio. Nello spermatogonio Ad la cromatina è intensamente colorata (violetto scuro in Giemsa) con un'area semilunare periferica, ancora più densa e colorata; lo spermatogonio Ap, invece, presenta cromatina pallidamente colorata, con un'area più intensamente colorata in periferia lungo il contorno nucleare; infine lo spermatogonio B possiede cromatina ancora ben colorata alla periferia del nucleo ma a zolle diffusamente colorate in regione centrale⁵.

- **spermatocita primario.** Presentano un diametro nucleare simile a quello spermatogoniale; citoplasma intensamente basofilo; nucleo di forma lievemente ovalare con un unico nucleolo in posizione eccentrica; cromatina intensamente colorata, di aspetto filamentoso o a zolle a seconda dei diversi stadi della profase meiotica.
- **spermatocita secondario.** Hanno un diametro medio di 13-14 μm , un citoplasma debolmente basofilo, il nucleo centrale più piccolo di quello degli spermatociti primari; cromatina finemente e uniformemente granulare (Fig. 2).

Fig. 2



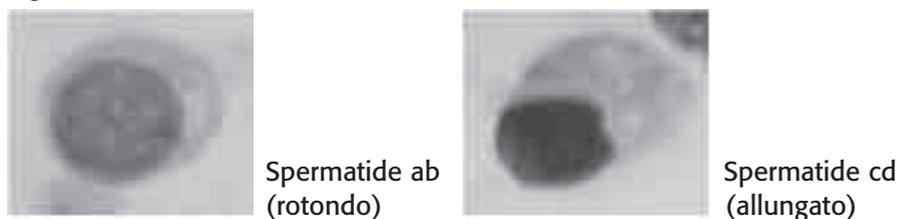
Spermatocita primario



Spermatocita secondario

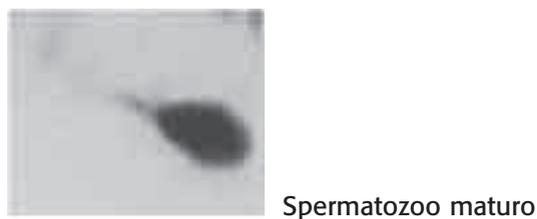
- **spermatidi.** Classicamente si distinguono 2 tipi di spermatidi: early spermatidi (Sab) spermatidi e late spermatidi (Scd). Gli spermatidi Sab hanno un nucleo solo in parte condensato, di forma rotondeggiante o irregolarmente triangolare, con cromatina finemente ed omogeneamente granulare, debolmente colorata. Il nucleo solitamente è in posizione centrale nel citoplasma, che appare debolmente basofilo. Negli spermatidi Scd la cromatina è omogeneamente condensata ed intensamente colorata; il nucleo assume una posizione eccentrica e si fa allungato e triangolare; il citoplasma appare più scuro e, nel corso del processo maturativo, una parte di esso si stacca e si va a localizzare a livello del middle-piece, mentre inizia ad evidenziarsi la coda (Fig. 3).

Fig. 3



- **spermatozoi.** Si caratterizzano per la completa formazione della coda e dell'acrosoma, che appare come un'areola pallidamente colorata disposta a cappuccio sulla testa dello spermatozoo, ormai dalla chiara forma allungata e con cromatina omogenea e ben colorata. Talora possono presentare piccoli residui citoplasmatici a livello del middle-piece od essere privi della coda come conseguenza dello striscio su vetrino, o essere immersi nel citoplasma di cellule del Sertoli prima del rilascio nel lume tubulare (Fig. 4).

Fig. 4



- **Cellula del Sertoli.** Essendo molto delicate vengono facilmente danneggiate durante lo striscio e possono apparire sprovviste di citoplasma. In realtà nelle cellule ben conservate, il nucleo appare rotondo o appena ovale, di aspetto finemente granulare per la presenza di cromatina disposta a zolle discretamente colorate. Quasi sempre è visibile un unico nucleolo in posizione eccentrica; il citoplasma è voluminoso, di forma triangolare o poligonale, spesso vacuolato e a contorni sfumati (Fig. 5).

Fig. 5



Valutazione quantitativa

Per ogni preparato devono essere contate almeno 200 cellule consecutive della serie spermatogenetica, che vanno distinte in spermatogoni, spermatociti primari e secondari, spermatidi rotondi ed allungati e spermatozoi, calcolando le relative percentuali, l'indice sertoliano (SEI) e l'indice spermatico (SI).

INTERPRETAZIONE CLINICA

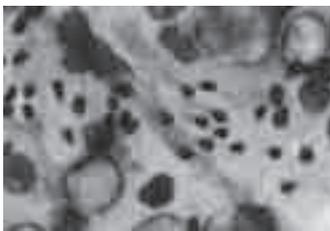
- Quadri citologici nelle normozoospermie.

Si caratterizzano per la presenza di tutte le cellule spermatogenetiche, con prevalenza delle forme più mature rispetto a quelle immature e alle cellule del Sertoli. In particolare le forme più rappresentate sono gli spermatidi Sab e Scd, in accordo con la progressione geometrica cui vanno incontro le cellule a partire dallo stadio di spermatogonio fino a quello di spermatide. Una simile progressione numerica non è presente da spermatociti primari e secondari, che presentano percentuali simili tra loro, a causa della breve durata (circa 24 ore) dello stadio di spermatocita secondario. La percentuale di spermatozoi non risulta superiore a quella degli spermatidi in conseguenza della mancanza di un'ulteriore divisione cellulare e della rapida esfoliazione degli spermatozoi nel lume tubulare e nelle vie escretrici. Normalmente le cellule del Sertoli rappresentano circa un terzo di tutte le cellule testicolari visualizzabili nei vetrini allestiti da agoaspirato e la loro percentuale è del 30-50% rispetto al totale delle cellule spermatogenetiche (SEI) (Tab.1 e Fig. 6).

Tabella 1: Medie e deviazioni standard relative alle percentuali dei vari tipi di cellule spermatogenetiche e degli indici spermatico e sertoliano in soggetti normozoospermici.

TIPO di CELLULA	MEDIA ± DS
Spermatogonio	2.5 ± 2.2
Spermatocita Primario	6.0 ± 3.6
Spermatocita Secondario	3.9 ± 2.3
Spermatide Sab	15.2 ± 5.8
Spermatide Scd	37.9 ± 12.9
Indice spermatico (SI)	34.8 ± 13.3
Indice sertoliano (SEI)	30 ± 19.5

Fig. 6



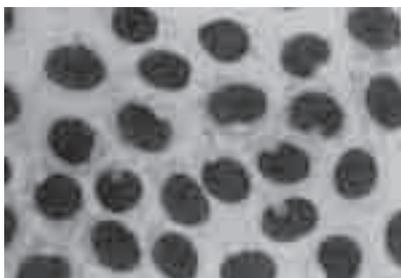
Quadro citologico normale/ostruttivo

- **Quadri citologici nelle azoospermie.**

L'esame citologico testicolare permette di distinguere in maniera certa le azoospermie di natura secretiva, da sindrome a sole cellule di Sertoli o da grave ipospermatogenesi o da arresti maturativi completi nella linea spermatogenetica, da quelle di natura escretoria, conseguenti ad ostruzione delle vie seminali.

Nei quadri di Sindrome a sole cellule di Sertoli mancano completamente gli elementi della linea germinale (Fig. 7).

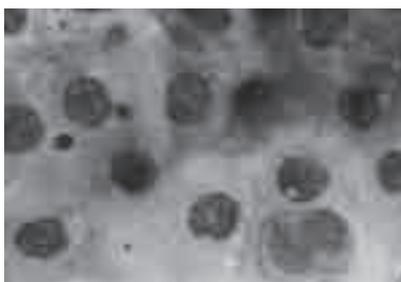
Fig. 7



Sindrome a sole cellule del Sertoli

Le gravi ipospermatogenesi sono caratterizzate dalla marcata riduzione della componente germinativa, con incremento dell'indice SEI e della percentuale di cellule del Sertoli (Fig. 8).

Fig. 8



Grave ipospermatogenesi

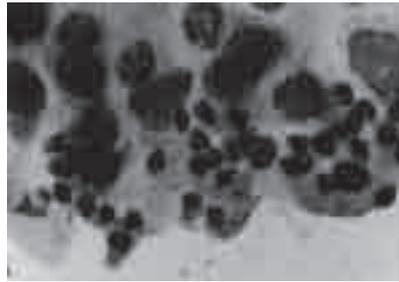
Spesso sono presenti importanti anomalie nella progressione maturativa spermatica e fenomeni di rallentamento maturativo, responsabili dell'aumento percentuale di spermatogoni e/o spermatociti primari e dell'assenza di forme mature di spermatozoi (SI=0).

Negli arresti maturativi viene conservato il normale rapporto tra cellule di Sertoli e cellule spermatogenetiche, ma sono presenti importanti disturbi maturativi con aumento della percentuale di spermatogoni e spermatociti primari e corrispondente decremento delle forme più a valle fino alla completa assenza di elementi maturi. Poiché il feed-back negativo sulla secrezione di FSH coinvolge solo le cellule spermatogenetiche più mature, i quadri di blocco maturativo precoce (a livello spermatogoniale-spermatocitico primario) si associano ad incremento dell'FSH, mentre quelli tardivi (a livello spermatocitico secondario-spermatidico) si accompagnano a normali livelli di gonadotropina (Fig. 9).

Fig. 9



Arresto spermatogoniale completo



Arresto spermatidico completo

Infine nelle azoospermie escretorie la citologia testicolare evidenzia un normale andamento maturativo germinale con presenza di tutte le cellule spermatogenetiche (Fig. 6) e frequente incremento percentuale delle forme mature, espresso dall'indice SI⁶.

- Quadri citologici nelle oligozoospermie.
Analogamente a quanto detto per le azoospermie, è possibile individuare quadri citologici caratterizzati da ipospermatogenesi e/o da blocchi maturativi parziali e quadri parzialmente ostruttivi (Fig. 10).

Fig. 10



Moderata ipospermatogenesi

Nelle ipospermatogenesi l'entità dell'incremento dell'indice SEI esprime il grado di alterazione e compromissione della componente spermatogenetica; è presente una difficoltosa progressione maturativa con prevalenza di elementi immaturi ed indice spermatico (SI) ridotto ma diverso da zero.

Nei blocchi maturativi è presente un incremento percentuale delle forme a monte del blocco, con riduzione, ma mai assenza, delle forme mature e frequente associazione con fenomeni cellulari di tipo degenerativo (elementi multinucleati o in fase di anomala divisione)⁶.

Tabella 2: Principali quadri citologici correlati ad alterazioni quantitative dei parametri seminali.

QUADRO SEMINALE	DIAGNOSI CITOLOGICA	QUADRO CITOLOGICO	QUADRO ORMONALE
AZOOSPERMIA	Quadro ostruttivo.	Normale linea maturativa germinale	FSH normale
	Sindrome a sole cellule del Sertoli Grave ipospermatogenesi	Assenza completa degli elementi germinali Marcata riduzione della componente germinativa, con incremento dell'indice SEI (>300) ed assenza di cellule spermatiche mature	FSH elevato FSH elevato
	Blocco maturativo completo a livello spermatogonale/ spermatocitico o spermatidico	Normale indice SEI, assenza completa di cellule mature ed incremento percentuale delle cellule spermatogeniche a monte del blocco (spermatogoni/ spermatociti o spermatociti/ spermatidi)	FSH elevato nei blocchi precoci; normale negli arresti maturativi tardivi (normale feed-back sull'ipofisi)
OLIGOZOOSPERMIE	Ipospermatogenesi lieve-moderata	Incremento dell'indice SEI (50-300) per riduzione della componente germinativa ed aumento relativo delle cellule di Sertoli; riduzione delle cellule spermatiche mature	FSH elevato
	Blocchi maturativi parziali a livello spermatogonale/ spermatocitico o spermatidico	Normale indice SEI, riduzione del numero di cellule mature ed incremento percentuale delle cellule spermatogeniche a monte del blocco (spermatogoni/ spermatociti o spermatociti/ spermatidi)	FSH elevato nei blocchi precoci; normale negli arresti maturativi tardivi (normale feed-back sull'ipofisi)

Bibliografia

1. Foresta C, Varotto A, Scandellari C. Assessment of testicular cytology by fine needle aspiration as a diagnostic parameter in the evaluation of the azoospermic subject. *Fertil Steril* 1992; 57: 858–865.
2. Foresta C, Ferlin A, Bettella A, Rossato M, Varotto A. Diagnostic and clinical features in azoospermia. *Clin Endocrinol* 1995; 43: 537–543.
3. Foresta C, Varotto A. Assessment of testicular cytology by fine needle aspiration as a diagnostic parameter in the evaluation of the oligospermic subject. *Fertil Steril* 1992; 58: 1028–1033.
4. Clermont Y. The cycle of the seminiferous epithelium in men. *Amer J Anat* 1963; 112: 35-51.
5. Clermont Y. Spermatogenesis in men. A study of the spermatogonial population. *Fertil Steril* 1966; 17: 705-721.
6. Shefi S, Kaplan K, Turek PJ. Analysis of spermatogenesis in non-obstructive azoospermic and virtually azoospermic men with known testicular pathology. *Reprod Biomed Online* 2009; 18(4): 460-464.

3. Cause genetiche di infertilità maschile

Il 10-15% dei casi di grave infertilità maschile riconosce una causa genetica, che può riguardare alterazioni cromosomiche o mutazioni di singoli geni¹ (Tabella 1).

Tabella 1

Aberrazioni cromosomiche (omogenee o mosaicismi)
1. Cromosomi sessuali <ul style="list-style-type: none">• 47, XXY (Sindrome di Klinefelter)• 47, XYY e altre aneuploidie YY• Maschi con cariotipo 46, XX e 45, X0• Aberrazioni strutturali del cromosoma Y<ul style="list-style-type: none">- Delezioni- Anelli- Isocromosomi- Inversioni- Traslocazioni
2. Autosomi <ul style="list-style-type: none">• Traslocazioni (Robertsoniane, reciproche)• Inversioni• Altre anomalie strutturali (inversioni, marker cromosomici extra satellite)• Sindromi cliniche<ul style="list-style-type: none">- Trisomia 21- Duplicazioni parziali e delezioni
3. Eteromorfismi cromosomici <ul style="list-style-type: none">• Inv⁹• Inversione familiare del cromosoma Y• Yq+• Aumentata/ridotta eterocromatina costitutiva pericentromerica• Satelliti aumentati di lunghezza o duplicati su cromosomi acrocentrici.
Mutazioni geniche
1. Legate al cromosoma Y <ul style="list-style-type: none">• Microdelezioni Yq11
2. Legate al cromosoma X <ul style="list-style-type: none">• Sindrome di Kallmann• Sindrome da insensibilità agli androgeni/malattia di Kennedy
3. Legate agli autosomi <ul style="list-style-type: none">• Sindromi genetiche complesse in cui l'infertilità è una manifestazione minore (come distrofia miotonia o deficit di 5-- reduttasi)• Infertilità come manifestazione maggiore<ul style="list-style-type: none">- CFTR- Geni per la subunità, di LH e FSH e geni per i recettori di LH e FSH
Alterazioni cromosomiche limitate agli spermatozoi
1. Testicolopatie primitive gravi
2. Post radio e/o chemioterapia

Come conseguenza diretta dell'alterazione genetica costitutiva o dell'alterato ambiente testicolare che ne deriva, i soggetti affetti da anomalie genetiche presentano un elevato numero di aneuploidie dei cromosomi spermatici². Normalmente la selezione naturale impedisce la trasmissione di mutazioni associate a sterilità, ma il ricorso a tecniche di riproduzione assistita permette di bypassare questo meccanismo protettivo, per cui l'individuazione di fattori genetici è diventata un momento fondamentale nella diagnostica e nella decisione terapeutica della coppia infertile³ (Tabella 2).

Tabella 2: Principali test genetici nel maschio infertile.

	Azoospermia	Grave oligozoospermia (conta spermatica <10x10 ⁶ /ml)	Moderata oligozoospermia (conta spermatica 10-20x10 ⁶ /ml o normozoospermia)
Cariotipo	Durante il percorso diagnostico Prima di ART	Durante il percorso diagnostico Prima di ART	Dopo 1 anno di rapporti sessuali non protetti Prima di ART
Microdelezioni del braccio lungo del cromosoma Y	Durante il percorso diagnostico (non ostruttivo) Prima di ART	Durante il percorso diagnostico Prima di ART	-
CFTR	Durante il percorso diagnostico (CBAVD) Prima di ART	Durante il percorso diagnostico (CUAVD) Prima di ART	-
KAL1	Durante il percorso diagnostico (HH)	-	-
Recettore androgenico	Suggerito: durante il percorso diagnostico (ASI alto)	Suggerito: durante il percorso diagnostico (ASI alto)	- -
5 α reduttasi 2	Suggerito: casi clinici selezionati	Suggerito: casi clinici selezionati	-
Analisi delle aneuploidie spermatiche mediante FISH	-	Non suggerito Eventualmente durante il percorso diagnostico Dopo radio o chemioterapia	-

ART: tecniche di riproduzione assistita; ASI: indice di sensibilità androgenica; CBAVD: assenza congenita bilaterale dei vasi deferenti; CUAVD: assenza congenita unilaterale dei vasi deferenti; HH: ipogonadismo ipogonadotropo.

Dal punto di vista genetico infatti le coppie candidate a tecniche di fecondazione assistita sono a più alto rischio rispetto alla popolazione generale e pertanto negli ultimi anni è diventata pratica comune offrire a tali coppie la possibilità di una diagnosi genetica ed un counselling genetico. Ciò non solo con l'obiettivo di arrivare ad una diagnosi più accurata dell'infertilità, ma anche di informare le coppie circa il loro rischio riproduttivo ed il rischio di trasmissione ai figli di anomalie genetiche. Oltre ai test genetici atti ad individuare le specifiche anomalie genetiche associate all'infertilità, un'anamnesi familiare positiva per specifiche malattie genetiche può suggerire l'esecuzione di test genetici specifici e una consulenza genetica.

La Tabella 3 riassume la prevalenza delle anomalie genetiche più comuni correlate all'infertilità maschile ed i fenotipi ad esse associati.

Tabella 3

ANOMALIE GENETICHE	FENOTIPO	PREVALENZA
Alterazioni cromosomiche	Da azoospermia a normozoospermia	2-10%
Sindr. di Klinefelter	Azoospermia-grave oligozoospermia	5-10% azoospermia 2-5% grave oligozoospermia
Altre alteraz. crom. sessuali	Da azoospermia a normozoospermia	0.1-0.2%
Traslocaz. Robertsoniane	Azoospermia-grave oligozoospermia	0.5-1%
Traslocazioni reciproche	Azoospermia- grave oligozoospermia	0.5-1%
Microdelezioni del cr. Y	Azoospermia-grave oligozoospermia	5-10%
AZFa	Azoospermia-SCOS	0.5-1%
AZFb	Azoospermia-arresto spermatogenesi	0.5-1%
AZFc	Azoospermia-grave oligozoospermia	3-7%
AZFb-c	SCOS-arresto spermatogenesi	0.5-1%
Delezioni parziali AZFc	Da azoospermia a normozoospermia	3-5%
Mutazioni geniche		
CFTR	Azoospermia ostruttiva	60-70% (5% in infertili)
AR	Azoospermia-oligozoospermia	2-3%
NSL3-RXFP2	Criptorchidismo	4-5%

Le anomalie genetiche che incidono con una certa prevalenza e che hanno impatto clinico sono rappresentate dalle alterazioni cromosomiche, dalle microdelezioni del braccio lungo del cromosoma Y e dalle mutazioni del gene della fibrosi cistica CFTR. Altre anomalie genetiche sono più rare o il loro ruolo nella patogenesi dell'infertilità non è ancora pienamente condiviso (mutazioni del gene KAL1 o altri geni responsabili di ipogonadismo ipogonadotropo, mutazioni del gene per il recettore degli androgeni, mutazioni del gene per la 5 α -reduttasi, mutazioni dei geni dell'LH e FSH, etc).

Tutte le anomalie genetiche vengono analizzate su leucociti prelevati da sangue periferico e vengono perciò definite come anomalie genetiche costitutive, presenti quindi anche nelle cellule germinali (spermatozoi e ovociti). Anomalie numeriche dei cromosomi spermatici (aneuploidie), analizzabili mediante FISH, possono essere presenti anche in soggetti infertili non da causa genetica. Tuttavia le difficoltà tecniche della metodica FISH, la mancanza di valori di riferimento universalmente accettati, la presenza di aneuploidie anche in soggetti fertili, la possibilità di poter eseguire l'analisi solo per un numero molto limitato di cromosomi e il numero a volte esiguo di spermatozoi da poter analizzare, non consentono allo stato attuale di considerare questo test di utilità clinica in tutti i casi di infertilità maschile o quale fattore prognostico per le tecniche di fecondazione assistita. Analogamente, allo stato attuale delle conoscenze non è proponibile uno studio della frammentazione del DNA degli spermatozoi quale indice prognostico di successo delle tecniche di fecondazione assistita, soprattutto per la mancanza di valori di normalità condivisi.

3.1 ANOMALIE CROMOSOMICHE

Le anomalie cromosomiche alla nascita nella popolazione generale hanno una prevalenza dello 0.5-0.7%. Le trisomie degli autonomi che si riscontrano più frequentemente nella popolazione generale (tri13, tri18, tri21) sono più frequentemente ereditate per via materna e sono legate soprattutto all'età materna, mentre le trisomie dei cromosomi sessuali (47,XXY, 47,XYY, 47,XXX) e le alterazioni strutturali sono ereditate soprattutto per via paterna. La prevalenza delle anomalie cromosomiche è più elevata negli uomini infertili ed è inversamente correlata alla conta spermatica. L'incidenza complessiva di un fattore cromosomico nell'infertilità maschile è il 2-8%, ma aumenta fino al 15% nei maschi azoospermici. In tali soggetti l'alterazione genetica più frequentemente coinvolge i cromosomi sessuali, come nella Sindrome di Klinefelter, che è l'anomalia cariotipica più comune, e nelle microdelezioni del cromosoma Y, che rappresentano l'alterazione non-cromosomica più frequente nei maschi infertili. Inoltre, le anomalie cromosomiche sono più frequenti nei partner maschili di coppie sottoposte a PMA, soprattutto ICSI (circa 2%).

Le alterazioni dei cromosomi sessuali sono l'anomalia maggiore nei soggetti azoospermici, ma nei pazienti infertili in generale si possono riscontrare anche diverse anomalie strutturali degli autosomi, che includono le traslocazioni Robertsoniane e reciproche, inversioni, duplicazioni e delezioni. È interessante notare che anche i soggetti infertili apparentemente normozoospermici possono presentare alterazioni cromosomiche, con un'incidenza varia in letteratura tra l'1 e il 3%, comprendente aneuploidie dei cromosomi sessuali (per esempio 47,XXY e mosaicismi) e anomalie strutturali bilanciate.

Alla luce di queste considerazioni e del fatto che alcune anomalie del cariotipo possono essere associate a normozoospermia, lo studio del cariotipo è fortemente consigliato in tutti i soggetti azoospermici o con grave oligozoospermia ed è un esame fondamentale in tutte le coppie che si sottopongono a tecniche di riproduzione assistita, anche in presenza di normali parametri seminali. In generale i bambini nati mediante IVF-ICSI hanno un più alto rischio di anomalie cromosomiche, soprattutto dei cromosomi sessuali, confermato anche dagli studi più recenti. Infatti diversi studi indicano una prevalenza del 1.4-4.3% (con una media del 3%) di anomalie cromosomiche nei nati da IVF-ICSI, con un'incidenza leggermente maggiore nei nati ICSI rispetto ai nati IVF.

Le linee guida internazionali non sono concordi nelle indicazioni all'analisi del cariotipo prima di

tecniche di PMA. Per quanto riguarda il partner maschile, alcune linee guida consigliano l'analisi del cariotipo solo in soggetti con azoospermia e grave oligozoospermia, mentre altre la suggeriscono in tutti i casi di fecondazione assistita (inclusa la IUI) anche nei soggetti normozoospermici. Le linee guida 2008 della legge 40 consigliano l'analisi del cariotipo in caso di ICSI da soggetti con azoospermia non ostruttiva o "deficit qualitativo grave del liquido seminale".

Per quanto riguarda il partner maschile, a nostro avviso l'analisi del cariotipo sarebbe utile in tutti i casi di PMA per fattore maschile (in cui peraltro tale analisi dovrebbe far parte dell'iter diagnostico pre-PMA). Tale analisi dovrebbe essere offerta anche ai soggetti apparentemente normozoospermici, data la possibilità che alterazioni cromosomiche "più lievi" (47,XXY, traslocazioni, etc.) non diano effetti visibili all'analisi del liquido seminale ma portino alla presenza di spermatozoi sbilanciati.

Sindrome di Klinefelter e mosaicismi

La Sindrome di Klinefelter, essendo presente nello 0.1-0.2% dei neonati maschi, è la più frequente aneuploidia dei cromosomi sessuali e presenta una prevalenza molto alta nella popolazione dei maschi infertili, variando dal 5% nei casi di grave oligozoospermia al 10% nei casi di azoospermia. L'anomalia cromosomica è caratterizzata dalla presenza di uno o più cromosomi X aggiuntivi; in particolare in circa l'80% dei casi si riscontra un cariotipo 47,XXY, nel rimanente 20% dei soggetti si rilevano aneuploidie di grado più elevato (48,XXXY, 48,XXYY, 49,XXXXY), mosaicismi (46, XY/ 47,XXY) o cromosomi X strutturalmente anomali. L'alterazione nel numero dei cromosomi può derivare da una mancata disgiunzione durante la divisione meiotica delle cellule germinali materne o paterne, o durante le prime divisioni mitotiche dello zigote. In tutti i soggetti si riscontra un danno testicolare primitivo, caratterizzato da ipotrofia testicolare ed elevati livelli di gonadotropine. Nei soggetti con mosaicismo 47,XXY/46,XY solitamente è possibile reperire un numero variabile di spermatozoi nell'eiaculato. I soggetti con cariotipo classico 47,XXY, invece, nella maggioranza dei casi (80-90%) presentano un quadro di azoospermia, ma in una certa percentuale di pazienti è possibile riscontrare spermatozoi nell'eiaculato o focolai di spermatogenesi residua all'interno di alcuni tubuli seminiferi. In virtù di tale evidenza, anche pazienti azoospermici affetti da Sindrome di Klinefelter attualmente vengono sottoposti a biopsia testicolare per eventuale recupero e crioconservazione degli spermatozoi da utilizzare mediante tecniche di fecondazione in vitro. I dati a tale proposito riportano la nascita di 54 figli normali da 122 pazienti (48 da spermatozoi prelevati a livello testicolare e 6 da spermatozoi presenti nell'eiaculato). Nonostante la maggior parte dei figli nati da soggetti affetti da S. di Klinefelter presenti un cariotipo normale, è necessario ricordare che tali pazienti hanno un elevato numero di aneuploidie dei cromosomi spermatici e, quindi, un alto rischio di ottenere una prole con anomalie cromosomiche o un più alto tasso di abortività⁴.

Altre aneuploidie dei cromosomi sessuali

Il cariotipo 47,XXY rappresenta la seconda aneuploidia più frequente associata ai cromosomi sessuali. La maggior parte degli studi effettuati utilizzando l'ibridazione in situ (FISH) su campioni spermatici di maschi 47,XXY ha evidenziato un moderato incremento delle aneuploidie dei cromosomi sessuali, ma non è stato dimostrato un aumento del rischio di aneuploidie nella prole di tali soggetti. Il cariotipo 47,XXY si può associare anche a quadri di normozoospermia o lieve oligozoospermia.

L'alterazione cromosomica 46,XX è stata riscontrata in soggetti fenotipicamente maschi sia SRY+ (azospermici per ipotrofia testicolare) che SRY- (in cui la formazione dei testicoli sarebbe garantita da un altro gene, autosomico o legato al cromosoma X, coinvolto nella determinazione del sesso), ma la sua incidenza nei maschi infertili è piuttosto bassa (0.1-0.2%).

Traslocazioni che coinvolgono i cromosomi sessuali

La frequenza delle traslocazioni tra il cromosoma Y ed i cromosomi autosomici nella popolazione generale è 1:2000, ma incrementa fino allo 0.2% nei soggetti oligozoospermici e allo 0,09% nel gruppo di soggetti sottoposti ad ICSI. I punti di rottura sul cromosoma Y si trovano prevalentemente nel braccio lungo (q) in corrispondenza della banda q11; in particolare nei maschi fertili il punto di rottura sul cromosoma Y è in corrispondenza della banda Yq12 (regione eterocromatica), mentre nei maschi infertili è situato nella regione eucromatica distale Yq11 in corrispondenza del locus genico del fattore azoospermico (AZF).

Il fenotipo o gli effetti sulla fertilità delle traslocazioni tra il cromosoma X ed i cromosomi autosomici variano a seconda del sesso, delle regioni di rottura e del pattern di inattivazione del cromosoma X. Generalmente le portatrici femmine restano fertili, anche se potrebbe essere descritti casi di disgenesia delle gonadi; nei maschi, invece, di solito si manifesta l'azoospermia.

Traslocazioni robertsoniane

Le traslocazioni robertsoniane rappresentano la più frequente anomalia cromosomica strutturale negli uomini e possono influenzare la fertilità, alterando il pattern genico degli spermatozoi a diversi stadi. Queste alterazioni cromosomiche si verificano quando due cromosomi acrocentrici (cromosomi 13-15, 21, 22) si fondono insieme. Si ottiene così un singolo cromosoma anomalo, generalmente dicentrico, che presenta i bracci lunghi dei due cromosomi originali, mentre perde i corrispondenti bracci corti. I portatori di una traslocazione bilanciata hanno solo 45 cromosomi. L'incidenza delle traslocazioni robertsoniane è di circa 1 su 1000 neonati. Le più comuni combinazioni si verificano tra i cromosomi 13 e 14 e tra i cromosomi 14 e 21. La traslocazione robertsoniana può verificarsi de novo in circa il 50% dei casi, oppure può essere trasmessa dalla madre o dal padre alla progenie. I portatori della traslocazione robertsoniana generalmente presentano un fenotipo normale, ma la traslocazione può influenzare la fertilità e/o il risultato della gravidanza, in seguito ad una errata gametogenesi e/o alla produzione di gameti con una combinazione non bilanciata dei riarrangiamenti parentali. I problemi riguardanti la fertilità nei portatori maschili di una traslocazione robertsoniana sono rappresentati da diversi tipi di difetti spermatogenici direttamente correlati con il processo meiotico. Nelle popolazioni di maschi sterili, lo 0,8% è rappresentato dai portatori di una traslocazione robertsoniana. Questa percentuale è 9 volte più alta rispetto a quella riscontrata nella popolazione generale.

Studi riguardanti il processo di segregazione in portatori di traslocazioni Robertsoniane hanno rilevato una predominanza di segregazione alternata, in cui è preponderante la produzione di spermatozoi normali/bilanciati, mentre la percentuale di spermatozoi non bilanciati oscilla tra il 3,4% e il 40% (media 14,57%). Inoltre, studi recenti hanno ipotizzato un effetto intercromosomico caratterizzato dalla presenza di spermatozoi aneuploidi non solo per i cromosomi coinvolti nella traslocazione, ma anche per altri cromosomi.

Traslocazioni reciproche

Una traslocazione reciproca è rappresentata da uno scambio di segmenti tra due cromosomi diversi. La frequenza delle traslocazioni reciproche è di 0,9 su 1000 neonati nella popolazione generale, ma l'incidenza aumenta nei neonati di coppie con storia di ripetuti aborti spontanei ed è 7 volte più elevata nella popolazione dei maschi infertili rispetto alla popolazione generale.

Inoltre, è stato dimostrato che la presenza delle traslocazioni altera il processo spermatoge-

nico: i portatori di traslocazioni reciproche presentano principalmente spermatozoi con alterazioni cromosomiche non bilanciate, mentre è più scarsa la presenza di spermatozoi normali o con alterazioni cromosomiche bilanciate. Il rapporto tra gli spermatozoi bilanciati e quelli non bilanciati dipende dalle caratteristiche di riorganizzazione e dal tipo di traslocazione, e varia enormemente (dal 23% all'81%). Quindi, è importante eseguire un'analisi dettagliata del comportamento meiotico di ciascuna particolare traslocazione, in modo da ottenere informazioni sufficienti per dare un adeguato counselling genetico.

3.2 MICRODELEZIONI DEL CROMOSOMA Y

Le microdelezioni del cromosoma Y (Yq) rappresentano la causa genetica più frequente dell'infertilità grave maschile, con una prevalenza del 10-15% tra i soggetti affetti da azoospermia non ostruttiva o grave oligozoospermia. L'incidenza maggiore si riscontra nelle azoospermie non ostruttive e nelle oligozoospermie gravi (<5 mil sperm/ml). Molto raramente si riscontrano microdelezioni nei soggetti con numero di spermatozoi > 5 mil sperm/ml e mai nei soggetti normozoospermici.

Tre regioni, note come "azoospermia factors" (AZFa, b, c), sono state individuate come loci della spermatogenesi; la funzione di tali geni nella spermatogenesi non è ancora ben definita e, di conseguenza, anche la conoscenza dei meccanismi molecolari che vengono alterati a seguito della delezione delle regioni AZF non è ancora completa. La maggior parte delle microdelezioni del cromosoma Y provoca la perdita simultanea di molti geni all'interno dei loci AZFb e AZFc; le delezioni riguardanti il locus AZFa sono meno frequenti ed interessano solo due geni, USP9Y e DBY. La maggior parte delle microdelezioni delle regioni AZF sono generate da ricombinazioni intracromosomiche omologhe tra blocchi di sequenze ripetute organizzati all'interno di strutture palindromiche.

Le delezioni riguardanti la regione AZFa di solito causano la sindrome a sole cellule di Sertoli, mentre la completa delezione del locus AZFb o dei loci AZFb e AZFc causa azoospermia associata alla sindrome a sole cellule di Sertoli, oppure l'arresto della spermatogenesi in fase premeiotica. La completa delezione del locus AZFc, delezione b2/b4, causa la perdita di 8 famiglie geniche, compresi tutti i membri della famiglia genica DAZ, che rappresenta il candidato più importante responsabile del fenotipo alterato AZFc.

Sono state identificate anche diverse delezioni parziali del locus AZFc (vedi oltre), come la delezione gr/gr, compreso anche il sottotipo g1/g2, in cui vengono delete 1,6 Mb, le delezioni b1/b3 e b2/b3 in cui vengono delete 1,8 Mb, ed altre meno frequenti. Le delezioni parziali della regione AZFc potrebbero rappresentare un fattore di rischio per un'alterata spermatogenesi anche se non esistono ancora dei dati⁵.

La più frequente delezione interessa la regione AZFc e causa azoospermia o grave oligozoospermia, associata a diversi fenotipi spermatogenetici nei testicoli. In generale, circa il 60% degli uomini affetti da queste patologie presentano spermatozoi nell'eiaculato o nei testicoli.

Non è ancora ben definito se il fenotipo causato da questi riarrangiamenti sia dovuto ad una perdita di tutti i geni coinvolti nella delezione, oppure alla perdita di un gene principale. Inoltre, la presenza di un fenotipo variabile, che oscilla tra l'oligozoospermia e l'azoospermia, in pazienti che apparentemente presentano microdelezioni identiche, permette di ipotizzare la presenza di alterazioni che coinvolgono altri geni in grado di modulare diversi backgrounds genetici, che, a volte, potrebbero bilanciare oppure incrementare gli effetti molecolari prodotti dalla perdita dei geni AZF. La maggior parte degli uomini con microdelezioni Yq necessita della ICSI (con spermatozoi del-

l'eiaculato o testicolari) per superare la infertilità. Poiché tutti gli spermatozoi degli uomini che presentano microdelezioni Yq hanno le stesse delezioni, la ICSI permette la trasmissione di queste microdelezioni. La prole maschile generata da uomini che presentano microdelezioni Yq erediterà la delezione e sarà soggetta ad alterazioni della spermatogenesi nella vita adulta. Poiché non esiste una stretta correlazione tra genotipo (tipo di microdelezione) e fenotipo (azoospermia o oligozoospermia grave) non è possibile dare indicazioni circa il fenotipo dei figli che ereditano la microdelezioni. La coppia va comunque informata della possibilità che il danno alla spermatogenesi causato dalla microdelezione sia progressivo nel tempo. Pertanto è consigliato eseguire uno spermogramma al figlio in età precoce (16-18 anni) per poter procedere con eventuale terapia medica o crioconservazione degli spermatozoi.

Esistono anche segnalazioni di un'aumentata incidenza di aneuploidie spermatiche nei pazienti con microdelezioni. I pazienti con delezioni delle regioni AZF hanno una riduzione significativa della percentuale di spermatozoi aventi il cromosoma Y rispetto a soggetti di controllo normozoospermici e un concomitante incremento degli spermatozoi nullisomici o disomici XY⁶. L'elevata frequenza di spermatozoi nullisomici anche in uomini con delezioni submicroscopiche del cromosoma Y permette di ipotizzare un'instabilità più generale del cromosoma Y che potrebbe essere più evidente nelle cellule germinali che in quelle somatiche. Inoltre, le microdelezioni delle regioni AZF possono essere considerate una "pre-mutazione" per una successiva perdita completa del cromosoma Y negli spermatozoi di pazienti deleti nei loci AZF, incrementando così il rischio dell'insorgenza di cellule embrionali XO.

Nonostante non siano presenti anomalie genitali o altri difetti somatici nella prole ICSI-AZF, i soggetti mutati dovrebbero comunque sottoporsi ad un'analisi genetica per controllare l'eventuale presenza di aneuploidie negli spermatozoi e per monitorare un possibile incremento del rischio di generare cellule embrionali 45,XO (se è presente uno spermatozoo nullisomico) o 47,XXY (se è presente uno spermatozoo disomico XY). La diagnosi pre-impianto e gli studi di follow-up a lungo termine dei figli concepiti mediante ICSI da uomini con microdelezioni del cromosoma Y sono necessari per verificare queste ipotesi.

Si consiglia di eseguire l'analisi delle microdelezioni dell'Y nei casi di ICSI da soggetti con azoospermia non ostruttiva e grave oligozoospermia (concentrazione spermatica <5-10 mil/ml), così come anche suggerito dalle linee guida internazionali e dalle linee guida 2008 della legge 40. Dal momento che solo molto raramente si riscontrano microdelezioni in soggetti con più di 5 milioni di spermatozoi/ml, non c'è indicazione assoluta ad eseguire l'analisi in questi soggetti.

3.3 MUTAZIONI GENICHE

Per il normale sviluppo sessuale, per la formazione e la discesa dei testicoli e per la spermatogenesi sono necessari centinaia di geni. Comunque, solo alcuni di essi hanno una certa rilevanza clinica di routine. Tra questi geni troviamo il gene CFTR, il gene che codifica per il recettore degli androgeni ed i geni INSL3-RXFP2.

Mutazioni del gene CFTR

Il gene CFTR (regolatore della conduttanza transmembrana nella fibrosi cistica) è mappato nella regione q31.2 del cromosoma umano 7. La fibrosi cistica è una delle malattie autosomiche recessive più comuni nella popolazione caucasica e si manifesta quando entrambi i geni CFTR sono mutati (malattia recessiva). Un individuo su 2500 ne è affetto e uno su 25

(4%) è portatore asintomatico eterozigote. Circa l'80% delle mutazioni osservate in pazienti affetti da fibrosi cistica (CF) è rappresentato dalla delezione di 3 paia di basi, che causa la perdita dell'aminoacido fenilalanina situato in posizione 508 nella proteina ($\Delta F508$). Tuttavia, per questo gene sono state descritte più di 1500 mutazioni.

L'infertilità causata da azoospermia ostruttiva è stata riscontrata in più del 95% degli uomini affetti da fibrosi cistica e si è ormai raggiunto un accordo comune nell'affermare che il 60-70% dei pazienti affetti da assenza bilaterale congenita dei vasi deferenti (CBAVD) presenta mutazioni nel gene CFTR, anche in assenza di altri sintomi clinici tipici della fibrosi cistica. Una particolare mutazione associata alla CBAVD è chiamata "allele 5T" (il normale allele ha 7T o 9T nucleotidi nell'introne 8), che causa la mancata trascrizione dell'esone 9 e bassi livelli di espressione della proteina CFTR. Anche l'agenesia monolaterale dei deferenti (CUAVD) può essere associata a mutazioni CFTR. Pertanto la manifestazione clinica dei soggetti con mutazioni del CFTR può essere sia azoospermia con CBAVD sia oligozoospermia o normozoospermia con CUAVD.

La prevalenza di mutazioni CFTR nei soggetti infertili non CUAVD/CBAVD è leggermente più elevato rispetto alla popolazione generale (6% vs 4%). Nelle donne infertili o in quelle sottoposte a PMA non è diversa dalla popolazione generale.

La frequenza delle mutazioni in eterozigosi del gene CFTR è circa due volte più elevata nei pazienti infertili rispetto alla popolazione generale⁷. I soggetti con mutazione sono dei buoni candidati per l'ICSI, effettuata utilizzando spermatozoi ottenuti dall'eiaculato, dai testicoli o dall'epididimo. In questi pazienti la spermatogenesi è normale e non è stato riscontrato un incremento di aneuploidie negli spermatozoi. A causa del rischio di insorgenza di fibrosi cistica nella prole di coppie in cui anche la partner femminile risultasse portatrice di un gene CFTR mutato, prima di ricorrere a tecniche di riproduzione assistita è consigliato una consulenza genetica ed uno screening approfondito nella partner per le mutazioni che interessano questo gene.

Il calcolo del rischio di generare un figlio con fibrosi cistica deve tenere in considerazione se uno o entrambi i partner hanno eseguito l'analisi ed il risultato di tale analisi. Esiste una diversità geografica nella prevalenza delle diverse mutazioni e il test analizza di routine solo le mutazioni più frequenti (20-40 mutazioni) con una sensibilità massima del 70-90%. Non tutti i laboratori eseguono di routine l'analisi dell'allele 5T. Esiste quindi una probabilità residua di essere portatore di una mutazione anche se il test risulta negativo. Per esempio il rischio residuo di essere eterozigote dopo un test standard che identifichi circa il 75% delle mutazioni è 1/100. Pertanto il rischio residuo di avere un figlio affetto da fibrosi cistica se è stato analizzato un partner e questo è risultato negativo è di 1:10.000 ($1/100 \times 1/25 \times 1/4$), mentre se sono stati analizzati entrambi i partner ed entrambi sono risultati negativi è 1:40.000 ($1/100 \times 1/100 \times 1/4$). Viceversa, il rischio se un solo partner è stato analizzato ed è risultato positivo è 1:100 ($1 \times 1/25 \times 1/4$), mentre se entrambi i partner sono stati analizzati ed uno solo è positivo: 1:400 ($1 \times 1/100 \times 1/4$). Il rischio di avere un figlio con fibrosi cistica se entrambi i partner sono eterozigoti: 1:4 ($1 \times 1 \times 1/4$).

Le linee guida internazionali non sono concordi su chi consigliare l'esecuzione del test CFTR prima di una PMA, se non nei casi di CUAVD/CBAVD. Le linee guida 2008 della legge 40 consigliano l'analisi nei casi di CUAVD/CBAVD solamente prima di una ICSI.

A nostro avviso una diagnosi di CUAVD/CBAVD o un'anamnesi familiare positiva per CF rappresentano un'indicazione assoluta all'esecuzione del test, indipendentemente dal tipo di PMA (IUI-FIVET-ICSI). In questi casi, vista l'alta incidenza di mutazioni in queste situazioni, è consigliata l'analisi anche nella partner. Una azoospermia ostruttiva o l'infertilità maschile non da assenza dei deferenti sono indicazione relativa, visto il moderato incremento di prevalenza delle mutazioni in questi casi rispetto alla popolazione generale. Nei casi di PMA per fattore femminile non c'è indi-

cazione assoluta dal momento che la prevalenza delle mutazioni non è diversa dalla popolazione generale. Tuttavia, considerando che il test ha una sensibilità bassa (70-90% nei casi migliori), ma che la CF è una patologia comunque frequente e con alti costi sociali, dopo aver informato la coppia sulla possibilità di eseguire il test, è a discrezione della coppia decidere se eseguirlo. Tale atteggiamento (suggerimento di eseguire il test in entrambi i partners) è consigliato comunque anche in caso di ricerca di una gravidanza indipendentemente da una PMA. In generale, se un partner risulta portatore di una mutazione, l'altro dovrebbe essere studiato per un numero maggiore di mutazioni per aumentare la sensibilità del metodo.

Mutazioni del gene del recettore degli androgeni (AR)

Gli androgeni ed il loro recettore (AR) sono essenziali per lo sviluppo ed il mantenimento del fenotipo maschile e della spermatogenesi. Il recettore degli androgeni è codificato da un gene sul cromosoma X, composto da 8 esoni. Le mutazioni in corrispondenza del gene che codifica per AR causano diverse alterazioni, denominate collettivamente con il termine di sindrome da insensibilità agli androgeni (AIS). I pazienti affetti dalla forma completa di resistenza agli androgeni (Sindrome di femminilizzazione testicolare o sindrome di Morris) presentano un quadro di pseudoermafroditismo maschile, con cariotipo 46XY, ma fenotipo completamente femminile ed assenza completa dei peli; i soggetti con mutazione parziale del gene AR (MAIS: mild androgen insensitivity syndrome) manifestano infertilità come primo o addirittura unico sintomo.

Il sospetto di mutazione parziale del gene AR nasce in presenza di maschi infertili con livelli elevati di testosterone ed LH, ma non esistono ancora dei valori ormonali o dei dati clinici ben definiti che potrebbero essere utilizzati per selezionare i pazienti con un rischio elevato di presentare le mutazioni⁸. Infatti, in alcuni casi i sintomi dell'insensibilità agli androgeni sono poco manifesti e, inoltre, la maggior parte degli uomini con alterazioni in corrispondenza del gene codificante per AR non presentano sintomi diversi da quelli manifestati dalla più estesa popolazione dei maschi infertili. In generale, mutazioni del gene AR si riscontrano nel 2-3% dei soggetti con azoo-oligozoospermia.

Mutazioni dei geni INSL3-RXFP2

L'insulin-like factor 3 (INSL3) è un membro della famiglia degli ormoni simili alla relaxina prodotto dalle cellule di Leydig. Gli studi su INSL3 negli uomini sono stati approfonditi solo negli ultimi anni, in seguito all'individuazione, nei roditori, di un ruolo di questo peptide nella fase transaddominale della discesa dei testicoli, attraverso l'azione sul gubernaculum. Un ulteriore stimolo per approfondire questo filone di ricerca è stato fornito anche dalla scoperta del recettore di INSL3, RXFP2. Il gene codificante per INSL3 è composto da due esoni.

Le mutazioni dei geni INSL3 e RXFP2 si associano a criptorchidismo. La prevalenza di mutazioni in corrispondenza di questi due geni è di circa il 4-5% negli uomini con criptorchidismo o ex-criptorchidismo, soprattutto nei casi di criptorchidismo bilaterale che non presenta una discesa spontanea dei testicoli nei primi mesi dopo la nascita (biblio nostro lavoro JAMA). Alcune di queste mutazioni sono, in realtà, dei comuni polimorfismi che, infatti, sono stati riscontrati con una frequenza simile nei pazienti e nei controlli, mentre sette di queste mutazioni si riscontrano esclusivamente in soggetti che presentano un'alterata discesa dei testicoli (P49S, R73X, P93L, R102C, R102H, N110K in INSL3 e T222P in RXFP2). Tutte le mutazioni sono in eterozigosi e non sono mai stati riscontrati casi di pazienti con due alleli mutati oppure con mutazioni contemporanee sia nel gene che codifica per INSL3 sia in quello che codifica per RXFP2.

Inoltre, l'individuazione di elevati livelli di INSL3 circolante anche nei maschi adulti e dell'espressione di RXFP2 in molti altri tessuti oltre a quello testicolare hanno posto un nuovo quesito sul ruolo endocrino di questo ormone. Studi recenti hanno evidenziato che, oltre a causare la discesa dei testicoli durante lo sviluppo embrionale, INSL3 è coinvolto anche in altre vie di signaling endocrino e paracrino nei maschi adulti⁹. In particolare è stato dimostrato che ridotti livelli di INSL-3 sono un marker specifico di danno delle cellule di Leydig, anche in assenza di compromissione della loro azione steroidosintetica¹⁰; inoltre il sistema INSL-3/RXFP2 svolge un ruolo chiave nel metabolismo osseo, poiché mutazioni di questi geni si associano ad osteoporosi maschile¹¹.

Bibliografia

1. Ferlin A, Arredi B, Foresta C. Genetic causes of male infertility. *Reprod Toxicol.* 2006; 22(2): 133-141.
2. Foresta C, Garolla A, Bartoloni L, Bettella A, Ferlin A. Genetic abnormalities among severely oligospermic men who are candidates for intracytoplasmic sperm injection. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005; 90:152-156.
3. Foresta C, Ferlin A, Gianaroli L, Dallapiccola B. Guidelines for the appropriate use of genetic tests in infertile couples. *Eur J Hum Genet.* 2002; 10: 303-312.
4. Ferlin A, Garolla A, Foresta C. Chromosome abnormalities in sperm of individuals with constitutional sex chromosomal abnormalities. *Cytogenet Genome Res.* 2005; 111: 310-316.
5. Ferlin A, Tessari A, Ganz F, Marchina E, Barlati S, Garolla A, Engl B, Foresta C. Association of partial AZFc region deletions with spermatogenic impairment and male infertility. *J Med Genet.* 2005; 42: 209-213.
6. Ferlin A, Arredi B, Speltra E, Cazzadore C, Selice R, Garolla A, Lenzi A, Foresta C. Molecular and clinical characterization of Y chromosome microdeletions in infertile men: a ten year experience in Italy. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007; 92(3): 762-770.
7. Schulz S, Jakubiczka S, Kropf S, Nickel I, Muschke P, Kleinstein J. Increased frequency of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene mutations in infertile males. *Fertil Steril.* 2006; 85: 135-138.
8. Ferlin A, Vinanzi C, Garolla A, Selice R, Zuccarello D, Cazzadore C, Foresta C. Male infertility and androgen receptor gene mutations: clinical features and identification of seven novel mutations. *Clin Endocrinol.* 2006; 65: 606-610.
9. Foresta C, Bettella A, Vinanzi C, Dabril P, Meriggiola MC, Garolla A, Ferlin A. A novel circulating hormone of testis origin in humans. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004; 89: 5952-5958.
10. Foresta C, Di Mambro A, Pagano C, Garolla A, Vettor R, Ferlin A. Insulin-like factor 3 as a marker of testicular function in obese men. *Clin Endocrinol.* 2009 (in press).
11. Ferlin A, Pepe A, Gianesello L, Garolla A, Feng S, Giannini S, Zaccolo M, Faccioli A, Morello R, Agoulnik AI, Foresta C. Mutations in the insulin-like factor 3 receptor are associated with osteoporosis. *J Bone Miner Res.* 2008; 23(5): 683-693.

4. Quadri seminali

4.1 AZOOSPERMIA

L'assenza di spermatozoi nel liquido seminale o azoospermia si riscontra a seconda delle casistiche nel 2 fino al 25% degli uomini sottoposti ad esame seminologico per infertilità ed è indicativa di una profonda compromissione della produzione (azoospermia secretoria o non-ostruttiva) e/o della emissione degli spermatozoi (azoospermia ostruttiva). A seconda del meccanismo eziopatogenetico le azoospermie possono ricondursi ad anomalie ipotalamo-ipofisarie (cause pre-testicolari), a disordini primitivi testicolari, o ad alterazioni per lo più di tipo ostruttivo, congenite o acquisite, delle vie spermatiche (cause post-testicolari) (Tabella 1)¹.

Tabella 1: Cause di azoospermia

A. DA ALTERAZIONI TESTICOLARI SECONDARIE (CAUSE PRE-TESTICOLARI)

1. Ipogonadismo ipogonadotropo congenito associato ad anosmia (S. Kallmann, e varianti)
2. Ipogonadismo ipogonadotropo acquisito (m. infiltrative, malnutrizione, m. sistemiche)
3. Ipogonadismo ipogonadotropo idiopatico
4. Tumori ipofisari/iperprolattinemia
5. Emocromatosi
6. Ipofisite autoimmune
7. Soppressione delle gonadotropine da ormoni esogeni (androgeni, estrogeni, glucocorticoidi) endogeni (tumori secernenti, iperplasia surrenale congenita) o farmaci (spiro-lattone, digossina).
8. Malattie sistemiche, denutrizione

B. DA ALTERAZIONI TESTICOLARI PRIMITIVE

- ad interessamento globale del testicolo

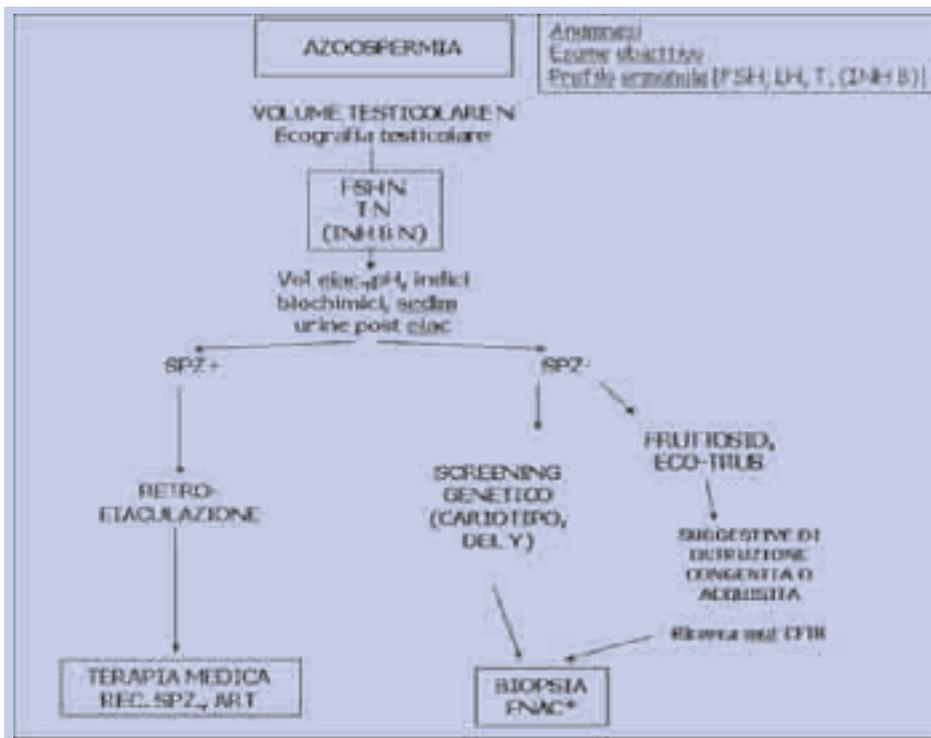
1. Forme congenite:
 - criptorchidismo
 - anorchia bilaterale
 - da aberrazioni cromosomiche (S. di Klinefelter e sue varianti)
 - s. del maschio XX
 - s. di Noonan
 - s. di Steinert

- 2. Forme acquisite
 - castrazione
 - torsione del testicolo
- ad interessamento prevalentemente interstiziale
 - aplasia delle cellule di Leydig (mutazione del recettore LH/hCG)
 - deficit enzimatici della steroidogenesi
 - mancata azione degli androgeni per mutazione del recettore degli androgeni (S. da insensibilità agli androgeni) o per resistenza all'azione degli androgeni (deficit 5- α -reduttasi)
- ad interessamento prevalentemente tubulare
 1. Forme congenite:
 - microdelezione del cromosoma Y
 - aplasia delle cellule germinali (S. a sole cellule del Sertoli o di Del Castillo)
 - degenerazione tubulare idiopatica
 2. Forme acquisite:
 - infezioni (orchite postparotitica)
 - radiazioni
 - chemioterapici, sostanze chimiche tossiche
 - autoimmunità (orchite autoimmune)
- C. DA CAUSE POST-TESTICOLARI (DEFICIT ESCRETORI)
 - ostruzione degli epididimi
 - Congenite
 - Acquisite
 - ostruzione dei vasi deferenti
 - Congenite (Mutazioni CFTR)
 - Acquisite
 - ostruzioni dei dotti eiaculatori
 - Congenite
 - Acquisite
 - eiaculazione retrograda

Ai fini clinici e prognostici è fondamentale differenziare le forme ostruttive dalle non-ostruttive. A questo scopo sono utili sia i dati anamnestico-clinici e seminologici che lo studio ormonale di base, comprendente il dosaggio dei livelli di FSH, LH, inibina B e testosterone (T). La storia riproduttiva precedente, i precedenti chirurgici e le infezioni soprattutto nella regione genitale, le malattie neoplastiche o non dell'età infantile o adolescenziale trattate con chemio o radioterapia, vanno valutati con attenzione. L'esame clinico deve essere eseguito con particolare cura per quanto riguarda il rilievo dei caratteri sessuali secondari, la conformazione del pene e la valutazione del volume testicolare. Quest'ultimo, determinato per confronto con l'orchidometro di Prader o con misurazione ecografica diretta dei diametri, è un eccellente indicatore della componente dei tubuli seminiferi. Un testicolo piccolo e di consistenza aumentata può associarsi ad un'importante compromissione tubulare (assenza di cellule germinali e scleroalinosi) come nella sindrome di Klinefelter, mentre una consistenza ridotta può aversi nell'ipogonadismo ipogonadotropo e nella sindrome a sole cellule del Sertoli. Soggetti con azoospermia e normale volume testicolare possono avere una forma ostruttiva o secretiva. La determinazione dei livelli di FSH ed inibina B è di aiuto nell'indirizzare la diagnosi. In oltre il 90% dei soggetti con azoospermia ostruttiva il livello di FSH è normale o basso (inferiore a 7 mUI/mL), mentre in oltre il 70% dei casi con anomalie

secretorie l'FSH è aumentato²⁻⁸. Pertanto il riscontro di normale volume testicolare ed FSH plasmatico orienta l'iter diagnostico verso forme ostruttive (vedi Fig.1).

Fig.1

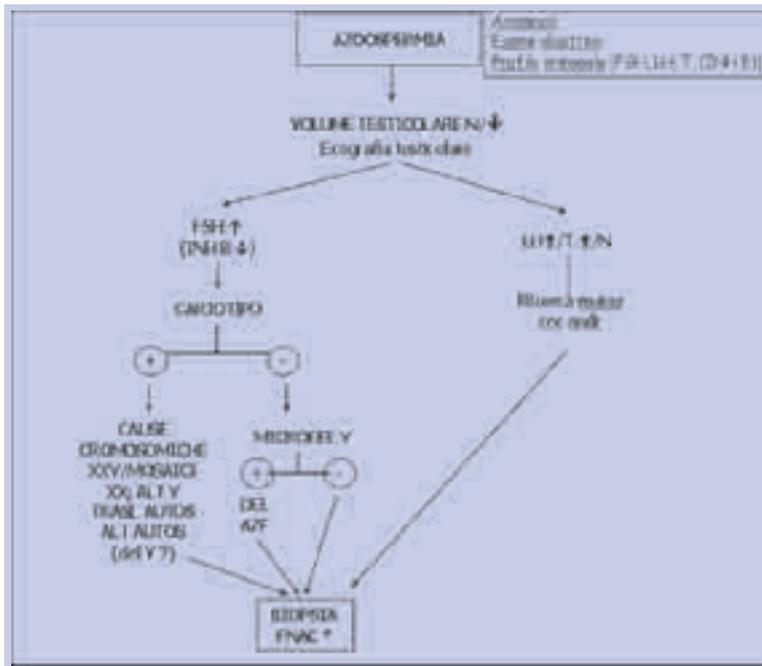


I dati seminologici più importanti nella valutazione dell'azoospermia sono il volume dell'eiaculato, il pH, la capacità di coagulare e di liquefarsi, la presenza o l'assenza di elementi spermatici maturi o immaturi anche nel centrifugato, l'esame biochimico del plasma seminale. Un basso volume con un pH acido è tipico dell'assenza congenita dei vasi deferenti e dell'ostruzione dei dotti eiaculatori, ma può anche essere presente nei casi di eiaculazione retrograda. È necessario ricercare la presenza di spermatozoi nel sedimento delle urine raccolte dopo l'eiaculazione per la diagnosi di eiaculazione retrograda. L'assenza di spermatozoi anche nel sedimento delle urine post-eiaculazione orienta verso una probabile ostruzione e giustifica la valutazione biochimica del plasma seminale. I dosaggi di alcuni composti chimici presenti nel plasma seminale vengono utilizzati in varia combinazione per caratterizzare le forme ostruttive, ma nella pratica è sufficiente la valutazione del fruttosio, considerato un marker delle vescicole seminali, in combinazione con l'ecografia transrettale (TRUS) per identificare le azoospermie associate ad ostruzione acquisita o ad agenesia dei deferenti (CAV). In questi casi è giustificata l'analisi del gene della fibrosi cistica (CFTR). Tra le diverse tecniche di diagnostica per immagini che permettono lo studio morfologico dell'apparato riproduttivo maschile, l'ecografia, oltre ad essere utile nella valutazione del testicolo, permette di confermare la presenza di cisti o altre anomalie epididimarie, prostatiche o dei dotti eiaculatori. Meno utilizzata nella routine, anche perchè non scevra da complicanze, è la deferentovesiculografia, tecnica utile nella diagnostica delle alterazioni deferenziali e, combinata alla tecnica detta di "seminal tract washout" (STW), nell'identificazione delle forme subocclusive e delle alterazioni funzionali distali. Infine negli uomini infertili affetti da azoospermia va sempre raccomandata l'esecuzione di un ago-

spiro testicolare, perché tale procedura, minimamente invasiva, permette di valutare la struttura istologica del testicolo e lo stato della spermatogenesi²⁻⁵, differenziando le condizioni di sindrome a sole cellule del Sertoli, le ipospermatogenesi, gli arresti spermatogoniali, quelli spermatidici ed i quadri di normale spermatogenesi¹⁰. In caso di azoospermia ostruttiva l'esame citologico testicolare evidenzierà una normale linea maturativa spermatica, permettendo di organizzare il recupero degli spermatozoi tramite aspirazione epididimale o biopsia testicolare e la successiva crioconservazione delle cellule prelevate. Sebbene il volume testicolare e l'FSH normali siano solitamente presenti nelle forme ostruttive, essi non sono predittivi di successo nel recupero di spermatozoi dal testicolo o dall'epididimo. La determinazione dei livelli di inibina B sembra offrire qualche vantaggio, in quanto tassi normali o dosabili di inibina B hanno un valore predittivo migliore rispetto al livello dell'FSH in relazione alla presenza di spermatozoi e/o cellule germinali in maturazione e giustificano il ricorso alla biopsia testicolare sia a fini diagnostici che terapeutici (prelievo di gameti)⁵⁻⁸.

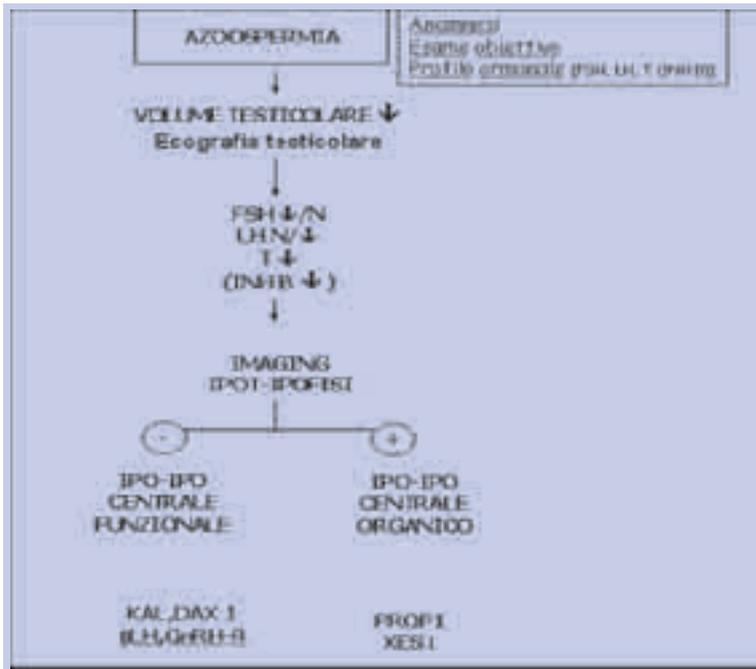
Il dosaggio delle gonadotropine e del testosterone è utile negli uomini con azoospermia, volume testicolare ridotto e segni di deficit degli androgeni per distinguere l'ipogonadismo primario dal secondario. L'aumento dell'FSH indica sempre un danno importante a livello del tubulo come dimostrato dagli studi quantitativi delle biopsie testicolari^{3, 4}. Il riscontro di una elevazione dell'FSH plasmatico superiore a 3 volte il limite superiore normale e di livelli bassi di inibina B è un indice di danno severo della spermatogenesi e porta a sconsigliare la biopsia, anche se alcuni studi hanno evidenziato una spermatogenesi molto limitata in soggetti con FSH alto^{5, 6} (vedi Fig.2).

Fig. 2



La presenza di segni clinici di ipoandrogenismo, riduzione del volume testicolare e dell'eiaculato, bassi livelli plasmatici di entrambe le gonadotropine e del T o del solo FSH sono indicativi di una condizione di ipogonadismo ipogonadotropo^{14, 15} (vedi Fig. 3).

Fig. 3



Pur essendo una rara causa di sterilità maschile (circa l'1% dei casi) l'ipogonadismo ipogonadotropo rappresenta una condizione che può essere curata con successo. Il deficit di gonadotropine può manifestarsi come ritardo della pubertà, nei casi congeniti associati o meno ad anosmia, oppure con regressione dei caratteri sessuali, deficit erettivo ed azoospermia nei casi ad insorgenza postpuberale, conseguenti a patologie della regione ipotalamo-ipofisaria. Talora il deficit secretorio delle gonadotropine può essere dovuto ad una iperprolattinemia organica o funzionale, ad un eccesso di steroidi endogeni (tumori steroideo-secerenti, iperplasia surrenale congenita non trattata) o esogeni (ad es. steroidi anabolizzanti), o di altre sostanze che interferiscono con l'azione ormonale. In queste condizioni si potranno avere variamente associati all'azoospermia i segni dell'iperprolattinemia, dell'iperestrogenismo (ginecomastia), della carenza di cortisolo o dell'eccesso di metaboliti surrenalici e di ACTH (ipo/ipertensione, melanodermia, alterazioni elettrolitiche). In ogni caso accanto all'approfondimento diagnostico di tipo endocrinologico è indispensabile effettuare uno studio morfologico della regione ipotalamo-ipofisaria per identificare o escludere patologie organiche centrali. I casi di ipogonadismo ipogonadotropo idiopatico andrebbero testati per identificare le forme dovute a mutazioni di geni coinvolti nella regolazione della secrezione delle gonadotropine (KAL, DAX-1, LH, GnRH-R). Uno studio molecolare dei geni regolatori della morfogenesi ipofisaria come PROP1 e XES1 è giustificato nei casi di ipogonadismo associato a deficit ipofisari multipli^{14, 15}.

Infine nei soggetti con azoospermia trovano indicazione anche la determinazione del cariotipo e l'analisi delle microdelezioni Yq. La più frequente alterazione dei cromosomi sessuali è la sindrome di Klinefelter (che ha una prevalenza di 1: 600 nati vivi), caratterizzata da cariotipo 47XXY, azoospermia ed atrofia testicolare. Meno frequenti, ma possibili, sono altre anomalie dei gonosomi (maschio XX, anomalie strutturali del cromosoma Y) o degli autosomi. In presenza di un esame del cariotipo normale è giustificata l'analisi del cromosoma Y con tecniche molecolari per identificare eventuali microdelezioni^{9, 11}. Solo nei casi in cui i livelli di LH e di T risultassero ele-

vati potrebbe essere giustificata un'analisi molecolare del gene del recettore degli androgeni, che può in alcuni casi associarsi ad infertilità con modesta o nulla compromissione della virilizzazione^{12, 13}.

Bibliografia

1. Baker HWG. Male infertility. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 1994; 23: 783.
2. Richard A, Schoor R.A., Elhambly S. et al. The role of testicular biopsy in the modern management of the male infertility. *J. Urol.* 2002; 167: 197.
3. de Kretser M., Burger H.G., Hudson B. The relationship between germinal cells and serum FSH in men with infertility. *J Clin Endocrinol Metab.* 1974; 37: 787.
4. de Kretser, Baker HWG. Human Infertility: the male factor. In: *Reproductive endocrinology, surgery, and technology*, Adashi E.Y., Rock J.A., Rosenwaks Z. (Eds). Lippincott-Raven, Philadelphia-New York 1996, p.2031.
5. Hauser R., Temple-Smith P. D., Southwick GJ., de Kretser D. Fertility in cases of hypergonadotropic azoospermia. *Fertil. Steril.* 1995; 63: 631.
6. Brugo-Olmedo S, De Vincentiis S, Calamera JC, et al. Serum inhibin B may be a reliable marker of the presence of testicular spermatozoa in patients with nonobstructive azoospermia. *Fertil Steril.* 2001; 76(6): 1124-1129.
7. Jensen TK, Andersson AM, Hjollund NH, et al. Inhibin B as a serum marker of spermatogenesis: correlation to differences in sperm concentration and follicle-stimulating hormone levels. A study of 349 Danish men. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1997; 82(12): 4059-4063.
8. Anawalt BA, Bebb R.A., Matsumoto AM, et al. Serum inhibin B levels reflect Sertoli cell function in normal men and men with testicular dysfunction. *J Clin Endocrinol Metab.* 1996; 81: 3341.
9. Krausz C, Rajpert-de Meyts EW, Frydelund-Larsen L. et al. Double-blind microdeletion analysis in men with known sperm aperm parameters and reproductive profiles: microdeletions are specific for spermatogenesis failure. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001; 86: 2638.
10. Foresta C, Varotto A. Assessment of testicular cytology by fine needle aspiration as a diagnostic parameter in the evaluation of the oligospermic subject. *Fertil Steril.* 1992; 28: 1028.
11. Foresta C, Moro E, Ferlin A. Y chromosome microdeletions and alterations of spermatogenesis. *Endocrine Rev* 2001; 22: 226.
12. Layman LC. Genetic causes of human infertility. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2003; 32: 549.
13. Casella R, Maduro MR, Lipshultz LI, Lamb DJ. Significance of the polyglutamine tract polymorphism in the androgen receptor. *Urology* 2001; 58: 651.
14. Santen R.J. Male Hypogonadism. In : *Reproductive Endocrinology*, Yen S.S.C., Jaffe, R.B (Eds).Saunders W.B., Philadelphia-Tokio 1991, p. 739.
15. Spratt DI, Carr DB, Merriam GR, Scully RE, Rao PN, Crowley WF Jr.. The spectrum of abnormal patterns of gonadotropin-releasing hormone secretion in men with idiopathic hypogonadotropic hypogonadism: clinical and laboratory correlations. *J Clin Endocrinol Metab.* 1987; 64: 283.

4.2 OLIGOZOOSPERMIA SEVERA

Con il termine di "Oligozoospermia Severa" viene comunemente indicata una grave riduzione del numero di spermatozoi nell'eiaculato (<5 milioni/ml). Sebbene la terminologia si riferisca solo all'anomalia numerica, nella quasi totalità dei casi sono presenti anche alterazioni della motilità e della morfologia degli spermatozoi (astenoteratozoospermia). Il sintomo di "oligozoospermia" può essere legato a patologie pre-testicolari, testicolari o post-testicolari. In circa il 40-50% dei casi, in seguito ad un inquadramento diagnostico dettagliato, può essere definita la causa dell'oligozoospermia. L'anamnesi, l'esame obiettivo, l'esame del liquido seminale ed il dosaggio dell'FSH rappresentano i punti cardine dell'inquadramento diagnostico. Sulla base delle informazioni così ottenute, ulteriori esami selezionati ed eseguiti in modo sequenziale, porteranno alla diagnosi definitiva (infertilità da causa nota o forme idiopatiche).

L'anamnesi

Il paziente deve essere interrogato su eventuali cambiamenti riguardo alla sua libido, il volume dell'eiaculato, la frequenza della rasatura della barba nonché sulle abitudini sessuali della coppia, in particolare la frequenza dei rapporti e l'eventuale presenza di turbe della vis.

La raccolta anamnestica dovrebbe comprendere dati concernenti eventuali malattie sistemiche, uso di farmaci, abuso di alcool, sigarette e steroidi anabolizzanti, esposizione a sostanze tossiche nell'ambiente di lavoro, pregressa chemio/radio terapia, pregressi traumi testicolari, orchite (con particolare riguardo all'orchite post-parotitica), criptorchidismo, interventi chirurgici per varicocele o per ernia inguinale. Casi di infertilità, malformazioni o aborti ricorrenti in famiglia indicano una possibile eziologia genetica.

L'esame obiettivo

A parte l'esame standard, la visita andrologica comprende la palpazione scrotale con la misurazione del volume testicolare con l'orchidometro di Prader, la palpazione del pene e l'esplorazione rettale per la valutazione della prostata. La determinazione del volume testicolare è particolarmente importante dato che l'80-85% della massa testicolare è costituita dai tubuli seminiferi. Un volume testicolare inferiore alla norma (<15ml) è indice di una riduzione della quantità di tubuli seminiferi, quindi di un danno testicolare. L'habitus eunocoide, i genitali infantili, la scarsa rappresentazione del sistema pilifero, la ginecomastia e il basso volume testicolare con ipo/anosmia sono indicativi della forma congenita di ipogonadismo ipogonadotropo (sdr. di Kallmann) ma tale patologia di regola si associa ad azoospermia. L'habitus eunocoide (con o senza ginecomastia) con testicoli estremamente piccoli (2-4 ml) e di consistenza dura è caratteristico della sdr. di Klinefelter la quale anche nella sua forma classica (47, XXY) può manifestarsi con un quadro di oligozoospermia severa ma con <1 milione di spermatozoi /ml^{1,2}.

L'esame del liquido seminale

L'esame del liquido seminale dovrebbe essere eseguito secondo i criteri dell'OMS³. In presenza di risultati anomali, l'analisi del liquido seminale deve essere ripetuta a distanza di tempo di circa 12 settimane (la spermatogenesi si completa nell'arco di circa 3 mesi). La ripetizione dell'esame è legata soprattutto alla grande variabilità intrapersonale dei parametri seminali nel tempo. Fattori pre-analitici come ad esempio l'assunzione di antibiotici, febbre alta nei 2-3 mesi precedenti, perdita di liquido seminale durante la raccolta, il trasporto inappropriato del seme al laboratorio, possono alterare l'esito dell'esame e il medico deve esserne a conoscenza. Per distinguere la forma estrema di oligozoospermia severa ovvero la criptozoospermia dall'azoospermia ("assenza di spermatozoi nell'eiaculato") deve essere eseguita l'analisi del citocentrifugato.

Quindi il medico deve assicurarsi che sia stato eseguito anche l'esame del pellet. La misurazione degli indici biochimici, il test di agglutinazione mista (MAR test) sono esami complementari e vengono normalmente richiesti in un secondo tempo. Tra gli indici biochimici, la fosfatasi acida e lo zinco indicano la funzionalità prostatica. I valori di questi indici prostatici sono bassi in caso di prostatite; il fruttosio (indice delle vescichette seminali) e la α -glucosidasi (indice epididimario) sono praticamente indosabili in caso di agenesia dei vasi deferenti (CBAVD) e delle vescichette seminali, e bassi in corso di un processo infiammatorio a carico di queste due strutture.

Dosaggi ormonali

Il dosaggio dell'FSH rappresenta l'elemento fondamentale nell'orientamento diagnostico. Alti valori di FSH indicano un danno testicolare primitivo, bassi valori associati ad azoospermia o ad oligozoospermia severa sono indicativi di ipogonadismo ipogonadotropo. Valori normali di FSH sono caratteristici delle forme ostruttive, tuttavia, possono essere presenti anche in casi di azoospermia da danno testicolare primitivo. Il dosaggio della Inibina B (un ormone prodotto dalle cellule di Sertoli e da alcuni tipi di cellule spermatogenetiche), è un esame complementare all'FSH. I valori di Inibina B sono bassi o indosabili in caso di ipogonadismo primitivo. L'ormone LH, il testosterone e la prolattina andrebbero richiesti in casi di sospetto ipoandrogenismo e/o ipogonadismo ipogonadotropo (sospetti che sorgono dall'anamnesi, dall'esame obiettivo e dai valori di FSH).

Ecografia scrotale

Considerando il basso costo e la non-invasività di quest'esame il suo utilizzo nella diagnostica andrologica è sempre più diffuso. Molte anomalie come l'idrocele, le patologie epididimarie, lo spermatocele, l'agenesia dei vasi deferenti e i tumori testicolari possono sfuggire all'esame obiettivo. L'esame viene richiesto di norma prima dell'intervento chirurgico per il grading del varicocele.

Inoltre, data la stretta associazione tra danno della spermatogenesi e carcinoma del testicolo, una diagnosi precoce di quest'ultimo con l'ecografia è particolarmente importante. In uno studio prospettico su 1048 pazienti infertili non selezionati l'incidenza dei tumori testicolari era 100 volte più alta negli infertili che nella popolazione generale (1:200 contro 1:20.000)³.

Ecografia transrettale

Quest'esame ha un valore modesto per la diagnostica delle oligozoospermie severe. In mani esperte può fornire informazioni utili per la valutazione di forme sub-ostruttive acquisite delle vie seminali distali e per la visualizzazione della presenza di patologie prostatiche (prostatite, ascesso prostatico). Tuttavia quest'ultime sono da considerare co-fattori e non fattori principali dell'oligozoospermia severa.

Spermiocoltura e tampone uretrale

Questi due esami sono da considerare come esami di conferma per una sospetta infezione delle vie urogenitale. I sintomi/segni indiretti di un'infezione sono: la pollachiuria, il bruciore alla minzione, il test di spremitura positivo, il dolore alla palpazione degli epididimi. Alterazioni caratteristiche dell'esame del liquido seminale sono: l'astenozoospermia, il pH>8, l'alta viscosità, e la leucocitospermia.

Studi genetici

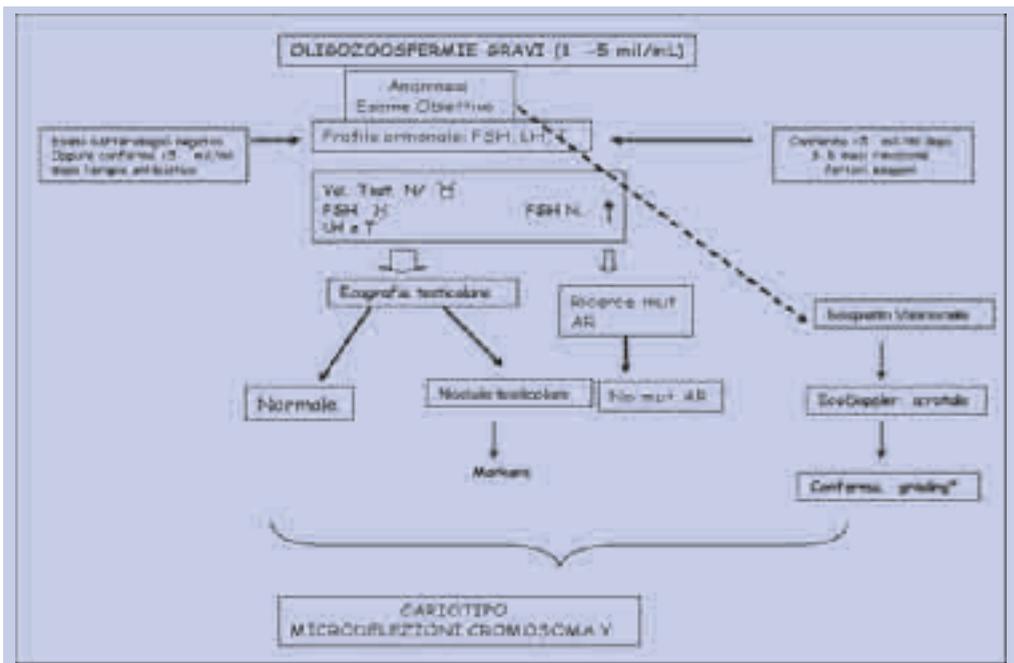
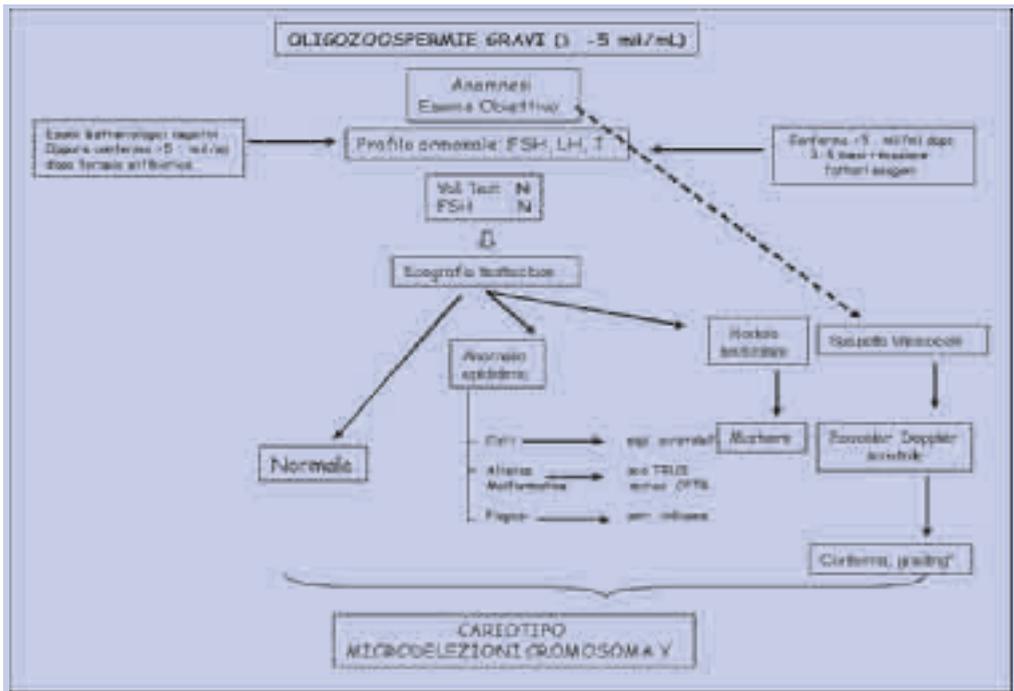
L'esame del cariotipo deve essere eseguito in tutti i pazienti azoo ed oligozoospermici ($<10 \times 10^6/\text{ml}$), visto che le anomalie cromosomiche sono circa 10 volte più frequenti nei maschi infertili (5.3%) che nella popolazione generale (0.6%)^{4,5}. L'esame dovrebbe essere eseguito anche in pazienti con un numero maggiore di 10 milioni spermatozoi/ml in caso di anamnesi familiare positiva per infertilità e aborti ricorrenti.

Le microdelezioni del cromosoma Y rappresentano la causa genetica più frequente nei soggetti affetti da azoospermia ed oligozoospermia severa. Le microdelezioni vengono classicamente divise sulla base della regione Azoospermia Factor (AZF) che viene a mancare in seguito alla delezione: AZFa, AZFb e AZFc. I tre tipi di microdelezioni sono associati a quadri diversi di difetti della spermatogenesi^{5,6}. Le microdelezioni che rimuovono l'intera regione AZFa (delezioni complete) sono associate a Sindrome a Sole Cellule di Sertoli (SCOS) tipo I, quelle dell'AZFb all'Arresto della Spermatogenesi (SGA) mentre quelle dell'AZFc (anche in caso di delezioni parziali) sono associate a quadri istologici variabili dalla SCOS tipo I (assenza totale di cellule germinali) e tipo II (possibile presenza di alcuni tubuli con normale spermatogenesi), SGA, Ipospermatogenesi all'oligozoospermia. L'incidenza di microdelezioni è di circa il 10% nei soggetti azoospermici e del 5-7% nei soggetti oligozoospermici severi⁷. Non sono state trovate microdelezioni in soggetti normozoospermici, indicando che le microdelezioni sono strettamente associate ad un danno della spermatogenesi⁷. Inoltre le microdelezioni sono state riportate con una frequenza non trascurabile anche in associazione ad altre patologie come ipogonadismo ipogonadotropo, criptorchidismo, varicocele e forme ostruttive⁸. Quest'esame dovrebbe quindi essere richiesto per tutti i pazienti affetti da azoospermia o oligozoospermia con numero di spermatozoi $<5 \times 10^6/\text{ml}$ (per le forme non-idiopatiche) ed eventualmente $<10 \times 10^6/\text{ml}$ (per le forme idiopatiche).

La ricerca di mutazioni del gene Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator (CFTR) deve essere richiesta solo in soggetti affetti da azoospermia ostruttiva da agenesia bilaterale dei vasi deferenti e delle vescichette seminali e nei soggetti oligozoospermici con assenza monolaterale dei deferenti.

Il significato clinico dello studio del numero delle triplette CAG situate nel primo esone del recettore androgenico (AR) in soggetti oligozoospermici è ancora discusso. La ricerca di mutazioni del gene AR è giustificata in caso di sospetta sdr. da resistenza androgenica (alti valori di LH e testosterone che viene indicato come Androgen Sensitivity Index (ASI)).

FLOW-CHART DIAGNOSTICHE



Bibliografia

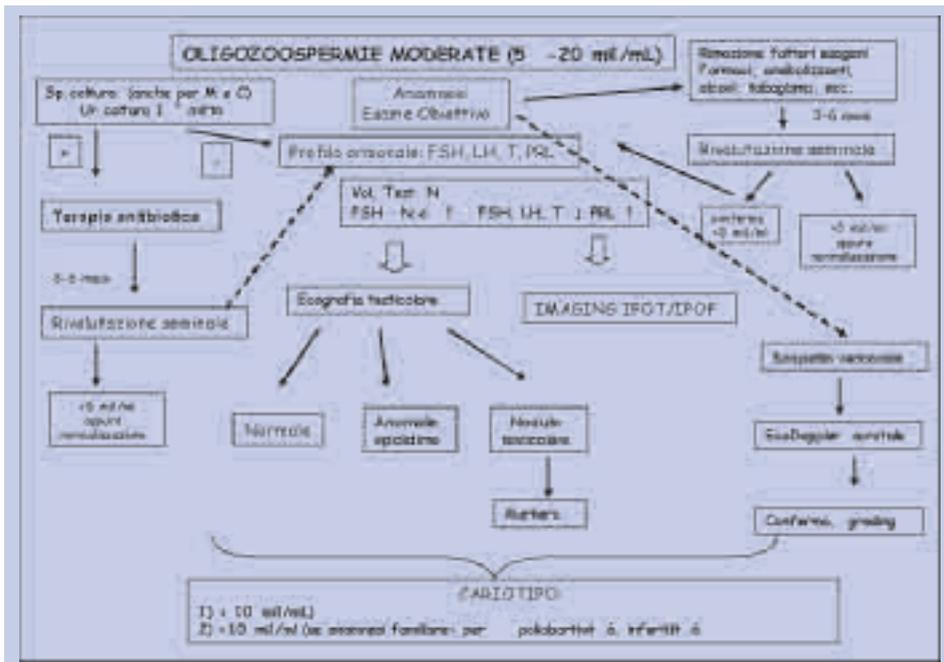
1. Westlander G, Ekerhovd E, Granberg S, Hanson L, Hanson C, Bergh C. Testicular ultrasonography and extended chromosome analysis in men with nonmosaic Klinefelter syndrome: a prospective study of possible predictive factors for successful sperm recovery. *Fertil Steril.* 2001; 75(6): 1102-1105.
2. Kamischke A, Baumgardt A, Horst J, Nieschlag E. Clinical and diagnostic features of patients with suspected Klinefelter syndrome. *J Androl.* 2003; 24(1): 41-48.
3. Behre HN, Kliesch S, Schadel F, Nieschlag E. Clinical relevance of scrotal and transrectal ultrasonography in andrological patients. *Int. J. Androl.* 1995; 18 (Suppl): 27-31.
4. Vincent MC, Daudin M, De MP, Massat G, Mieusset R, Pontonnier F, Calvas P, Bujan L, Bourrouillout G. Cytogenetic investigations of infertile men with low sperm counts: a 25-year experience. *J Androl.* 2002; 23: 18-22.
5. Vogt PH, Edelmann A, Kirsch S et al. Human Y chromosome azoospermia factors (AZF) mapped to different subregions in Yq11. *Hum Mol Genet.* 1996; 5: 933-943.
6. Krausz C and McElreavey K Y chromosome and male infertility. *Front Biosci.* 1999; 15: E1-8.
7. Krausz C, Forti G, McElreavey K. The Y chromosome and male fertility and infertility. *Int J Androl.* 2003 ; 26: 70-75.
8. Krausz C, Quintana-Murci L, Barbaux S et al. A high frequency of Y chromosome deletions in males with nonidiopathic infertility. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999; 84: 3606-3612

4.3 OLIGOZOOSPERMIA MODERATA

Il termine di "oligozoospermia moderata" identifica una riduzione della concentrazione degli spermatozoi nell'eiaculato compresa tra 5-20 milioni/ml. Come già riportato nel capitolo riguardante l'oligozoospermia severa, l'oligozoospermia moderata può essere dovuta a patologie pre-testicolari, testicolari o post-testicolari. Lo schema di approccio clinico-diagnostico è sostanzialmente sovrapponibile per quanto riguarda tutti i punti esplorati nel capitolo dell'oligozoospermia severa ad eccezione delle analisi genetiche in quanto l'oligozoospermia moderata può dipendere da un'alterazione genetica con una frequenza inferiore rispetto all'oligozoospermia severa. In particolare viene consigliata l'esecuzione del cariotipo in presenza di oligozoospermia moderata quando il numero degli spermatozoi nell'eiaculato è inferiore a 10 mil/ml (confermato da almeno due analisi del liquido seminale eseguite a distanza di almeno 12 settimane) o in presenza di anamnesi familiare positiva per poliabortività, infertilità o alterazioni cromosomiche.

Per quanto riguarda lo studio delle microdelezioni del cromosoma Y nei casi di oligozoospermia moderata, questo viene consigliato quando il numero degli spermatozoi è inferiore a 10 mil/ml in assenza di altre cause note. La ricerca di mutazioni del gene per il recettore degli androgeni non appare indicata nei casi di oligozoospermia moderata così come la valutazione del numero delle triplette CAG del primo esone del recettore per gli androgeni il cui ruolo nella patogenesi dell'oligozoospermia è ancora dibattuto.

FLOW-CHART DIAGNOSTICA



4.4 ASTENOZOOSPERMIA

Nell'ambito dell'analisi del liquido seminale la valutazione della motilità spermatica riveste un'importanza fondamentale. La riduzione di tale parametro viene definita con il termine di "astenozoospermia" ed è un segno dell'infertilità, ma non la sua causa. L'anamnesi clinica deve essere mirata alla ricerca di fattori che in maniera diretta o indiretta possono modificare la motilità spermatica quali il fumo di sigaretta, l'assunzione di alcool o di farmaci, l'esposizione professionale a sostanze chimiche¹⁻⁴, la presenza di malattie sistemiche e di situazioni che possono alterare il microambiente seminale (pH, osmolarità, ecc.) quali pregresse orchiti, infezioni delle ghiandole accessorie, dell'epididimo, pregressa esposizione a chemio/radioterapia, traumi testicolari, interventi chirurgici a livello testicolare, eventuali recenti episodi febbrili. Particolare attenzione deve essere posta nella valutazione della presenza di varicocele mono o bilaterale che frequentemente si accompagna ad astenozoospermia. Infine dovrà essere indagata la possibile presenza di situazioni analoghe nei familiari.

Esame del liquido seminale

L'esame del liquido seminale eseguito secondo le linee guida dell'Organizzazione Mondiale della Sanità⁵ deve confermare la presenza di astenozoospermia in almeno due analisi del liquido seminale eseguite a distanza di almeno 12 settimane. Importanti sono la modalità della raccolta del liquido seminale e la sua conservazione/trasporto al laboratorio analisi, la valutazione del pH, della viscosità seminale e della presenza di spermioagglutinazioni. L'esame seminale deve prevedere in questo caso anche la ricerca degli anticorpi antispermatozoo. Il dosaggio di alcuni indicatori biochimici di funzionalità prostatica, vescicolare, epididimaria quali la fosfatasi acida, zinco, fruttosio, alfa-glucosidasi anche se poco indicativi e poco utilizzati possono in taluni casi indirizzare verso un'alterazione delle ghiandole accessorie e quindi del microambiente seminale quale possibile causa dell'astenozoospermia.

Spermiocoltura – urinocoltura del primo mitto

Tali accertamenti sono diretti a scoprire la presenza di un'infezione del tratto riproduttivo e delle vie urogenitali che potrebbero essere alla base dell'astenozoospermia (effetto batterico diretto sugli spermatozoi o indiretto tramite la produzione di citochine o altri prodotti da parte delle cellule della risposta infiammatoria). In tale caso la terapia antibiotica mirata dovrà essere seguita da una nuova analisi del liquido seminale da eseguire almeno tre mesi dopo l'eradicazione dell'infezione.

Dosaggi ormonali

Anche se vi sono delle evidenze che i livelli plasmatici di FSH correlano inversamente con le percentuali di motilità spermatica⁷, è probabile che la presenza di livelli elevati di FSH nei soggetti con astenozoospermia sia legata più ad un'alterazione primitiva della spermatogenesi che causa diretta della riduzione della motilità degli spermatozoi. Anche il ruolo di LH, testosterone e prolattina nel determinismo dell'astenozoospermia non appaiono ben definiti^{8,9} per cui il dosaggio di questi ormoni dovrebbe essere riservato a situazioni che prevedano, oltre alla presenza di astenozoospermia, anche la presenza di segni clinici di ipoandrogenismo o iperprolattinemia e non come screening ormonale di base nei soggetti con astenozoospermia.

Ecografia scrotale e prostato/vescicolare

L'utilizzo di questa metodica di indagine clinica intesa come estensione dell'esame obiettivo andrologico dovrebbe aiutare il clinico ad evidenziare possibili alterazioni del tratto riproduttivo

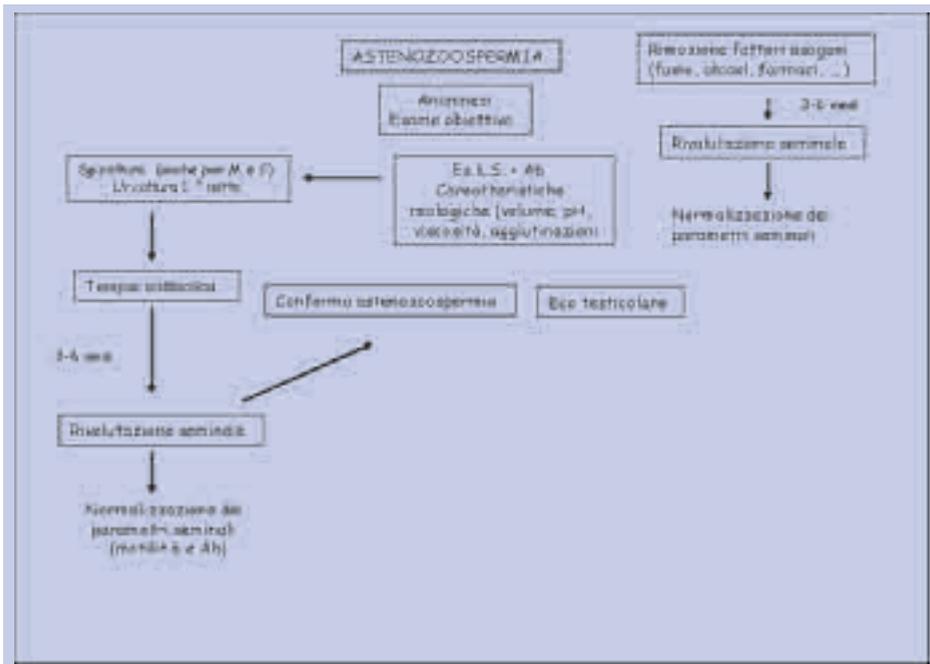
in grado di determinare anche astenozoospermia quali il varicocele, alterazioni dell'epididimo, alterazioni della prostata e delle vescicole seminali. Inoltre l'elevata prevalenza di alterazione dei parametri seminali e quindi anche della motilità spermatica osservata nei soggetti con neoplasia testicolare primitiva rafforza l'utilizzo delle indagini ecografiche testicolari anche nei soggetti infertili con astenozoospermia isolata.

Studi genetici

Se per quanto riguarda i difetti quantitativi della spermatogenesi umana il ruolo delle alterazioni cromosomiche e geniche appare sempre più in evoluzione, il ruolo di tali alterazioni nella modificazione della motilità spermatica non appare ben chiaro. Fino ad oggi sono state individuate più di duecento proteine differenti associate all'assonema del flagello dello spermatozoo e, nonostante la loro importanza nel determinare una corretta funzione flagellare, solo poche di esse sono state fino ad oggi individuate¹¹⁻¹³. In particolar modo le dineine, le principali proteine responsabili del movimento del flagello sono componenti di una famiglia di proteine multigeniche la cui funzione ATPasica determina lo scivolamento delle doppiette di microtubuli esterne che determina il movimento flagellare¹². Qualsiasi alterazione della struttura dei geni di queste proteine può determinare una alterazione della loro funzione risultando in una modificazione del movimento flagellare. L'assonema inoltre non è peculiare dello spermatozoo ma è presente in tutte le cellule flagellate e ciliate (orecchio interno, epitelio bronchiale, ecc.). Pertanto alterazioni dell'assonema possono determinare fenotipi complessi quali infertilità, malattie respiratorie croniche, sordità. Recentemente sono state individuate alterazioni dei geni che codificano per le dineine associate a sindrome da discinesia ciliare e sindrome di Kartagener, patologie che si caratterizzano per la completa immobilità degli spermatozoi e quindi anche con l'infertilità¹¹⁻¹³. Queste alterazioni, geneticamente eterogenee, sono trasmesse come malattie autosomiche recessive che si accompagnano, oltre che all'infertilità, a bronchiectasie, sinusiti croniche, situs inversus (Sindrome di Kartagener). Nell'uomo sono state individuate fino ad ora mutazioni in tre geni codificanti per proteine dell'assonema ma, dato l'elevato numero di geni coinvolti nell'espressione delle proteine assonemali, è probabile che molte altre alterazioni di questi geni debbano essere ancora scoperte¹¹⁻¹³. La ricerca di tali mutazioni genetiche è ad oggi limitata dalla difficoltà di studio di questi geni e dalla non completa conoscenza dei meccanismi che sono alla base della corretta motilità spermatica. La valutazione clinica approfondita che riveli una possibile alterazione di queste proteine (presenza di bronchiectasie, sinusiti ricorrenti, alterazioni uditive, situs inversus) e/o la presenza di un'astenozoospermia assoluta confermata in successivi controlli seminali e senza nessuna causa riscontrata potrebbe indicare una possibile genesi genetica dell'astenozoospermia da alterazione delle dineine.

Il ruolo di altre alterazioni genetiche nel determinismo dell'astenozoospermia è sicuramente importante anche se ad oggi poco è noto. Recentemente è stato individuato un canale per il calcio denominato CatSper1¹⁵ localizzato specificamente sul segmento principale del flagello dello spermatozoo e specifico per questa cellula che potrebbe avere un ruolo fondamentale per la motilità spermatica anche nell'uomo. Infatti è stato dimostrato che topi knock-out per il gene di questo canale presentano spermatozoi con ridotta motilità e incapaci di fecondare l'ovocita¹⁵. Inoltre recenti studi hanno dimostrato che soggetti infertili astenozoospermici presentano una riduzione dell'espressione del gene CatSper rispetto a soggetti infertili con normale motilità spermatica¹⁶.

FLOW-CHART DIAGNOSTICA



Bibliografía

1. Foote RH. Effects of metronidazole, ipronidazole, and dibromochloropropane on rabbit and human sperm motility and fertility. *Reprod Toxicol.* 2002; 16: 749-755.
2. Ban Y, Asanabe U, Inagaki S, Sasaki M, Nakatsuka T, Matsumoto H. Effects of alpha-chlorohydrin on rat sperm motions in relation to male reproductive functions. *J Toxicol Sci.* 1999; 24: 407-413.
3. Linder RE, Klinefelter GR, Strader LF, Suarez JD, Roberts NL, Dyer CJ. Spermatotoxicity of dibromoacetic acid in rats after 14 daily exposures. *Reprod Toxicol.* 1994; 8: 251-259.
4. Klinefelter GR, Gray LE Jr, Suarez JD. The method of sperm collection significantly influences sperm motion parameters following ethane dimethanesulphonate administration in the rat. *Reprod Toxicol.* 1991; 5: 39-44.
5. World Health Organization. WHO laboratorii manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction. 4th ed. Cambridge, Cambridge University Press, 1999.
6. Urata K, Narahara H, Tanaka Y, Egashira T, Takayama F, Miyakawa I. Effect of endotoxin-induced reactive oxygen species on sperm motility. *Fertil Steril.* 2001; 76:163-166.
7. Trummer H, Ramschak-Schwarzer S, Haas J, Habermann H, Pummer K, Leb G. Thyroid hormones and thyroid antibodies in infertile males. *Fertil Steril.* 2001; 76: 254-257.
8. Merino G, Carranza-Lira S, Martinez-Chequer JC, Barahona E, Moran C, Bermudez JA. Hyperprolactinemia in men with asthenozoospermia, oligozoospermia, or azoospermia. *Arch Androl.* 1997; 38: 201-206.
9. Check JH, Lurie D, Vetter BH. Sera gonadotropins, testosterone, and prolactin levels in men with oligozoospermia or asthenozoospermia. *Arch Androl.* 1995; 35: 57-61.
10. Tomomasa H, Oshio S, Ashizawa Y, Kamiyama Y, Okano Y, Iiyama T, Sato S, Shimizu H, Umeda T. Gonadal function in patients with testicular germ cell tumors. *Arch Androl.* 2002; 48: 405-415.
11. Guichard C, Harricane MC, Lafitte JJ, Godard P, Zaegel M, Tack W, Lalau G, Bouvagnet P. Axonemal dynein intermediate-chain gene (DNAI1) mutations result in situs inversus and primary ciliary dyskinesia. *Am J Hum Genet.* 2001; 68: 1030-1035.
12. Olbrich H, Haffner K, Kispert A. Mutations in DNAH5 cause primary ciliary dyskinesia and randomization of left asymmetry. *Nat Genet.* 2002; 30: 143-144.
13. Bartoloni L, Blouin JL, Pan Y, Gehrig C, Maiti AK, Scamuffa N, Rossier C, Jorissen M, Armengot M, Meeks M, Mitchison HM, Chung EM, Delozier-Blanchet CD, Craigen WJ, Antonarakis SE. Mutations in the DNAH11 (axonemal heavy chain dynein type 11) gene cause one form of situs inversus totalis and most likely primary ciliary dyskinesia. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2002; 99: 10282-10286.
14. Tash JS, Means AR. Cyclic adenosine 3', 5' monophosphate, calcium and protein phosphorylation in flagellar motility. *Biol Reprod.* 1983; 28: 75-104.
15. Ren D, Navarro B, Perez G, Jackson AC, Hsu S, Shi Q, Tilly JL, Clapham DE. A sperm ion channel required for sperm motility and male fertility. *Nature.* 2001; 413: 603-609.
16. Nikpoor P, Mowla SJ, Movahedin M, Ziae SA, Tiraihi T. CatSper gene expression in postnatal development of mouse testis and in subfertile men with deficient sperm motility. *Hum Reprod.* 2004; 19: 124-128.

5. Principali quadri clinici associati ad infertilità

5.1 VARICOCELE

Questa patologia, caratterizzata da un'abnorme dilatazione delle vene del plesso pampiniforme, è presente in circa il 15% della popolazione maschile e in circa il 40% degli uomini infertili. Per comprenderne l'esatta fisiopatologia occorre accennare al quadro anatomico normale del drenaggio venoso testicolare.

L'anatomia venosa del contenuto delle borse scrotali è assai complessa e può essere suddivisa in una rete superficiale (o sottocutanea) ed in una rete profonda. La rete superficiale è costituita dalle vene scrotali anteriori, che sboccano nelle pudende esterne, e dalle vene scrotali posteriori, che drenano nelle pudende interne attraverso la vena dorsale profonda del pene. La rete venosa profonda origina in maniera plessiforme (plesso pampiniforme anteriore e posteriore) e prosegue con un marcato decremento numerico dei costituenti.

Il plesso pampiniforme anteriore, costituito da un minimo di tre fino a un massimo di nove vene spermatiche, anastomizzate con le deferenziali e le cremasteriche, è a stretto contatto con l'arteria testicolare, la cui legatura accidentale può provocare atrofia testicolare o azoospermia.

Le vene spermatiche, oltrepassato l'orifizio inguinale interno, si dirigono posteriormente nel retroperitoneo, fino a sboccare nella vena renale omolaterale a sinistra e nella vena cava inferiore a destra.

Dal plesso pampiniforme posteriore originano la vena deferenziale, la vena cremasterica e la pudenda esterna. Fra questi gruppi venosi esiste una libera circolazione collaterale, data l'esistenza di numerosi rami anastomotici, tuttavia il contributo al drenaggio venoso della gonade maschile da parte delle vene deferenziali e cremasteriche sembra essere molto limitato, sia in condizioni normali che nel varicocele¹.

Il meccanismo con cui il varicocele induce il danno testicolare non è stato ancora del tutto chiarito, ma un ruolo centrale sembrerebbe giocato dall'ipertensione venosa. Normalmente le valvole presenti lungo la parete delle vene spermatiche interne facilitano l'efflusso venoso unidirezionale (verso l'alto, contro la forza di gravità); quando tali valvole diventano incompetenti, le vene spermatiche interne cessano di svolgere la loro funzione di drenaggio e divengono vasi passivi. Poiché ciascuna vena spermatica interna contiene una colonna verticale di sangue (circa 40 cm a sinistra e 35 cm a destra), nel sistema di drenaggio venoso testicolare si produce un'elevata pressione idrostatica (circa 31 mmHg a sinistra e 27 mmHg a destra), che determina una progressiva alterazione del sistema venoso. Nello stadio iniziale le vene reagiscono senza dila-

tarsi, aumentando lo spessore delle pareti; l'ipertrofia della media aumenta l'efficienza del meccanismo di pompa venosa e non si sviluppa la stasi. Successivamente, l'ulteriore incremento della tensione venosa porta al cedimento del manicotto muscolare compensatorio della media e questo induce un iniziale ristagno del sangue. Prolungando ulteriormente l'ipertensione venosa, si verificano la frammentazione e la ialinizzazione delle pareti venose, a cui corrispondono sul piano macroscopico lo sviluppo di varicosità. L'atrofia e la fibrosi, che rappresentano l'ultimo stadio della malattia, peggiorano ulteriormente il quadro rendendo i vasi ancora più tortuosi e sacculati¹.

In alcuni casi il varicocele si associa ad infertilità. Perché il varicocele abbia un effetto dannoso sulla spermatogenesi solo in alcuni uomini non è ancora chiarito e numerosi meccanismi fisiopatologici sono stati invocati quali causa del danno testicolare: ipossia, ipertermia, disfunzioni ormonali, autoimmunità, stress ossidativo, apoptosi ed aumento della pressione idrostatica nel sistema di drenaggio venoso testicolare².

Quest'ultimo meccanismo, in particolare, sembra sicuramente coinvolto: nel testicolo il flusso ematico è possibile solo in direzione della pressione negativa, perciò, quando la pressione idrostatica del sistema venoso di drenaggio supera la pressione del microcircolo arteriale intratesticolare (18-20 mmHg), compaiono il ristagno venoso a livello scrotale e la relativa ipossia del parenchima testicolare; il conseguente stato ipossico-ischemico determina un'alterazione a carico dei tubuli seminiferi, delle cellule del Sertoli, delle cellule germinali ed infine delle cellule del Leydig e questo, a sua volta danneggia la qualità seminale, portando ad una lieve, moderata o grave oligoastenoteratozoospermia. L'esito finale del processo, in alcuni casi, è la comparsa di ipotrofia testicolare, mono o bilaterale.

Il varicocele può essere individuato attraverso l'esame clinico, anche se l'esame obiettivo tende a sottostimare la reale incidenza di tale patologia. Dubin e Amelar hanno proposto nel 1978 una classificazione clinica del varicocele, tutt'oggi universalmente accettata:

- I° grado: varicocele rilevabile con la palpazione, solo durante la manovra di Valsalva.
- II° grado: varicocele rilevabile con la palpazione già in condizioni di base.
- III° grado: varicocele visibile all'ispezione.

L'esame obiettivo deve essere effettuato sia in clinostatismo che in ortostatismo, in condizioni di riposo e dopo manovra di Valsalva (aumento della pressione endoaddominale). In molti casi, soprattutto in pazienti con una storia di pregressa chirurgia scrotale, concomitante idrocele oppure obesità grave, lo studio clinico del varicocele può non essere conclusivo: pertanto è necessario effettuare uno studio ecocolordoppler testicolare, che consentirà di studiare bilateralmente il flusso venoso a livello del plesso pampiniforme, in sede funicolare, sovratesticolare e peritesticolare.

Dal punto di vista ecografico gli obiettivi dello studio doppler del plesso pampiniforme sono: dimostrare la presenza del reflusso venoso patologico, classificare il varicocele in base alla sua estensione endoscrotale, distinguere le forme monolaterali da quelle bilaterali, valutare lo stato delle gonadi e degli epididimi, con particolare attenzione al calcolo del volume testicolare, e dimostrare l'eventuale presenza di recidiva di varicocele dopo intervento chirurgico.

L'esplorazione inizia da sinistra (sede più frequente di varicocele), con l'esame della regione peritesticolare a paziente in ortostatismo. Dapprima lo studio viene effettuato in condizioni basali (B-Mode); se già in questa situazione sono presenti vasi venosi dilatati, l'indagine ecocolordoppler (ECD) ci darà informazioni sulla presenza o meno di un reflusso e se quest'ultimo è presente in condizioni basali e/o dopo aumento della pressione endoaddominale (manovra di Valsalva). A tal fine, dopo aver studiato la regione peritesticolare in condizioni basali, si invita il paziente ad eseguire un ponzamento progressivo, non brusco ed un

reflusso viene considerato patologico quando si prolunga per oltre due secondi. Reflussi di minore durata, se la manovra di Valsalva è eseguita correttamente, sono considerati brevi e non riferibili a ritorno di sangue dalle vene spermatiche.

Se lo studio in B-Mode non rileva varicosità peritesticolari, si dovrà indagare la regione funicolare sovratesticolare con le stesse modalità descritte in precedenza³.

Quando non siano visibili vasi dilatati anche in questa sede e l'ECD non percepisca segnali, si passerà all'esame del funicolo all'emergenza scrotale. Per essere sicuri di aver localizzato il funicolo, con la sonda puntata verso l'anello inguinale superficiale, si centra l'arteria testicolare e si invita il paziente ad eseguire la manovra di Valsalva evidenziando la presenza o meno di reflusso prolungato. Naturalmente dopo aver esplorato il plesso pampiniforme sinistro, anche in caso di reperti negativi, andrà esaminato anche il plesso pampiniforme controlaterale con le medesime modalità.

Sulla base dei reperti ottenuti mediante le suddette procedure possiamo ottenere informazioni sulla presenza o meno di varicocele e sull'entità e localizzazione dei reflussi venosi patologici (Fig. 1).

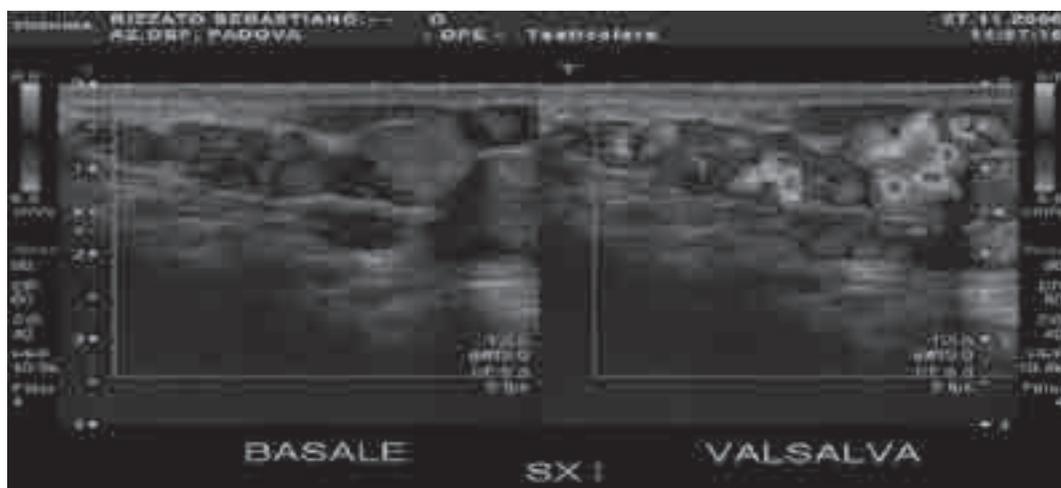


Fig. 1: Varicocele sinistro con reflussi venosi evidenziabili sia in condizioni basali che durante manovra di Valsalva.

Attualmente la classificazione ecografica che, a nostro parere, sembra più completa per la definizione del varicocele, è quella introdotta da Sarteschi e coll.⁴:

- Grado 1: non si osservano varicosità in B-mode. L'ECD, con sonda posizionata all'emergenza scrotale, evidenzia un prolungato reflusso venoso.
- Grado 2: si osservano piccole varicosità posteriori, spesso accompagnate da un tronco venoso rettilineo ventrale, che però non scendono al di sotto del livello del polo superiore del testicolo. Le varicosità incrementano di diametro in maniera più o meno apprezzabile con la manovra di Valsalva eseguita in B-Mode. Lo studio con ECD rivela la presenza di reflusso venoso nella regione sovratesticolare.
- Grado 3: in ortostatismo i vasi venosi si dilatano prontamente durante manovra di Valsalva in B-Mode, raggiungendo il polo inferiore del testicolo. L'ECD non evidenzia reflusso in condizioni basali ma dimostra reflussi prolungati durante manovra di Valsalva.
- Grado 4: i vasi venosi del funicolo appaiono dilatati in B-Mode a livello funicolare peritesticolare; la manovra di Valsalva determina un ulteriore allargamento dei calibri venosi. Lo

studio ECD documenta presenza di reflussi patologici già in condizioni basali, incrementabili durante manovra di Valsalva. Spesso può essere presente ipotrofia del testicolo omolaterale.

- Grado 5: i vasi venosi appaiono estremamente dilatati in B-Mode a livello funicolare e peritesticolare, talvolta in maniera abnorme. La manovra di Valsalva determina aumento del calibro venoso. L'ECD dimostra un reflusso patologico presente in condizioni basali che comunque non incrementa o incrementa pochissimo durante l'esecuzione delle manovre funzionali. Talvolta possono essere presenti varici intratesticolari. Può, inoltre, coesistere ipotrofia del testicolo omolaterale.

In caso di rilievo di varicocele solo a destra è necessario studiare l'eventuale presenza di reflusso venoso anche nel corrispondente canale inguinale. Se si dimostrano anche in questa sede vasi venosi con segnali di reflusso, è possibile escludere che il varicocele destro sia sostenuto da collaterali prepubbici o transrettali. Nel sospetto clinico di varicocele secondario, è necessario affrontare lo studio ecografico delle logge renali, del fegato e del retroperitoneo nella ricerca di cause ostruttive venose, congenite o acquisite⁴.

La terapia del varicocele è tipo chirurgico e si basa sulla scleroterapia, anterograda o retrograda, o sull'embolizzazione retrograda dei vasi venosi; l'approccio chirurgico può essere scrotale o inguinale, con tecniche di microchirurgia o laparoscopia. La tabella 1 riporta i rischi di recidiva e le possibili complicanze dei differenti metodi chirurgici⁵.

Tabella 1

TRATTAMENTO	RECIDIVA/PERSISTENZA	COMPLICANZE
Scleroterapia anterograda	9%	0.3-2.2% Atrofia testicolare; ematoma scrotale; epididimite; eritema fianco sx
Scleroterapia retrograda	9.8% ⁵	Reazione avversa al mdc; dolore al fianco; tromboflebite persistente; perforazione vascolare ⁷
Embolizzazione retrograda	3.8-10% ^{8,9}	Dolore da tromboflebite ⁹ ; ematoma; infezione; perforazione venosa; idrocele; complicanze radiologiche (reazione al mdc, emorragia retroperitoneale, fibrosi, ostruzione ureterale) ¹⁰
ACCESSO CHIRURGICO		
Scrotale		Atrofia testicolare ¹⁰ ; danno arterioso con rischio di ischemia e gangrena testicolare
Inguinale	13.3% ¹¹	Possibilità di escludere un ramo collaterale venoso
Legatura alta	29% ¹¹	5-10% idrocele ¹²
Microchirurgico	0.8-4% ^{13,14}	Idrocele post-operatorio; danno arterioso; ematoma scrotale
Laparoscopico	3-7% ¹⁵⁻¹⁷	Danno dei vasi arteriosi e linfatici testicolari; embolia polmonare; danno intestinale, vascolare e neurologico; peritonite ¹⁷ ; emorragia; dolore post-operatorio alla spalla(per stiramento diaframmatico durante pneumoperitoneo) ¹⁶ ; pneumoscroto; infezione delle vie aeree ¹⁷

Attualmente una precisa indicazione chirurgica per il trattamento del varicocele si ha solo nei maschi adolescenti che mostrano un progressivo danno testicolare (documentato dalla riduzione del volume testicolare, dall'incremento dell'FSH e dal peggioramento dei parametri seminali), nei soggetti con varicocele clinicamente sintomatico o nei maschi adulti con alterazione dei parametri seminali e partner femminili senza evidenti cause di infertilità^{18,19}. Negli altri casi, anche in considerazione dell'elevata % di recidive e delle possibili complicanze post-operatorie, l'opportunità della terapia chirurgica va attentamente valutata con il paziente²⁰⁻²².

L'obiettivo futuro è mettere a punto tecniche di diagnosi che permettano di selezionare precocemente quei soggetti in cui il varicocele induce un'alterazione dei flussi ematici intratesticolari e che, quindi, probabilmente manifesteranno un danno della spermatogenesi. In tal senso vanno letti gli innovativi studi sul microcircolo testicolare, condotti mediante mezzo di contrasto iniettato per via endovenosa (Fig. 2).

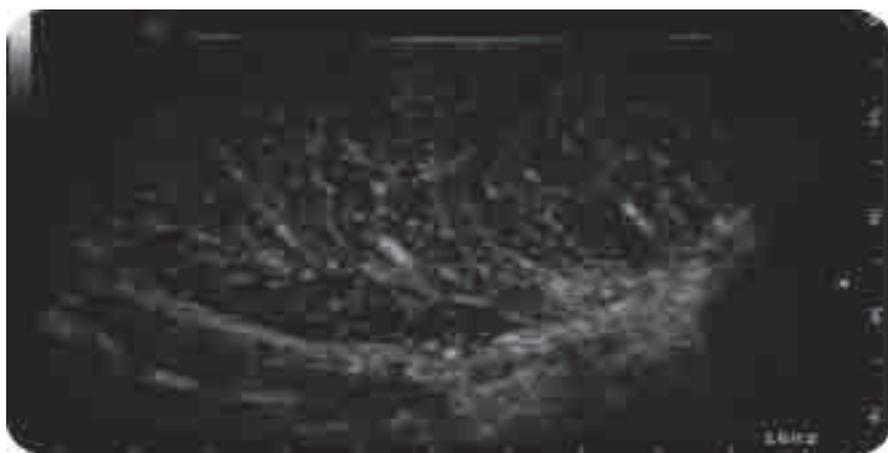


Fig. 2: Microcircolo testicolare evidenziato dopo iniezione di mdc e.v.

Questa metodica, infatti, aprirebbe un nuovo approccio diagnostico-terapeutico al soggetto affetto da varicocele; aiuterebbe il clinico ad individuare pazienti normozoospermici con varicocele, che potrebbero essere a rischio di sviluppare infertilità; permetterebbe di studiare l'eventuale risposta al trattamento in termini di normalizzazione del flusso ematico intratesticolare; infine, consentirebbe di individuare i soggetti oligozoospermici, che con buona probabilità trarrebbero beneficio della chirurgia in termini di parametri seminali e fertilità.

Bibliografia

1. Nagler HM, Luntz RK, Martinis FG. Varicocele. In: Lipshultz LI, Howards SS eds. *Infertility in the Male*. St. Louis: Mosby Year Book; 1997: 336-359.
2. The Practice Committee of The American Society for Reproductive Medicine. Report on varicocele and infertility. *Fertil Steril* 2008; 90(supp 3): S247-S249.
3. Gat Y, Zukerman Z, Chakraborty J, Gornish M. Varicocele, hypoxia and male infertility: Fluid mechanics analysis of the impaired testicular venous drainage system. *Hum Reprod* 2005; 20(9): 2614-2619.
4. Sarteschi LM, Bertozzi A, Chiechi A, Palego PF, Porzano A, Rossi P, Turchi P, Menchini-Fabris F. Tridimensional ultrasonography in andrology. *Arch Ital Urol Androl* 2000; 72(4): 168-173.
5. G.R. Dohle, A. Jungwirth, Z. Kopa, A. Giwercman, T. Diemer, T.B. Hargreave. Guidelines on male infertility. European Association of Urology 2009.
6. Sigmund G, Bahren W, Gall H, Lenz M, Thon W. Idiopathic varicoceles: feasibility of percutaneous sclerotherapy. *Radiology* 1987;164(1): 161-168.
7. Seyferth W, Jecht E, Zeitler E. Percutaneous sclerotherapy of varicocele. *Radiology* 1981;139(2): 335-340.
8. Lenk S, Fahlenkamp D, Glied V, Lindeke A. Comparison of different methods of treating varicocele. *J Androl* 1994;15(Suppl): 34S-37S.
9. Feneley MR, Pal MK, Nockler IB, Hendry WF. Retrograde embolisation and causes of failure in the primary treatment of varicocele. *Br J Urol* 1997;80(4): 642-646.
10. Hargreave TB. Varicocele. In: Hargreave, TB (ed). *Male Infertility*. Berlin: Springer-Verlag, 1994.
11. Bassi R, Radice F, Bergami G, De Grazia F, Papa B. [Surgical treatment of varicocele. Our experience in the last 10 years.] *Minerva Chir* 1996;51(7-8): 533-536.
12. Wallijn E, Desmet R. Hydrocele: a frequently overlooked complication after high ligation of the spermatic vein for varicocele. *Int J Androl* 1978;1: 411-415.
13. Goldstein M, Kim FY, Mathews GJ. Mini-incision microsurgical subinguinal varicocelectomy with delivery of the testis. *J Urol* 1996;155 (Suppl) abstr videotape:305A.
14. Goldstein M. Varicocelectomy: general considerations. In: Goldstein M (ed). *Surgery of Male Infertility*. Philadelphia, USA, WB Saunders, 1995, pp. 169-172.
15. McDougall E. Minimally invasive therapy. *J Urol* 1995;153(3 Pt 1): 712-713.
16. Miersch WD, Schoeneich G, Winter P, Buszello H. Laparoscopic varicocelectomy: indication, technique and surgical results. *Br J Urol* 1995;76(5): 636-638.
17. Tan SM, Ng FC, Ravintharan T, Lim PH, Chng HC. Laparoscopic varicocelectomy: technique and results. *Br J Urol* 1995;75(4): 523-528.
18. Laven JS, Haans LC, Mali WP, te Velde ER, Wensing CJ, Eimers JM. Effects of varicocele treatment in adolescents: a randomized study. *Fertil Steril* 1992;58(4): 756-762.
19. Paduch DA, Niedzielski J. Repair versus observation in adolescent varicocele: a prospective study. *J Urol* 1997;158(3 Pt 2): 1128-1132.
20. Evers JL, Collins JA. Assessment of efficacy of varicocele repair for male subfertility: a systematic review. *Lancet* 2003;361(9372): 1849-1852.
21. Yamamoto M, Hibi H, Hirata Y, Miyake K, Ishigaki T. Effect of varicocelectomy on sperm parameters and pregnancy rates in patients with subclinical varicocele: a randomized prospective controlled study. *J Urol* 1996;155(5): 1636-1638.
22. Marmar JL, Agarwal A, Prabakaran S, Argawal R, Short RA, Benoff S, Thomas AJ Jr. Reassessing the value of varicocelectomy as a treatment for male subfertility with a new meta-analysis. *Fertil Steril* 2007;88(3): 639-648.

5.2 CRIPTORCHIDISMO

Definizione e classificazione

Per criptorchidismo (dal greco *kryptos* e *orchis* "testicolo nascosto") si intende l'assenza di uno o entrambi i testicoli nella borsa scrotale alla nascita con arresto lungo il fisiologico tragitto di discesa dall'addome. Sebbene il criptorchidismo sia spesso considerato una patologia di lieve entità, in realtà esso rappresenta l'anomalia congenita più frequente dell'apparato urogenitale ed è il più importante fattore di rischio per infertilità e tumore del testicolo in età adulta.

Il criptorchidismo è bilaterale in un terzo dei casi e monolaterale nei due terzi. I testicoli criptorchidi vengono classificati in base alla loro posizione lungo il tragitto di discesa (sede addominale alta/bassa, sede inguinale, sede soprascrotale, sede alto scrotale), e vengono quindi distinti dai testicoli ectopici, che sono localizzati al di fuori della fisiologica via di discesa. Tuttavia, nella pratica clinica e per indirizzare la terapia, risulta utile anche una semplice distinzione tra testicoli palpabili e non palpabili e tra forme bilaterali e monolaterali. Una condizione particolare è rappresentata dall'assenza di uno o entrambi i testicoli, condizione nota come anorchia o sindrome del testicolo evanescente. Il criptorchidismo può essere un'anomalia isolata o più raramente si può associare ad altre malformazioni dell'apparato uro-genitale o può far parte di sindromi genetiche più complesse. Il criptorchidismo alla nascita va anche distinto dal testicolo retrattile (testicolo normalmente disceso alla nascita, che risale in canale inguinale e può essere riportato in sede scrotale manualmente da dove risale per riflesso cremasterico), dal criptorchidismo acquisito (testicolo normalmente disceso alla nascita e poi risalito in canale inguinale da dove non è più riposizionabile manualmente nello scroto) e dal testicolo mobile (testicolo non criptorchide alla nascita, che si muove facilmente per effetto del muscolo cremastere fuori dal sacco scrotale ma vi ritorna altrettanto facilmente).

Tabella 1. Classificazione dei difetti di posizione testicolare.

Criptorchidismo congenito	Assenza di uno o entrambi i testicoli nello scroto
Testicolo in ascensore (ascending testis o criptorchidismo acquisito)	Testicolo non criptorchide alla nascita o testicolo criptorchide disceso spontaneamente e poi risalito stabilmente in canale inguinale. Difficile manipolazione
Gliding testis	Appena sotto l'anello inguinale esterno e posizionabile manualmente solo in sede alto scrotale da dove risale immediatamente
Testicolo retrattile o alto scrotale	In posizione scrotale alta, posizionabile manualmente in sacca scrotale dove può rimanere per un certo periodo e retrattile in sede alta per riflesso cremasterico
Testicolo mobile o migrante	In posizione scrotale, risale in canale inguinale spontaneamente (riflesso cremasterico, rapporti sessuali, freddo, etc) o con manipolazione e ritorna in sacca scrotale spontaneamente o con manipolazione
Testicolo in sede	In posizione scrotale, che non risale mai in canale inguinale nemmeno per riflesso cremasterico o con manipolazione

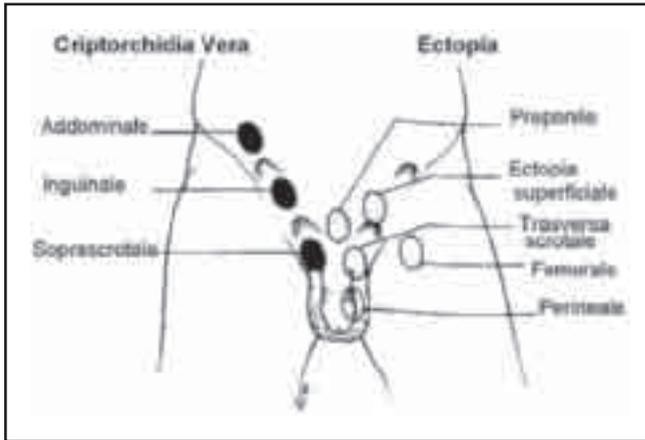


Fig. 1: Classificazione del criptorchidismo (arresto lungo il normale tragitto di discesa testicolare) e dell'ectopia testicolare (posizionato fuori dal normale tragitto di discesa).

Come trattato più avanti, una diagnosi precoce ed una corretta gestione del testicolo criptorchide sono soprattutto necessari per preservare la fertilità e per ridurre il rischio di trasformazione neoplastica dei testicoli criptorchidi o quanto meno per migliorare le possibilità diagnostiche precoci di tumori testicolari.

Epidemiologia

Il criptorchidismo interessa circa il 3-5% dei bambini nati a termine ed il 9-30% dei pretermine. Pertanto in Italia, dove ogni anno vi sono circa 300.000 nati a termine e 200.000 pretermine, si possono ipotizzare dai 25.000 ai 75.000 casi all'anno. Circa la metà dei testicoli criptorchidi alla nascita discende spontaneamente nei primi mesi di vita, soprattutto nei nati pretermine e pertanto la prevalenza del criptorchidismo ad un anno di vita è circa l'1-2%. Anche il basso peso alla nascita è un importante fattore di rischio per criptorchidismo e la prevalenza nei nati con peso inferiore a 2.5 kg è di circa il 20-25%. La discesa spontanea si verifica in genere entro i 4-6 mesi di vita e la terapia dei testicoli criptorchidi non dovrebbe pertanto iniziare prima del quarto-sesto mese. Tuttavia, è altrettanto importante non intervenire troppo tardi, perché la compromissione della funzione spermatogenetica e, quindi, della fertilità, è correlata con l'età dell'intervento.

L'incidenza del criptorchidismo sembra essere aumentata negli ultimi decenni, soprattutto in alcuni paesi, probabilmente come conseguenza dell'esposizione a fattori ambientali con attività simil-ormonale, soprattutto di tipo estrogenico^{1,2}. Questi dati epidemiologici sarebbero in accordo con un simile incremento anche dell'incidenza di tumore del testicolo, infertilità maschile ed ipospadia, e hanno portato all'ipotesi di una sindrome da disgenesia testicolare, conseguenza di un alterato sviluppo gonadico durante la vita fetale per cause ambientali e/o genetiche.

In Italia, la prevalenza del criptorchidismo nei nati a termine sembra essersi ridotta da un 4.3% negli anni 1978-1987 al 2.7% negli anni 1988-1997. Tuttavia, la prevalenza ad un anno si è mantenuta simile (1.5% nella prima decade e 1.2% nella seconda decade).

Cenni di embriologia

La discesa del testicolo dalla sua posizione originaria in prossimità del rene fino alla borsa scrotale durante la vita fetale è un complesso meccanismo che richiede l'interazione di fattori anatomici, meccanici ed ormonali. Si distinguono due fasi principali, quella trans-addominale (tra la 10a e la 23a settimana gestazionale), che porta il testicolo in prossimità dell'orifizio inguinale interno, e quella inguino-scrotale (tra la 26a-28a settimana fino alla nascita), che porta il testicolo nella sua posizione definitiva nella borsa scrotale omolaterale³.

In questo processo giocano un ruolo fondamentale due legamenti: il legamento sospensore craniale (CSL), che connette la gonade alla parete addominale posteriore, ed il gubernaculum (o legamento genito-femorale caudale), che connette il testicolo e l'epididimo all'anello inguinale interno. La discesa del testicolo è regolata da due ormoni principali prodotti dalle cellule di Leydig, il testosterone e l'Insulin-like factor 3 (INSL3), aiutati dall'ormone anti mulleriano (AMH) prodotto dalle cellule di Sertoli e dal calcitonin-gene related peptide (CGRP) prodotto dal nervo genito-femorale. Durante la fase trans-addominale il testicolo rimane vicino alla futura regione inguinale grazie anche all'allargamento della cavità addominale e alla pressione viscerale. Il CSL regredisce mentre il gubernaculum si sviluppa soprattutto nella sua porzione caudale e protrude nel sacco scrotale in formazione. In tal modo il testicolo viene mantenuto in prossimità dell'anello inguinale interno. Durante la fase inguino-scrotale il gubernaculum si ritrae ed il testicolo può attraversare il canale inguinale.

Il testosterone, sotto l'azione dell'asse ipotalamo-ipofisi-testicoli, oltre ad essere il principale ormone per lo sviluppo in senso maschile del feto e per il corretto sviluppo degli organi genitali esterni, è il maggior attore della fase inguino-scrotale della discesa testicolare grazie alla sua azione principalmente sul CSL ed in parte sul gubernaculum. L'INSL3 invece controlla la differenziazione del gubernaculum ed è quindi il maggior responsabile della fase trans-addominale. L'AMH provoca la regressione dei dotti di Muller (Figura 2).

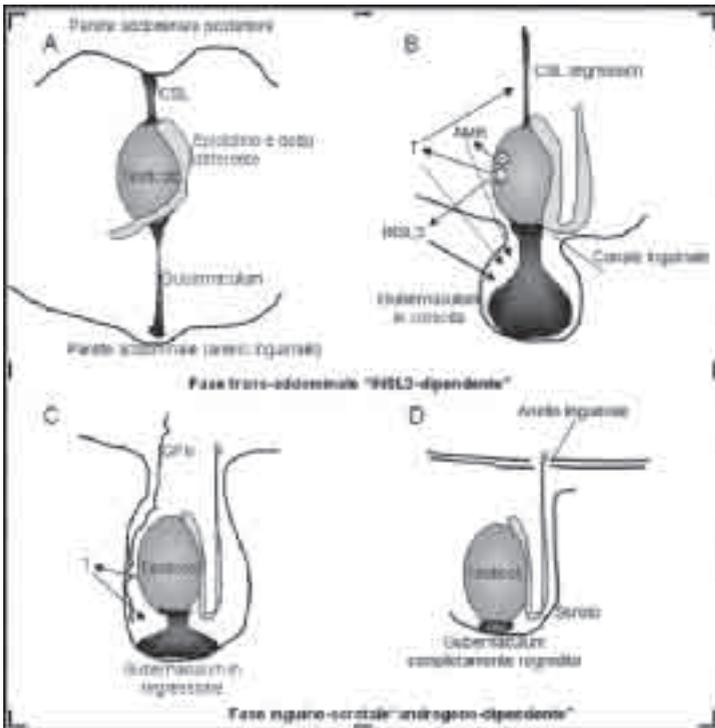


Fig. 2: Schema della discesa testicolare.

La differenziazione del testicolo dalla gonade indifferenziata in presenza del cromosoma Y (A) porta alla produzione di AMH dalle cellule di Sertoli (S) e di testosterone e INSL3 dalle cellule di Leydig (L). L'effetto diretto e indiretto (attraverso il nervo genito-femorale, GNF, ed il CGRP) di questi due ormoni principalmente sul legamento sospensore craniale (CSL) e sul gubernaculum è alla base del processo bifasico di discesa testicolare. La regressione del CSL è soprattutto sotto il controllo del testosterone, mentre l'INSL3 agisce principalmente sul gubernaculum (B) sul quale agiscono in misura minore l'AMH ed il testosterone, verosimilmente attraverso il nervo genito-femorale ed il CGRP (C).

Eziopatogenesi

Le cause del criptorchidismo sono molteplici, ma nella maggior parte dei casi non si riscontrano fattori eziologici certi. I fattori di rischio più importanti sono rappresentati dalla prematurità e dal basso peso alla nascita, ma sembrano avere un ruolo anche il diabete in gravidanza ed il fumo.

Si riconoscono cause meccaniche, ormonali, genetiche ed ambientali⁴. Le anomalie anatomiche sono frequenti e includono l'impervietà del canale inguinale, l'ernia inguinale, la brevità del funicolo spermatico. Le cause ormonali sono da ricondurre prevalentemente ad un'ipogonadismo ipogonadotropo, ma non sono frequenti. Tuttavia alcuni Autori sostengono che tutti i bambini criptorchidi abbiano un certo grado di ipogonadismo relativo. Le cause genetiche riguardano mutazioni dei geni che codificano per il recettore degli androgeni, per l'INSL3 o il suo recettore, o anomalie cromosomiche, tra le quali la più frequente è la sindrome di Klinefelter (cariotipo 47,XXY)⁵. Le cause genetiche sono più frequenti nei casi di criptorchidismo bilaterale e non si associano a discesa spontanea dei testicoli dopo la nascita. In generale circa il 5-10% dei casi di criptorchidismo isolato (non associato ad altre anomalie dell'apparato urogenitale) sono da attribuire a cause genetiche. Il criptorchidismo può anche far parte del corteo sindromico di molte malattie genetiche complesse, la cui incidenza è comunque molto bassa. Sono stati ipotizzati diversi fattori ambientali, soprattutto sostanze ad azione estrogenica o anti-androgenica e anti-INSL3, ma attualmente non ci sono chiare prove di un loro ruolo nella patogenesi del criptorchidismo nell'uomo, a differenza di quanto osservato sperimentalmente negli animali da laboratorio.

Tabella 2. Cause principali del criptorchidismo.

Idiopatico

Fattori di rischio maggiori

- Basso peso alla nascita
 - Prematurità
 - Piccolo per età gestazionale (SGA)
-

Cause endocrine

- Ipogonadismo ipogonadotropo (idiopatico, sindrome di Kallmann, altri difetti genetici)
 - Ipogonadismo ipergonadotropo
-

Cause monogenetiche

- Mutazioni del gene INSL3 e del suo recettore (RXFP2)
 - Mutazioni del gene per il recettore degli androgeni
 - Mutazione del gene per il recettore dell'LH
-

Cause cromosomiche e sindromi genetiche complesse

- Sindrome di Klinefelter
- Maschio 46,XX
- Sindrome da insensibilità agli androgeni
- Sindrome di Down
- Sindrome di Noonan
- Sindrome di Beckwith-Wiedemann
- Sindrome di Prader-Willi

- FG syndrome
 - del 22q11.2
 - del 1p36
-

Fattori materni

- Diabete
 - Fumo
 - Alcool
 - Assunzione di sostanze ad attività estrogenica o anti-androgenica in gravidanza
-

Anomalie anatomiche

Diagnosi

La diagnosi è volta soprattutto a differenziare il criptorchidismo dal testicolo mobile, dall'anorchia e dall'ectopia. L'anamnesi e l'esame obiettivo possono abbastanza facilmente individuare il testicolo mobile, testicolo che discende spontaneamente nello scroto e risale nel canale inguinale per effetto della trazione del muscolo cremastere. Nella maggior parte di questi casi non è necessaria nessuna terapia, ma il bambino potrà essere controllato annualmente per assicurarsi che la situazione si regolarizzi spontaneamente e in maniera definitiva all'epoca dello sviluppo puberale.

L'esame obiettivo deve essere eseguito con il bambino rilassato e l'ambiente e la mano del medico dovranno essere caldi, ed è indirizzato all'individuazione della posizione del testicolo, del suo volume e consistenza e della sua mobilità verso il sacco scrotale. Quando non si riesce a palpare il testicolo e quindi bisogna differenziare tra criptorchidismo, ectopia e anorchia congenita, sono necessari ulteriori accertamenti. L'anorchia congenita bilaterale può essere sospettata per la frequente coesistenza di micropene e di marcata ipoplasia dello scroto, e va poi confermata con un test all'hCG che documenta una assente risposta del testosterone. In presenza di un tale comportamento al test con hCG, l'esplorazione chirurgica alla ricerca dei testicoli può essere addirittura considerata superflua. L'esplorazione chirurgica è invece, di regola, determinante per distinguere fra l'agenesia di un solo testicolo ed un criptorchidismo monolaterale completo. Utile come esame di primo livello è anche l'ecografia e solo quando il testicolo non è dimostrabile nemmeno con tale indagine, si può ricorrere alla RMN o, meglio ancora, alla laparoscopia o esplorazione chirurgica.

Solamente in alcuni casi (criptorchidismo bilaterale con testicoli non palpabili, associato o meno ad ipospadia, micropene o genitali ambigui) è necessario un approfondimento endocrinologico e genetico, che include cariotipo, analisi di mutazioni del gene per il recettore degli androgeni, testosterone, LH, FSH, 17-OH-Progesterone, o altre indagini ormonali secondo l'indicazione clinica. Anche i test al GnRH e all'hCG sono necessari solo in una minoranza di casi. L'analisi genetica del gene per il recettore degli androgeni, il gene INSL3 ed il suo recettore possono essere utili ma non vi è ancora accordo sul loro uso di routine. In casi selezionati potranno essere utili altre analisi genetiche in base al sospetto clinico (per esempio analisi dei geni dell'ipogonadismo ipogonadotropo).

Terapia

La correzione del criptorchidismo ha lo scopo di riportare i testicoli nella loro sede fisiologica (la borsa scrotale) soprattutto per prevenire la degenerazione della funzione testicolare, e quindi l'infertilità, e l'insorgenza di tumore testicolare o quanto meno renderne più agevole la diagnosi precoce. Inoltre, il trattamento del testicolo criptorchide previene la possibilità di torsione del testicolo stesso e di traumi testicolari, ed ha anche risvolti psicologici legati alla presenza di uno scroto vuoto. La correzione del criptorchidismo è attualmente raccomandata entro il secondo anno di vita, meglio se entro l'anno e mezzo. La terapia del criptorchidismo può essere farmacologica o chirurgica (orchidopessi).

Diversi schemi terapeutici ormonali che utilizzano GnRH e/o gonadotropine sono utilizzati da diversi decenni, ma permangono controversie sulla loro reale efficacia⁶. Il razionale di tali trattamenti è superare quello stato di lieve ipogonadismo che si osserva spesso, o si sospetta, nei bambini criptorchidi e stimolare la proliferazione e maturazione delle cellule germinali. In questo senso alcuni Autori suggeriscono l'impiego della terapia ormonale anche in quei casi in cui la terapia è comunque chirurgica (localizzazione alta o addominale). Gli schemi terapeutici sono sostanzialmente rappresentati dall'hCG in associazione o meno con hMG e dal GnRH in associazione o meno con hMG. Generalmente si ottiene un successo (testicoli che discendono nello scroto) solo nei casi meno gravi (criptorchidismo monolaterale, in posizione inguinale, palpabile), mentre i casi più gravi (criptorchidismo bilaterale addominale) raramente rispondono a tale trattamento o si osservano frequenti recidive. Le percentuali di successo a lungo termine sono intorno al 15-20% (discesa stabile), senza sostanziali differenze tra i diversi protocolli terapeutici. Ovviamente la terapia ormonale è inefficace nel caso di ectopia testicolare. Studi recenti suggerirebbero addirittura un effetto negativo della terapia con hCG sulla spermatogenesi poiché alcuni studi hanno documentato un incremento di apoptosi delle cellule germinali.

L'intervento chirurgico è considerato il gold standard della terapia del criptorchidismo. L'orchidopessi consiste in una incisione a livello inguinale attraverso la quale si repera il testicolo criptorchide che viene poi posizionato nello scroto, ed ha successo definitivo in più del 95% dei casi con una bassa incidenza (1%) di complicanze. L'intervento è stato proposto anche per via laparoscopia. Soltanto nei casi più complessi in cui il testicolo sia molto distante dallo scroto o nei casi di ectopia testicolare può essere necessario ricorrere a tecniche chirurgiche più complesse o più interventi chirurgici. Indicazione assoluta al trattamento chirurgico è il criptorchidismo dopo insuccesso di terapia ormonale, l'ectopia testicolare e il criptorchidismo associato a patologie del canale inguinale. Le linee guida suggeriscono l'intervento di orchidopessi entro i due anni di età, meglio entro l'anno e mezzo.

FOLLOW UP

Rischio di infertilità

Uomini con storia di criptorchidismo sono frequentemente infertili, ed una storia di criptorchidismo si riscontra in circa il 10% dei soggetti infertili ed il 20% di quelli azoospermici. Generalmente i danni alla spermatogenesi sono più gravi nelle forme di criptorchidismo bilaterale e addominale. Tuttavia, anche nei casi di criptorchidismo monolaterale ci può essere un danno spermatogenetico nel testicolo controlaterale. In media, circa il 70-80% dei soggetti con criptorchidismo bilaterale ed il 40-50% dei soggetti con criptorchidismo monolaterale presenta una oligozoospermia o azoospermia.

L'età all'orchidopessi ha un'influenza sul successivo deterioramento della spermatogenesi, soprattutto nelle forme monolaterali. Infatti, la malposizione testicolare induce precoci e pro-

gressivi danni all'epitelio seminifero secondari a diversi fattori, tra i quali la più elevata temperatura rispetto alla sede fisiologica scrotale. Tuttavia, anche un'orchidopessi precoce, seppur in grado di ridurre il rischio di infertilità, non lo annulla.

Secondo queste considerazioni è utile informare i soggetti con criptorchidismo (e i familiari) circa il rischio di infertilità in età adulta ed eseguire controlli periodici del liquido seminale dai 16-18 anni, con eventuale crioconservazione dello stesso prima che il danno progressivo spermatogenetico sia definitivo.

Rischio di tumore testicolare

Il criptorchidismo rappresenta uno dei principali fattori di rischio per il tumore del testicolo, essendo il rischio relativo 4-5 volte superiore rispetto alla popolazione generale. Le due patologie vengono da alcuni Autori associate nella sindrome della disgenesia testicolare che prevede che fattori genetici e ambientali inducano un alterato sviluppo della gonade durante la vita fetale che si manifesta appunto con criptorchidismo alla nascita associato o meno ad una ipospadia ed infertilità e tumore del testicolo in età adulta. Questa ipotesi è supportata da evidenze epidemiologiche, ma senza chiari elementi patogenetici comuni, e dall'evidenza che il tumore del testicolo si può sviluppare anche nel testicolo controlaterale nei casi di criptorchidismo monolaterale. Un'altra ipotesi è che il tumore del testicolo sia in realtà una conseguenza diretta del criptorchidismo. A sostegno di questa ipotesi sta l'evidenza che l'orchidopessi precoce riduce, anche se non annulla, il rischio di carcinogenesi.

Per queste considerazioni è utile eseguire un follow up dei soggetti con storia di criptorchidismo tenendo presente che il tumore del testicolo ha un picco di incidenza tra i 15 e i 40 anni. In tal senso può essere utile informare i ragazzi ex-criptorchidi (e i familiari) circa l'utilità dell'autopalpazione dei testicoli ed eseguire controlli clinici periodici (visita, ecografia testicolare) con cadenza annuale.

Bibliografia

1. Boisen KA, Kaleva M, Main KM, Virtanen HE, Haavisto AM, Schmidt IM, Chellakooty M, Damgaard IN, Mau C, Reunanen M, Skakkebaek NE, Toppari J. Difference in prevalence of congenital cryptorchidism in infants between two Nordic countries. *Lancet*. 2004; 363:1264-1269.
2. Cortes D, Kjellberg EM, Breddam M, Thorup J. The true incidence of cryptorchidism in Denmark. *J Urol*. 2008; 179:314-318.
3. Virtanen HE, Toppari J. Epidemiology and pathogenesis of cryptorchidism. *Hum Reprod Update*. 2008; 14:49-58.
4. Foresta C, Zuccarello D, Garolla A, Ferlin A. Role of hormones, genes, and environment in human cryptorchidism. *Endocr Rev*. 2008; 29:560-580.
5. Ferlin A, Zuccarello D, Zuccarello B, Chirico MR, Zanon GF, Foresta C. Genetic alterations associated with cryptorchidism. *JAMA*. 2008; 300:2271-2276.
6. Ritzén EM. Undescended testes: a consensus on management. *Eur J Endocrinol*. 2008; 159 Suppl 1:S87-90.

5.3 AZOOSPERMIA OSTRUTTIVA

Con il termine di azoospermia si definisce l'assenza di spermatozoi nel liquido seminale dopo centrifugazione dell'intero campione. Questa condizione può essere legata ad una ridotta o assente produzione di cellule spermatiche da parte del testicolo (Azoospermia secretoria) o a difficoltà nell'emissione degli spermatozoi attraverso le vie seminali (Azoospermia ostruttiva). La valutazione dei volumi testicolari mediante esame obiettivo genitale ed i dosaggi ormonali, in particolare dell'FSH e dell'inibina B, permettono di orientarsi inizialmente tra le due diverse eziologie: l'ipotrofia testicolare bilaterale associata ad elevati livelli di FSH e bassi livelli di inibina B suggerisce la presenza di una testicolopatia primitiva e quindi di un danno spermatogenetico; il riscontro di normali volumi testicolari, con normali livelli di FSH, invece, orientano verso una forma ostruttiva. La diagnosi deve poi essere sempre confermata dall'esame citologico/istologico testicolare.

L'azoospermia ostruttiva è presente in circa il 15% dei maschi infertili, percentuale che incrementa ulteriormente nelle casistiche selezionate di pazienti afferenti a reparti di Urologia. L'ostruzione può essere di natura meccanica o funzionale, congenita o acquisita (Tabella 1).

Tabella 1

	CONGENITE	ACQUISITE
FORME MECCANICHE		
Epididimo	- CBAVD - Sindrome di Young	- Infezioni - Traumi - Chirurgia inguino-scrotale
Vasi deferenti	- CBAVD/CUAVD	- Chirurgia (Vasectomia, ernia inguinale)
Dotti eiaculatori	- Cisti di Muller - Cisti dell'utricolo prostatico - Cisti delle vescicole seminali - Malformazioni	- Infezioni (uretro-prostatiti)
FORME FUNZIONALI		
	- Rene policistico	-Neuropatia (Diabete mellito, Sclerosi multipla) - deficit fase emissione - deficit fase eiaculazione

Forme meccaniche

Le ostruzioni meccaniche possono coinvolgere sia le vie seminali intratesticolari che quelle extratesticolari (epididimo, vasi deferenti, dotti eiaculatori).

Ostruzioni intratesticolari

Le forme intratesticolari rappresentano circa il 15% delle azoospermie ostruttive¹ ed includono forme congenite rare, da mancata continuità tra rete testis e duttuli efferenti, e le più frequenti forme acquisite, secondarie a processi infiammatori o traumi e spesso associate ad ostruzioni epididimali e deferenziali.

Ostruzioni epididimali

Le ostruzioni epididimali rappresentano la causa più comune di ostruzione, interessando il 30-67% dei soggetti azoospermici^{1,4}. Le forme congenite solitamente si manifestano come CBAVD, con mancato sviluppo del corpo e della coda epididimale, associata ad atresia più o meno completa del deferente e delle vescicole seminali. Una delle condizioni più frequentemente associate a CBAVD è la fibrosi cistica. Nel 60-80% dei pazienti affetti da assenza bilaterale congenita dei vasi deferenti (CBAVD) tale quadro è legato a mutazioni nel gene CFTR⁵, anche in assenza di altri sintomi clinici tipici della fibrosi cistica. Una particolare mutazione associata alla CBAVD è chiamata "allele 5T" (il normale allele ha 7T o 9T nucleotidi nell'introne 8), che causa la mancata trascrizione dell'esone 9 e bassi livelli di espressione della proteina CFTR (vedi capitolo 3). Altre rare forme congenite di ostruzione epididimale sono rappresentate dalla disgiunzione duttili efferenti/epididimo e dall'agenesia o atresia di piccoli tratti dell'epididimo.

Nella Sindrome di Young, pur in presenza di normale motilità ciliare, gli epididimi vengono ostruiti da materiale viscoso, analogamente a quanto accade a livello delle vie respiratorie, interessate da infezioni ricorrenti⁶.

Le forme ostruttive acquisite epididimali più frequenti sono rappresentate dalle epididimiti acute (da gonococco) o subcliniche (Clamydia)^{7,8}, dalle forme post-traumatiche e dalle forme post-chirurgiche (rimozione di cisti epididimali), che causano fibrosi e quindi ostruzione del tubulo epididimale.

Ostruzioni dei vasi deferenti

La più comune forma di ostruzione deferenziale congenita è l'assenza congenita bilaterale dei vasi deferenti (CBAVD), conseguente a mutazione del gene CFTR. Tuttavia anche l'agenesia monolaterale dei deferenti (CUAVD) può essere associata a mutazioni di questo gene e si associa ad anomalie dei dotti seminali controlaterali o ad agenesia renale rispettivamente nell'80% e nel 26% dei casi⁹. La prevalenza di mutazioni CFTR nei soggetti infertili non CUAVD/CBAVD è leggermente più elevato rispetto alla popolazione generale (6% vs 4%).

Le forme acquisite solitamente sono conseguenti ad interventi di vasectomia eseguiti a scopo contraccettivo^{10,11} o a danno tubulare epididimale durante interventi di ricanalizzazione, ma possono anche essere causati da un danno accidentale durante interventi chirurgici a livello inguinale, come in caso di legatura involontaria durante erniotomia^{12,13}, orchidopessi, varicocelesectomia o vescicoldeferentografia.

Ostruzione dei dotti eiaculatori

L'ostruzione dei dotti eiaculatori è presente in circa l'1-3% delle azoospermie ostruttive¹. Le forme congenite sono solitamente rappresentate da processi espansivi di tipo cistico che si sviluppano in sede intraprostata (cisti di Muller, cisti del seno urogenitale/del dotto eiaculatore o cisti del tubercolo prostatico) o a livello delle vescichette seminali, determinando una compressione sui dotti eiaculatori. Raramente possono essere legate a malformazioni più complesse, che determinano lo sbocco completo dei dotti all'interno di cisti non comunicanti con l'uretra.

Le forme acquisite generalmente sono di natura flogistica, legate ad infezioni uretro-prostatiche¹⁴, che nell'anziano sono più spesso causate da batteri patogeni delle vie urinarie, come E. Coli, mentre nel giovane sono solitamente legate a batteri implicati in infezioni sessualmente trasmesse, come la Clamydia o il Gonococco.

Forme funzionali

L'azoospermia ostruttiva può anche essere conseguente ad anomalie nella fase di emissione o eiaculazione degli spermatozoi. Tali forme raramente sono associate a malformazioni congenite,

come il rene policistico; più spesso l'aneiaculazione o l'eiaculazione retrograda si presentano in soggetti affetti da neuropatia¹⁵, come nei diabeti giovanili o nella sclerosi multipla.

DIAGNOSI

Anamnesi

Nella storia del paziente vanno indagati gli elementi ed i sintomi potenzialmente associati a quadri infettivi/infiammatori pregressi o in atto, come l'emospermia, il dolore post-eiaculatorio, i sintomi urinari irritativi e le pregresse uretriti o prostatiti, e le possibili cause ostruttive iatrogene, legate a pregressi interventi chirurgici in sede inguino-scrotale.

Esame obiettivo

Il sospetto di azoospermia ostruttiva deve essere posto in presenza di volume testicolare normale (è sufficiente anche un unico volume >15ml), associato o meno ad epididimii ingranditi, in toto o a livello di tumefazioni palpabili, di vaso deferente non palpabile, di segni clinici di uretrite o prostatite (ghiandola prostatica ingrossata e dolente alla palpazione durante esplorazione rettale).

Esame seminale

In base ai criteri WHO la diagnosi di azoospermia deve essere confermata su due campioni seminali, raccolti a distanza di 2 o 3 mesi l'uno dall'altro ed esaminati anche dopo centrifugazione.

Livelli di pH acidi (<7.2), in associazione ad una ipoposia, indicano la prevalenza della componente prostatica per compromissione delle vescichette seminali, pertanto possono essere segno di ostruzione o agenesia dei dotti eiaculatori.

Livelli di pH basici (>8) indicano la prevalenza della componente vescicolare per compromissione prostatica da verosimile causa flogistica.

In caso di azoospermia con marcata ipoposia va esclusa la presenza di eiaculazione retrograda, per la cui diagnosi è necessario ricercare gli spermatozoi nel sedimento delle urine raccolte dopo l'eiaculazione. L'assenza di spermatozoi anche in tale sede, oltre che nel liquido seminale, orienta verso una probabile ostruzione.

Dosaggi ormonali

Livelli normali di FSH sono sempre presenti nelle forme ostruttive di azoospermia, ma non escludono alcune particolari forme secretorie, come le azoospermie causate da blocco completo della spermatogenesi a livello spermatidico, nelle quali viene mantenuto il normale feed-back negativo sulla secrezione ipofisaria di FSH. Nell'indirizzare la diagnosi può essere di aiuto il dosaggio dell'inibina B, che, se normale, ha un alto valore predittivo nell'individuare i casi di spermatogenesi normale⁴.

Ecografia

L'ecografia scrotale offre una stima precisa dei volumi testicolari e della struttura parenchimale testicolare, inoltre permette di individuare facilmente eventuali segni di ostruzione come la congestione della rete testis, presenza di lesioni cistiche, l'ingrandimento degli epididimi o loro anomalie di sviluppo. Nel sospetto di una forma ostruttiva di azoospermia, è di fondamentale importanza completare la valutazione ecografica con l'esplorazione delle vie seminali extratesticolari, della prostata e delle vescichette seminali. Tale esame, infatti, consente di diagnosticare eventuali anomalie o malformazioni congenite (CBAVD/CUAVD)

o acquisite (cisti) a carico dei vasi deferenti o dei dotti eiaculatori o delle vescichette seminali, responsabili della mancata emissione delle cellule spermatiche.

Esame citologico su agoaspirato testicolare

Circa il 40% dei soggetti affetti da azoospermia secretoria ha livelli normali di FSH, quindi il dosaggio dell'FSH, anche in associazione all'ecografia testicolare, non permette una diagnosi differenziale del tutto certa tra forme ostruttive e forme secretorie di azoospermia. Sulla base di tali considerazioni, in tutti i casi di azoospermia è indicata l'esecuzione di un esame citologico su agoaspirato testicolare, allo scopo di definire in maniera certa l'eziologia dell'alterazione seminale ed individuare la strategia terapeutica più idonea. La presenza della normale linea maturativa spermatica è indubbia espressione di un quadro ostruttivo e pone indicazione al recupero degli spermatozoi, mediante aspirazione percutanea o microchirurgica epididimale (PESA, MESA) o mediante aspirazione od estrazione spermatica da testicolo (TESA, TESE e microTESE), da crioconservare per un eventuale utilizzo tramite tecniche di fecondazione assistita. Infine nelle forme di ostruzione acquisita extratesticolare può essere indicato il ricorso a procedure chirurgiche di ricanalizzazione (vedi capitolo 6).

Bibliografia

1. Hendry WF. Azoospermia and surgery for testicular obstruction. In: Hargreave tB (ed). *Male Infertility*. Berlin: Springer-Verlag, 1997, pp. 319-336.
2. Hendry WF, Parslow JM, Stedronska J. Exploratory scrototomy in 168 azoospermic males. *Br J urol* 1983; 55(6):785-791.
3. Jequier AM. obstructive azoospermia: a study of 102 patients. *Clin Reprod Fertil* 1985; 3(1):21-36.
4. Pierik FH, Vreeburg Jt, Stijnen t, de Jong FH, Weber rF. Serum inhibin B as a marker of spermatogenesis. *J clin Endocrinol Metab* 1998; 83(9):3110-3114.
5. Oates rd, Amos JA. the genetic basis of congenital bilateral absence of the vas deferens and cystic fibrosis. *J Androl* 1994; 15(1):1-8.
6. Handelsman DJ, Conway AJ, Boylan LM, turtle Jr. Young's syndrome: obstructive azoospermia and chronic sinopulmonary infections. *New Engl J Med* 1984; 310(1):3-9.
7. Silber SJ, Grotjan HE. Microscopic vasectomy reversal 30 years later: a summary of 4010 cases by the same surgeon. *J Androl* 2004; 25(6):845-859.
8. Schoysman R. Vaso-epididymostomy - a survey of techniques and results with considerations of delay of appearance of spermatozoa after surgery. *Acta Eur Fertil* 1990; 21(5):239-245.
9. Schlegel PN, Shin D, Goldstein M. Urogenital anomalies in men with congenital absence of the vas deferens. *J Urol* 1996;155(5):1644-8.
10. Raleigh D, O'Donnell L, Southwick GJ, de Kretser DM, McLachlan RI. Stereological analysis of the human testis after vasectomy indicates impairment of spermatogenic efficiency with increasing obstructive interval. *Fertil Steril* 2004; 81(6):1595-1603.
11. McVicar CM, O'Neill DA, McClure N, Clements B, McCullough S, Lewis SEM. Effects of vasectomy on spermatogenesis and fertility outcome after testicular sperm extraction combined with ICSI. *Hum reprod* 2005; 20(10): 2795-2800.
12. Sheynkin YR, Hendin BN, Schlegel PN, Goldstein M. Microsurgical repair of iatrogenic injury to the vas deferens. *J urol* 1998; 159(1):139-141.
13. Borovikov A. Treatment of large vasal defects. In: Goldstein M (ed). *Surgery of Male Infertility*. Philadelphia: WB Saunders, 1995, pp. 77-95.
14. Schroeder-Printzen I, Ludwig M, Kohn F, Weidner W. Surgical therapy in infertile men with ejaculatory duct obstruction: technique and outcome of a standardized surgical approach. *Hum reprod* 2000; 15(6):1364-1368.
15. Colpi GM, Casella F, Zanollo A, Ballerini G, Balerna M, Campana A, Lange A. Functional voiding disturbances of the ampullo-vesicular seminal tract: a cause of male infertility. *Acta Eur Fertil* 1987; 18(3):165-179.

5.4 INFEZIONI DELLE GHIANDOLE SESSUALI ACCESSORIE MASCHILI (MAGI)

INTRODUZIONE

Le infezioni delle ghiandole uro-genitali maschili (male accessory gland infections, MAGI) sono piuttosto diffuse, sebbene l'esatta incidenza delle varie forme cliniche nell'infertilità maschile non sia nota. Esse rappresentano un evento clinico importante sia dal punto di vista epidemiologico che dal punto di vista clinico data la difficoltà nel trattamento, la varietà degli agenti eziologici, la diversità dei siti di infezione e le complicanze correlate.

Le infezioni possono colpire vari tratti del sistema genito-urinario maschile e possono essere classificate in complicate o non complicate a seconda che interessino solo la regione uretrale e prostatica (prostatiti) o si estendano anche a più ghiandole sessuali accessorie (prostato-vescicoliti, prostato-vescicolo-epididimiti, epididimo-orchiti)¹.

Le MAGI possono presentarsi in forma acuta (in una bassa percentuale di casi) od avere un esordio subdolo con decorso per lo più cronico, subclinico, paucisintomatico o asintomatico. I siti di infezione anatomicamente più rilevanti sono la prostata, la vescica, le vescichette seminali, i dotti deferenti, l'uretra peniena, il bulbo uretrale, gli epididimi e i testicoli. Importante da sottolineare è l'estrema facilità con la quale le infezioni che colpiscono un tratto dell'apparato genito-urinario si trasmettono ad altre sedi vicine per contiguità.

Gli agenti eziologici principali in causa nelle infezioni del tratto genito-urinario sono principalmente batteri Gram-negativi (E. Coli, Proteus, Enterococchi e Serratia), Gram positivi (Stafilococchi e Micobatteri tubercolari) e batteri intracellulari (Clamidia Trachomatis e Ureaplasma Urealyticum). Anche alcuni virus, sebbene più raramente, possono interessare questi distretti e fra di essi i più frequenti sono gli Adenovirus, gli Herpesvirus umani ed il Papillomavirus. Infine, non ultimi per frequenza, alcuni miceti come Candida Albicans².

Esistono almeno due definizioni convenzionali delle infezioni del tratto urogenitale, risultato di studi paralleli di ricerca. Secondo la WHO¹ le MAGI devono rispondere a precisi criteri diagnostici. Tali criteri sono la presenza di una o più alterazioni dei principali parametri seminali (oligo, asteno e/o teratospermia) associate alla combinazione di due o più dei seguenti fattori:

Fattore A: anamnesi positiva per infezione urogenitale, infezione sessualmente trasmessa e/o presenza di alterazioni post-flogistiche all'esame obiettivo didimo-epididimario e/o della regione prostato-vescicolare alla esplorazione rettale;

Fattore B: segni citologici e/o microbiologici di infezione e/o infiammazione sul secreto ottenuto dopo massaggio prostatico;

Fattore C: segni di infezione dell'eiaculato (leucocitospermia $>1 \times 10^6/\text{ml}$; spermiocoltura positiva per significativa presenza di batteri patogeni; alterazioni delle proprietà chimico-fisiche e/o biochimiche del plasma seminale).

Prostatiti

Le prostatiti rappresentano la terza patologia della prostata in ordine di importanza, dopo il carcinoma e l'ipertrofia prostatica benigna. La prevalenza delle prostatiti nella popolazione adulta occidentale è del 5-9%³. Le prostatiti, più modernamente interpretate come "sindromi prostatiche", comprendenti sindromi flogistiche delle basse vie urinarie (LUTS), sono diagnosticabili attraverso l'anamnesi, la sintomatologia (pollachiuria, difficoltà del mitto, dolore durante la minzione) e l'esame colturale del secreto prostatico e/o del mitto urinario.

Secondo l'NIH Chronic Prostatitis Collaborative Research Network, che ha prodotto la classificazione NIDDK/NIH del 1995, pubblicata da Krieger nel 1999⁴, le prostatiti vengono classificate in:

- Infezioni della prostata acute (categoria I) e croniche (categoria II);
- Flogosi della prostata (categoria IIIa) sintomatiche (LUTS) o senza sintomi;
- Sintomi/segni di laboratorio riconducibili alla prostata con flogosi (categoria IV) o senza flogosi (categoria IIIb) (Tabella 1).

Tabella 1: Classificazione, frequenza e caratteristiche principali delle prostatiti

Categoria	Denominazione	Frequenza (%)	Caratteristiche
I	Prostatite acuta batterica	1-5	Infezione acuta (sub-ascenso) della ghiandola prostatica
II	Prostatite cronica batterica	5-10	Infezione ricorrente del tratto urinario
III	Prostatite cronica abatterica Sindrome del dolore pelvico cronico (CPPS)		Infezione della prostata non dimostrabile Disconforto meccanico di svuotamento Dolore nella regione pelvica (da almeno tre mesi) Sintomi sessuali
IIIa	Infiammatoria	40-65	Leucociti elevati: a. Nell'eiaculato; b. dopo massaggio prostatico. c. nella terza frazione del mitto (test di Stamey)
IIIb	Non infiammatoria	20-40	Se leucociti normali in a., b. e c.
IV	Prostatite asintomatica (o prostatite istologica)		Occasionale evidenza di infiammazione prostatica dopo: 1. Biopsia prostatica 2. Spermioγραμμα 3. Test di Stamey

Le prostatiti vengono distinte in acute e croniche in base alla durata dei sintomi. Le forme croniche sono caratterizzate dalla persistenza dei sintomi da almeno 3 mesi e si manifestano con dolore, specie post-eiaculatorio, che può localizzarsi in sede perineale (46%), scrotale e/o testicolare (39%), peniena (6%), vescicale (6%), sovrappubica (2%) e/o con

disturbi disurici (6%)⁴. Nelle forme acute i pazienti riferiscono sintomi di tipo disurico accompagnati a dolore lombare e/o perineale e possono presentare anche segni di batteriemia fino ad una conclamata sepsi con febbre e sintomi generali.

Molto spesso le prostatiti che si presentano al clinico sono di origine abatterica o sono cronicizzazioni di prostatiti batteriche non trattate. In questo caso la diagnosi non è agevole e la presenza di una prostatite viene solo ipotizzata nel caso si rinvenga un alto numero di leucociti nel secreto prostatico o nel liquido seminale, o in seguito ad un esame ecografico⁵.

Nelle prostatiti acute di origine batterica la diagnosi, al contrario delle forme croniche, è relativamente agevole e relativamente semplice è il trattamento con antibiotici e farmaci sintomatici. Gli agenti eziologici più frequentemente in causa sono ceppi di *Escherichia Coli*; più raro il riscontro di germi Gram-positivi come *C. Trachomatis*⁶ e *Mycoplasmi*, specialmente *Ureaplasma Urealyticum*.

Il test diagnostico per eccellenza che consente di identificare anche prostatiti asintomatiche, infiammatorie e non infiammatorie è il Test di Stamey: si tratta di un test frazionato delle basse vie urinarie in cui vengono raccolti tre campioni di urine del paziente in diverse condizioni. La prima raccolta è rappresentata dai primi 10 ml di urine raccolte al mattino, che può evidenziare eventuali microrganismi presenti a livello dell'uretra; la seconda raccolta è costituita dal mitto intermedio e può mettere in luce microrganismi presenti nella vescica. Infine la terza raccolta avviene dopo e/o durante l'esecuzione del massaggio prostatico che consiste nell'esercitare una leggera pressione sulla prostata, muovendosi dai margini laterali alla porzione centro-apicale della ghiandola: durante tale procedura può avvenire la fuoriuscita di poche gocce di secrezioni prostatiche che vengono raccolte per essere sottoposte ad analisi microbiologiche e colturali. La positività del terzo campione, in caso di negatività dei primi, è in genere indicativa di infezione di origine prostatica; qualora tutti i campioni siano positivi, si sospetta una prostatite se la carica batterica dell'ultimo è almeno dieci volte superiore a quella misurata nel mitto iniziale e nel mitto intermedio. Dal punto di vista diagnostico, quindi, i reperti microbiologici sono importanti per un corretto inquadramento della patologia.

L'analisi del liquido seminale consente di chiarire l'estensione del processo infettivo/infiammatorio nel contesto delle ghiandole sessuali accessorie e fornisce informazioni riguardo la qualità seminale. Generalmente la presenza di un alto numero di globuli bianchi perossidasi-positivo è indicativo di un processo infiammatorio: in tali casi è indicato effettuare una coltura per i comuni patogeni del tratto urinario, specialmente batteri Gram-negativi. Tuttavia il significato clinico di un'augmentata concentrazione di globuli bianchi nel liquido seminale appare controverso⁷; solo un'alta concentrazione di leucociti (specialmente se si tratta di granulociti neutrofili) e di loro prodotti (ad esempio elastasi leucocitaria) appare indicativa di infezione.

Il ruolo delle prostatiti croniche nel determinare alterazioni numeriche e morfologiche degli spermatozoi è tuttora controverso e gli studi ad oggi disponibili non sono risultati conclusivi⁸⁻¹⁰. Talvolta è possibile riscontrare un aumento delle specie reattive dell'ossigeno nelle prostatiti croniche¹¹: tuttavia il significato biologico di tale reperto rimane sconosciuto.

In caso di sospetta prostatite è utile eseguire anche uno studio ecodoppler per via transrettale della prostata e delle vie seminali che potrà evidenziare una ghiandola ipervascolarizzata, tumefatta ed aumentata di volume (reperti suggestivi per prostatite acuta) o ipoecogenicità diffusa, strie iperecogene e macrocalcificazioni del parenchima suggestivi di prostatite cronica.

Generalmente il trattamento delle infezioni, anche a carico dell'apparato uro-genitale, segue le indicazioni fornite dall'antibiogramma. La scelta del farmaco più idoneo si basa sulla determinazione della sensibilità o resistenza, sulla minima concentrazione inibente (MIC) indicata ed, infine, sulla capacità dell'antibiotico di raggiungere il distretto indicato in concentrazioni utili.

Per le prostatiti acute non gravi ci si avvale dei chinolonici a dosi standard, mentre nel caso di forme croniche o più gravi sono indicati i fluorochinolonici oppure il trimetoprim-sulfametoss-

zolo per 2-4 settimane associato o meno a terapia antiflogistica a base di FANS o acido acetilsalicilico e antiossidanti¹².

Prostato-vescicoliti e prostato-vesciculo-epididimiti

Spesso le infezioni della prostata possono estendersi per contiguità alle vescichette seminali e/o all'epididimo. In questi casi si possono più frequentemente avere alterazioni del liquido seminale fino ad una grave oligozoospermia¹³. Spesso tali patologie possono rappresentare serie problematiche cliniche: in particolare, in casi in cui la diagnosi di vesciculite sia basata su evidenze ultrasonografiche (contemporanee alterazioni post-flogistiche a carico della prostata e delle vescicole seminali) è stato riportato che in pazienti con prostato-vesciculite la sintomatologia clinica (tenesmo perineale, spermatorrea, dolenzia funicolare, emospemia) spesso non si associava né a risultati positivi nella spermiocoltura né a leucocitospermia e che le alterazioni ecostrutturali riscontrate potevano non correlare con il grado della sintomatologia cioè si dimostravano più severe dei sintomi¹³.

Il trattamento delle prostato-vescicoliti e prostato-vesciculo-epididimiti si avvale degli stessi presidi terapeutici delle prostatiti.

Orchiti ed orchiepididimiti

L'orchite è una lesione infiammatoria del testicolo associata ad essudato leucocitario interno ed esterno ai tubuli seminiferi, che può potenzialmente esitare in sclerosi tubulare. Il sintomo usuale è rappresentato dal dolore locale. L'insulto infiammatorio cronico dei tubuli seminiferi altera il normale processo spermatogenetico e può portare, se non riconosciuto o adeguatamente trattato, ad arresto spermatogenetico e/o atrofia testicolare. L'orchite parotitica in età puberale o post-puberale può ugualmente portare ad atrofia testicolare bilaterale con conseguente azoospermia.

Le orchiepididimiti possono essere primitive o secondarie ad una prostatite o ad una uretrite batterica. Solitamente sono monolaterali ma possono interessare anche entrambi i testicoli e gli annessi. Dal punto di vista sintomatologico possono presentarsi con dolore e tumefazione della parte interessata ma anche decorrere in maniera assolutamente asintomatica; talvolta l'infezione dalla sede primitiva può estendersi fino a dare una deferentite o una funicolite. Negli uomini adulti giovani (< 35 anni) è più frequente che l'agente responsabile sia la *Clamidia Trachomatis* e nell'anamnesi di questi pazienti sono spesso presenti disuria, gemizio uretrale, bruciori all'eiaculazione, urinocoltura positiva (presenti talvolta anche nella partner) oltre che torsioni del funicolo (queste ultime sembrano creare un substrato infiammatorio edemigeno nel quale le infezioni proliferano)^{14, 15}. Negli uomini al di sopra dei 35 anni molto più spesso l'infezione è causata da *Escherichia Coli*, che può provocare anche cistiti o uretriti asintomatiche e di scarsa rilevanza clinica. Spesso tale infezione è provocata da contaminazione dell'uretra peniena da parte dei batteri provenienti dal retto. La modalità di infezione spesso rimane ignota viste le molteplici possibilità a riguardo (scarsa igiene, contaminazione diretta, patologie infiammatorie colitiche, patologie rettali) e negli anziani può essere secondaria anche ad interventi chirurgici prostatici. Quando sintomatica l'infezione da *E. Coli* è facilmente riscontrabile e di agevole trattamento con i comuni antibiotici del tratto urinario, molto spesso decorre asintomatica ed il riscontro diventa occasionale nell'ambito di controlli routinari o eseguiti per altre cause di pertinenza urologica. In quest'ultimo caso si tratta, in genere, di infezioni lievi con scarsa carica batterica ma che tuttavia permangono a livello urinario per lunghi periodi e possono trasmettersi anche alle strutture contigue¹⁶. Nel trattamento delle orchiepididimiti in generale gli antibiotici più indicati sono le tetracicline, cefalosporine, fluorochinoloni o macrolidi, tutti in associazione con antiinfiammatori.

Epididimiti

L'infiammazione dell'epididimo (epididimiti) viene usualmente sospettata per la presenza di dolore locale acuto. Anche in questo caso nei soggetti sessualmente attivi l'infezione è spesso causata da *C. Trachomatis* o *N. Gonorrhoea* mentre nei maschi anziani è frequentemente associata ad infezioni del tratto urinario e dovuta a batteri Gram-negativi quali *E. Coli*.

Nell'epididimite acuta l'infiammazione solitamente inizia alla coda dell'epididimo e diffonde al resto della via seminifera e talvolta al testicolo omolaterale determinando, in quest'ultimo caso, un'orchite di basso grado che può portare ad una temporanea diminuzione della qualità seminale (oligoastenozoospermia).

L'eziologia dell'epididimite è facilmente identificabile attraverso una coltura del mitto urinario e del liquido seminale: frequente la presenza di leucocitospermia.

E' indicato iniziare subito un'adeguata antibioticoterapia senza attendere i risultati colturali; gli antibiotici indicati sono tetracicline, cefalosporine, fluorochinolonici o macrolidi. Lo scopo della terapia è la cura microbiologica dell'infezione, il miglioramento dei sintomi e segni clinici, la prevenzione di potenziali danni testicolari ed altre complicazioni (come infertilità e dolore pelvico cronico). Durante il follow-up di una epididimite particolare attenzione dovrà essere posta ad identificare tali possibili complicanze ed in particolare un deterioramento della qualità seminale che potrebbe evolvere in azoospermia e la stenosi degli stessi epididimi. Ai pazienti con epididimite nota o sospetta sessualmente attivi andrebbe consigliato di far eseguire alla partner un'adeguata valutazione microbiologica mediante tampone vaginale con eventuale trattamento in caso di positività¹⁷.

Uretriti

Le uretriti possono essere causate da vari agenti patogeni, più frequentemente *C. Trachomatis*, *U. Urealyticum* e *N. Gonorrhoeae*. Cause non infettive di uretriti sono rappresentate da irritazioni locali a seguito di reazioni allergiche, traumi e manipolazioni iatrogene.

La diagnosi si basa sull'analisi microbiologica del mitto urinario iniziale: patognomonico è il rilievo di più di 4 granulociti campo ad alto ingrandimento (x1000) o di più di 15 granulociti per campo microscopico (x400) all'analisi del sedimento urinario ed il rilievo dell'infezione all'urinocoltura¹⁸. L'impatto delle uretriti sulla funzione seminale non può essere indagato poiché l'eiaculato viene contaminato dal passaggio nell'uretra contaminata dall'infezione.

Poiché l'eziologia dell'uretrite al momento della diagnosi è per lo più sconosciuta, è suggerito iniziare una terapia empirica contro i potenziali agenti patogeni. Lo schema terapeutico maggiormente utilizzato ed efficace sia contro le infezioni gonococciche che contro quella da micoplasmi è una singola dose di fluorochinolonico seguito da doxiciclina per 2 settimane.

Bibliografia

1. World Health Organization-WHO. Manual for the standardized investigation and diagnosis of the infertile couple. 1993; Cambridge University Press.
2. Workshop Committee of the National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Disease (NIDDK). Chronic prostatitis Workshop. 1995; Bethesda, MD, USA.
3. Weidner W, Krause W, Ludwig M. Relevance of male accessory gland infection for subsequent fertility with special focus on prostatitis. *Hum Reprod Update* 1999; 5(5): 421-432.
4. Krieger JN, Nyberg L Jr, Nickel JC. Letter to the editor: NIH consensus definition and classification of prostatitis. *JAMA* 1999; 282: 236-237.
5. Zermann DH, Ishigooka M, Doggweiler R, Schmidt RA. Neurourological insight into the etiology of genitourinary pain in men. *J Urol* 1999; 161(3): 903-908.
6. Taylor-Robinson D. Evaluation and comparison of tests to diagnose *Chlamydia Trachomatis* genital infections. *Hum Reprod* 1997; 12 (suppl 11): 113-120.
7. Aitken RJ, Baker HW. Seminal leukocytes: passengers, terrorists or good samaritans? *Hum Reprod* 1995; 10(7): 1736-1739.
8. Giamarellou H, Tympanidis K, Bitos NA, Leonidas E, Daikos GK. Infertility and chronic prostatitis. *Andrologia* 1984; 16(5): 417-422.
9. Christiansen E, Tollefsrud A, Purvis K. Sperm quality in men with chronic abacterial prostatovesiculitis verified by rectal ultrasonography. *Urology* 1991; 38(6): 545-549.
10. Leib Z, Bartoov B, Eltes F, Servadio C. Reduced semen quality caused by chronic abacterial prostatitis: an enigma or reality? *Fertil Steril* 1994; 61(6): 1109-1116.
11. Depuydt CE, Bosmans E, Zalata A, Schoonjans F, Comhaire FH. The relation between reactive oxygen species and cytokines in andrological patients with or without male accessory gland infection. *J Androl* 1996; 17(6): 699-707.
12. Vicari E, La Vignera S, Battiato C, Arancio A. Treatment with non steroidal anti-inflammatory drugs in patients with amicrobial chronic prostatitis-vesiculitis: transrectal ultrasound and seminal findings. *Minerva Urol Nefrol* 2005; 57(1): 53-59.
13. Purvis K, Christiansen E. Infection in the male reproductive tract. Impact, diagnosis and treatment in relation to male infertility. *Int J Androl* 1993; 16: 1-13.
14. Vigil E. *Chlamydia Trachomatis* infection in male partners of infertile couples: incidence and sperm function. *Andrologia* 2000; 34: 155-161.
15. Hosseinzadeh S, Eley A, Pacey AA. Semen quality of men with asymptomatic chlamydial infection. *J Androl* 2004; 25: 104-110.
16. Weidner W, Schiefer HG, Krauss H, Jantos C, Friedrich HJ, Altmannsberger M. Chronic prostatitis: a through search for etiologically involved microorganism in 1,461 patients. *Infection* 1991; 19(3): S119-S125.
17. Robinson AJ, Grant JB, Spencer RC, Potter C, Kinghorn GR. Acute epididymitis: why patient and consort must be investigated. *Br J Urol* 1990; 66(6): 642-645.
18. Schiefer HG. Microbiology of male urethroadnexitis. Diagnostic procedures and criteria for aetiologic classification. *Andrologia* 1998; 30(suppl 1): 7-13.

6. L'approccio terapeutico al maschio infertile

Negli ultimi anni l'apporto clinico-sperimentale di diverse discipline mediche ha chiarito molti aspetti fisiologici e fisiopatologici della funzione riproduttiva maschile; tali conoscenze hanno definitivamente stabilito che la diagnosi di infertilità maschile non può basarsi solo sull'esecuzione dello spermioγραμμα, poiché le alterazioni dei parametri seminali sono l'espressione finale di diverse patologie, che vanno ricercate con un esatto iter diagnostico. In circa la metà dei casi, infatti, grazie ad un corretto inquadramento diagnostico, è possibile identificare la causa precisa dell'infertilità maschile e questo permette di scegliere ed utilizzare una terapia mirata, specifica ed efficace per il paziente. Nelle rimanenti forme di infertilità idiopatica, rimane valido il ricorso alla terapia "empirica", non specifica, nel tentativo di migliorare, anche solo transitoriamente, la qualità dei parametri seminali ed ottimizzare la capacità fecondante dello spermatozoo in condizioni spontanee o nell'ottica di una fecondazione assistita.

6.1 TERAPIA ORMONALE

Trattamento con gonadotropine

L'impiego delle gonadotropine nell'infertilità maschile trova il suo fondamento nel trattamento dell'ipogonadismo ipogonadotropo dell'età adulta, dove il deficit gonadotropinico causa la riduzione o la completa assenza della spermatogenesi e la terapia con preparati ad azione FSH- ed LH-simile riavvia la maturazione delle cellule germinali e porta alla comparsa degli spermatozoi nel liquido seminale. In particolare per il ripristino della normale spermatogenesi è necessaria la contemporanea somministrazione dei 2 ormoni¹, poiché la sola terapia con FSH induce una spermatogenesi numericamente valida, ma qualitativamente alterata, mentre il trattamento con testosterone ad alte dosi mantiene una spermatogenesi normale da un punto di vista qualitativo, ma numericamente deficitaria²⁻⁴. I preparati disponibili includono la gonadotropina corionica umana (hCG) di origine estrattiva, che ha azione LH-simile, e preparati derivati dalle urine post-menopausali (hMG o FSH urinario), preparati altamente purificati (FSH-HP) ed FSH ricombinante (FSHr), che hanno un'azione FSH-simile. La somministrazione è solitamente bisettimanale per l'hCG (2000UI i.m per 2 vv/sett) e trisettimanale per l'FSH ricombinante (150 UI s.c. o i.m. per 3vv/sett) o a giorni alterni per l'FSH urinario (75 UI s.c. o i.m) e va titolata sulla base dei

valori di testosterone plasmatico, dell'incremento del volume testicolare e della risposta seminale. Un'alternativa terapeutica è rappresentata dalla somministrazione pulsatile di GnRH con minipompe infusive, che tuttavia, a causa della loro complessità di uso e gestione e degli elevati costi, sono da riservare solo ai casi di fallimento con la terapia gonadotropinica.

I successi ottenuti nel ripristino della spermatogenesi nei pazienti affetti da ipogonadismo centrale hanno giustificato recentemente l'impiego della terapia gonadotropinica nella stimolazione della spermatogenesi anche in soggetti oligozoospermici (con normali livelli di gonadotropine). In realtà la letteratura su questo argomento mostra dati contrastanti: alcuni autori negano l'effetto della terapia con FSH sui parametri seminali⁵⁻⁹, altri invece, hanno dimostrato che questo trattamento è capace di incrementare la concentrazione spermatica ed il tasso di gravidanza nei pazienti oligozoospermici^{6,10-14}. Una spiegazione per la presenza di risultati tanto discordanti, almeno in parte, è la modalità di selezione dei pazienti oligozoospermici. Infatti l'oligozoospermia è l'espressione di un danno funzionale od organico a carico dell'epitelio seminifero, che può essere conseguente a due differenti meccanismi: ad una riduzione, più o meno marcata, della spermatogenesi con normale linea maturativa germinale, oppure ad un blocco nella maturazione delle cellule germinali, che può localizzarsi a livello spermatogoniale, spermatocitico o spermatidico. Queste due categorie di pazienti rispondono in maniera diversa alla somministrazione di FSH. Poichè nella scelta della terapia i livelli di FSH non permettono di discriminare tra i due meccanismi di alterazione tubulare, diventa fondamentale l'esame citologico su agoaspirato testicolare, che permette di individuare i pazienti con linea maturativa qualitativamente normale e quindi potenzialmente sensibili al trattamento con FSH. Infatti è stato dimostrato che tutti i soggetti con normali livelli di FSH (<7UI/L) trattati con FSH-HP o con FSHr mostrano un incremento della popolazione spermatogoniale, ma solo quelli in cui l'oligozoospermia è sostenuta da un'ipospertogenesi senza alterazioni maturative germinali presentano anche un parallelo aumento del numero degli spermatozoi eiaculati. Al contrario in presenza di blocchi maturativi, il trattamento con FSH amplifica il difetto maturativo senza aumentare il numero degli spermatozoi¹⁵. Altro parametro fondamentale nella scelta del trattamento con FSH in pazienti oligozoospermici è rappresentato dai livelli basali plasmatici di FSH ed inibina B, che costituisce un marker di funzionalità tubulare. Studi a tal proposito hanno dimostrato che risultano essere responsivi al trattamento con FSH solo pazienti oligozoospermici che presentavano normali concentrazioni plasmatiche di FSH indipendentemente dai livelli di inibina B, pertanto la presenza di elevate concentrazioni di questa gonadotropina rappresenta un sicuro parametro prognostico negativo per il successo del trattamento¹⁶. Nei soggetti responsivi alla terapia con FSH, inoltre, durante il trattamento si verifica un miglioramento dei parametri seminali, che, forse migliorando la qualità degli embrioni, aumenta la % di gravidanze spontanee ed assistite e spesso permette di accedere a tecniche di fecondazione assistita meno invasive rispetto a quelle prospettate prima della terapia¹⁷.

Bibliografia

1. Matsumoto AM. Hormonal therapy of male hypogonadism. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 1994; 23: 857-875.
2. Matsumoto AM. Spermatogenesis. In: Adashi EY, Rock JA, Rosenwaks Z. *Reproductive Endocrinology, Surgery and Technology.* Lippincott-Raven Publ., Philadelphia, 1996; 359-367.
3. Plant TM, Marshall GR. The functional significance of FSH in spermatogenesis and the control of its secretion in male primates. *Endocr Rev.* 2001; 22: 764-786.
4. Schaison G, Young J, Pholsena M, Nahoul K, Couzinet B. Failure of combined follicle-stimulating hormone-testosterone administration to initiate and/or maintain spermatogenesis in men with hypogonadotropic hypogonadism. *J Clin Endocrinol Metab.* 1993; 77: 1545-1549.
5. Acosta AA, Oehninger S, Ertunc H, Philput C. Possible role of pure human follicle-stimulating hormone in the treatment of severe male infertility by assisted reproduction: preliminary report. *Fertil Steril* 1991; 55: 1150-1156.
6. Acosta AA, Khalifa E, Oehninger S. Pure human follicle stimulating hormone has a role in the treatment of severe male infertility by assisted reproduction: Norfolk's total experience. *Hum Reprod* 1992; 7: 1067-1072.
7. Matorras R, Perez C, Corcostegui B, et al. Treatment of the male with folliclestimulating hormone in intrauterine insemination with husband's spermatozoa: a randomized study. *Hum Reprod* 1997; 12: 24-28.
8. Kamischke A, Behre HM, Bergmann M, et al. Recombinant human follicle stimulating hormone for treatment of male idiopathic infertility: a randomized, double-blind, placebo-controlled, clinical trial. *Hum Reprod* 1998; 13: 596- 603.
9. Ben-Rafael Z, Farhi J, Feldberg D, et al. Follicle-stimulating hormone treatment for men with idiopathic oligoteratoasthenozoospermia before in vitro fertilization: the impact on sperm microstructure and fertilization potential. *Fertil Steril* 2000; 73: 24-30.
10. Bartoov B, Eltes F, Lunenfeld E, et al. Sperm quality of subfertile males before and after treatment with human follicle-stimulating hormone. *Fertil Steril* 1994; 61: 727-734.
11. Sigg C, Baclu M. Improvement of sperm concentration and bovine mucus penetration in idiopathic oligozoospermia by administration of pure FSH. *Hum Reprod* 1994; 9: 47.
12. Merino G, Carranza-Lira S, Martinez-Chequer JC. Sperm characteristics and hormonal profile before and after treatment with follicle-stimulating hormone in infertile patients. *Arch Androl* 1996; 37: 197-200.
13. Glander HJ, Kratzsch J. Effects of pure human follicle-stimulating hormone (pFSH) on sperm quality correlate with the hypophyseal response to gonadotropin-releasing hormone (GnRH). *Andrologia* 1997; 29: 23-28.
14. Strehler E, Sterzik K, De Santo M, et al. The effect of follicle-stimulating hormone therapy on sperm quality: an ultrastructural mathematical evaluation. *J Androl* 1997; 18: 439-447.
15. Foresta C, Bettella A, Ferlin A, et al. Evidence for a stimulatory role of follicle stimulating hormone on the spermatogonial population in adult males. *Fertil Steril* 1998; 69: 636-642.
16. Foresta C, Bettella A, Merico M, Garolla A, Plebani M, Ferlin A, Rossato M. FSH in the treatment of oligozoospermia. *Mol Cell Endocrinol.* 2000 Mar 30;161(1-2):89-97.
17. Foresta C, Bettella A, Garolla A, et al. Treatment of male idiopathic infertility with recombinant human follicle-stimulating hormone: a prospective, controlled, randomized clinical study. *Fertil Steril* 2005; 84: 654-661.

Terapia con analoghi del GnRH

Nei soggetti con grave testicolopatia primitiva gli elevati livelli di FSH rappresentano un indice prognostico negativo ai fini della terapia con FSH, ma recentemente è stato dimostrato che la normalizzazione dei valori di FSH, attraverso terapia con analoghi a lunga durata d'azione del GnRH, induce un miglioramento della funzione sertoliana¹. Il razionale dell'impiego dei GnRH-analoghi si fonda su meccanismi fisiologici: in presenza di elevati livelli di FSH, i recettori per la gonadotropina vanno incontro a desensibilizzazione e successiva down-regulation^{2,3}. Inizialmente si verifica soltanto una riduzione della sensibilità dei recettori per l'FSH presenti sulle cellule di Sertoli, che è mediata dall'aumento dell'attività fosfodiesterasica e dal disaccoppiamento della subunità Gs dal recettore; successivamente tali recettori vanno incontro a down-regulation, attraverso l'internalizzazione e la degradazione lisosomiale del complesso ormone/recettore, con una conseguente riduzione del numero dei recettori per l'FSH, che è marcata e non rapidamente reversibile. Nei soggetti in cui gli elevati livelli di FSH si accompagnano ad un riduzione modesta della concentrazione di inibina B, si può ipotizzare un danno solo funzionale delle cellule di Sertoli, proprio legato alla down-regulation dei recettori dell'FSH. In tali pazienti, dopo soppressione funzionale delle cellule gonadotrope ipofisarie con analoghi a lunga durata d'azione del GnRH, la terapia gonadotropinica combinata (FSH+hCG) migliora la concentrazione e la morfologia spermatica e riduce la percentuale di aneuploidie spermatiche, permettendo in alcuni casi l'utilizzo di tecniche di fecondazione in vitro meno invasive rispetto a quelle prospettate prima del trattamento⁴.

Al contrario, nei soggetti in cui gli elevati livelli di FSH esprimono un vero e proprio danno organico a carico delle cellule del Sertoli, la terapia con analoghi del GnRH, seguita o meno dalla terapia gonadotropinica combinata, non ha efficacia nel miglioramento dei parametri seminali.

Bibliografia

1. Foresta C, Bettella A, Spolaore D, Merico M, Rossato M, Ferlin A. Suppression of the high endogenous levels of plasma FSH in infertile men are associated with improved Sertoli cell function as reflected by elevated levels of plasma inhibin B. *Hum Reprod* 2004; 19: 1431–1437.
2. Gnanaprakasam MS, Chen CJ, Sutherland JG, Bhalla VK. Receptor depletion and replenishment processes: in vivo regulation of gonadotropin receptors by luteinizing hormone, follicle stimulating hormone and ethanol in rat testis. *Biol Reprod* 1979; 20: 991–1000.
3. Themmen AP, Blok LJ, Post M, Baarends WM, Hoogerbrugge JW, Parmentier M, et al. Follitropin receptor downregulation involves a cAMP-dependent post-transcriptional decrease of receptor mRNA expression. *Mol Cell Endocrinol* 1991; 78: R7–13.
4. Foresta C, Selice R, Moretti A, Antonio Pati M, Carraro M, Engl B, Garolla A. Gonadotropin administration after gonadotropin-releasing-hormone agonist: a therapeutic option in severe testiculopathies. *Fertil Steril*. 2008; in press.

Terapia androgenica

L'induzione ed il mantenimento di una normale spermatogenesi dipendono dall'integrità funzionale dell'asse ipotalamo-ipofisi-testicolare; il testosterone, infatti, insieme al suo metabolita ridotto DHT, esercita un'azione diretta sulle cellule di Sertoli mediante il legame con il recettore androgenico (AR). Topi knock-out per tale recettore¹ presentano testicoli ritenuti, con un minor numero di cellule germinali e assenza completa di spermatidi e spermatozoi, suggerendo che l'assenza di androgeni induce un arresto maturativo allo stadio di spermatocita pachitene. Questo ruolo degli androgeni nella spermatogenesi è confermato anche dalle anomalie seminali presenti nei pazienti portatori di mutazioni del gene AR.

Nel ratto è noto che le concentrazioni intratesticolari di testosterone sono circa 40-50 volte superiori a quelle plasmatiche² (1-2 ng/ml), ma solo livelli inferiori ai 20 ng/ml causano l'apoptosi degli spermatociti in fase pachitene, l'esfoliazione degli spermatidi rotondi e l'arresto maturativo degli spermatidi allungati. Tali alterazioni regrediscono dopo ripristino delle concentrazioni intratesticolari di testosterone. Nell'uomo le concentrazioni intratesticolari di testosterone sono circa 80-100 volte superiori a quelle plasmatiche³ e non è possibile modificarle attraverso la somministrazione esogena di testosterone, senza indurre la soppressione della secrezione gonadotropinica e quindi della funzione leydigiana. Per tale motivo l'impiego degli androgeni nella terapia dell'infertilità maschile ha trovato finora solo due applicazioni: Testosterone-rebound therapy e terapia della funzione epididimale e delle ghiandole accessorie.

La Testosterone-rebound therapy è nata dall'osservazione che nei pazienti oligozoospermici o azoospermici per arresto maturativo testicolare, entro 4 mesi dalla sospensione della terapia androgenica ad alte dosi, si verificava un miglioramento della concentrazione spermatica^{4,5}. A causa dei suoi effetti tossici, tuttavia, tale tecnica negli anni '80 è stata abbandonata.

Sull'uso del testosterone come terapia per migliorare la funzione epididimale e delle ghiandole accessorie esistono solo studi discordanti tra loro e che hanno preso in considerazione formulazioni androgeniche orali⁶⁻¹¹, rapidamente metabolizzate a livello epatico e quindi difficilmente in grado di modificare le concentrazioni intratesticolari di testosterone. Non esistono al momento studi pubblicati sugli effetti delle formulazioni gel sui parametri seminali. Esiste, infine, un impiego sperimentale della terapia androgenica: nei soggetti affetti da infertilità idiopatica, con polimorfismo del recettore per gli androgeni (AR) associato a minor sensibilità e nei soggetti infertili con iniziale disfunzione Leydigiana.

Il gene codificante per questo recettore, localizzato sul braccio lungo del cromosoma X, possiede due siti polimorfici a livello dell'esone 1, caratterizzato da un diverso numero di ripetizioni CAG e GGC. Nel soggetto normale il numero delle triplette CAG varia da 10 a 35 (media 21-23) e quello delle GGC da 4 a 24 (media 16-17). Studi recenti hanno dimostrato che un elevato numero di triplette CAG, anche nel range di normalità, determina una ridotta attività trascrizionale del recettore AR^{12,13}. L'analisi delle ripetizioni di CAG nella popolazione degli infertili non ha dato risultati definitivi: nelle popolazioni australiane, giapponesi e nordamericane è stata riportata un'associazione tra lunghezza delle triplette CAG ed infertilità, ma nei paesi europei tale dato non è stato confermato¹⁴⁻¹⁵ e non esistono studi sull'infertilità maschile fondati sul concetto di farmacogenomica. Nei soggetti con disfunzione delle cellule di Leydig, gli elevati livelli di LH compensano il deficit funzionale mantenendo normali i livelli di testosterone, ma incrementano l'attività aromatasica, causando elevati livelli intratesticolari di estrogeni¹⁶, che danneggiano la spermatogenesi e riducono la sintesi di testosterone. In questi soggetti, si può ipotizzare un trattamento con testosterone per ridurre i livelli di LH senza modificare le concentrazioni di FSH.

Bibliografia

1. Yeh S, Tsai MY, Xu Q, Mu XM, Lardy H, Huang KE, Lin H, Yeh SD, Altuwajiri S, Zhou X, Xing L, Boyce BF, Hung MC, Zhang S, Gan L, Chang C. Generation and characterization of androgen receptor knockout (ARKO) mice: an in vivo model for the study of androgen functions in selective tissues. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002; 99: 13498-13503.
2. Hill CM, Anway MD, Zirkin BR, Brown TR. Intratesticular androgen levels, androgen receptor localization, and androgen receptor expression in adult rat Sertoli cells. *Biol Reprod*. 2004; 71: 1348-1358.
3. Cunningham GR, Huckins C. Persistence of complete spermatogenesis in the presence of low intratesticular concentrations of testosterone. *Endocrinology*. 1979; 105: 177-186.
4. Charny CW, Gordon JA. Testosterone rebound therapy: a neglected modality. *Fertil Steril*. 1978; 29(1): 64-68.
5. Lamensdorf H, Compere D, Begley G. Testosterone rebound therapy in the treatment of male infertility. *Fertil Steril*. 1975; 26(5): 469-472.
6. Rowley MJ, Heller CG. The testosterone rebound phenomenon in the treatment of male infertility. *Fertil Steril* 1972; 23(7): 498-504.
7. Urry RL, Cockett AT. Treating the subfertile male patient: improvement semen characteristics after low dose androgen therapy. *J Urol*. 1976; 116(1): 54-55.
8. Brown JS. The effect of orally administered androgens on sperm motility. *Fertil Steril*. 1975; 26(4): 305-308.
9. Hargreave TB, Kyle KF, Baxby K, Rogers AC, Scott R, Tolley DA, Abel BJ, Orr PS, Elton RA. Randomised trial of mesterolone versus vitamin C for male infertility. *Scottish Infertility Group. Br J Urol*. 1984; 56(6): 740-744.
10. Wang C, Chan CW, Wong KK, Yeung KK Comparison of the effectiveness of placebo, clomiphene citrate, mesterolone, pentoxifylline, and testosterone rebound therapy for the treatment of idiopathic oligospermia. *Fertil Steril*. 1983; 40(3): 358-365.
11. Aafjes JH, van der Vijver JC, Brugman FW, Schenck PE. Double-blind cross over treatment with mesterolone and placebo of subfertile oligozoospermic men value of testicular biopsy. *Andrologia*. 1983; 15: 531-535.
12. Chamberlain NL, Driver ED, Miesfeld RL. The length and location of CAG trinucleotide repeats in the androgen receptor N-terminal domain affect transactivation function. *Nucleic Acids Res*. 1994; 22(15): 3181-3186.
13. Choong CS, Kempainen JA, Zhou ZX, Wilson EM. Reduced androgen receptor gene expression with first exon CAG repeat expansion. *Mol Endocrinol*. 1996; 10(12): 1527-1535.
14. Ferlin A, Bartoloni L, Rizzo G, Roverato A, Garolla A, Foresta C. Androgen receptor gene CAG and GGC repeat lengths in idiopathic male infertility. *Mol Hum Reprod*. 2004; 10(6): 417-421.
15. Lund A, Tapanainen JS, Lähdetie J, Savontaus ML, Aittomäki K. Long CAG repeats in the AR gene are not associated with infertility in Finnish males. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2003; 82(2): 162-166.
16. Anapliotou ML, Liparaki M, Americanos N, Goulandris N, Papaioannou D. Increased 17-OH-progesterone levels following hCG stimulation in men with idiopathic oligozoospermia and raised FSH levels. *Int J Androl*. 1994; 17(4): 192-198.

Terapia con antiestrogeni

Il razionale della terapia con antiestrogeni nell'infertilità maschile si basa sul loro duplice meccanismo d'azione: centrale, con il blocco e periferico. A livello ipotalamo-ipofisario questi farmaci, agendo a livello recettoriale (clomifene e tamoxifene) o pre-recettoriale (inibitori dell'aromataasi), bloccano il feed-back negativo esercitato dagli estrogeni sulla secrezione di GnRH e delle gonadotropine, inducendo un aumento della secrezione gonadotropinica con conseguente stimolo sulla spermatogenesi e sulla produzione di testosterone. A livello periferico, invece, gli antiestrogeni agiscono riducendo l'effetto inibitorio che gli estrogeni hanno direttamente sulla steroidogenesi e quindi sulla sintesi di testosterone da parte delle cellule di Leydig. Le evidenze emerse da una metanalisi, che ha analizzato i principali studi relativi all'impiego di clomifene nel trattamento dell'oligo-astenozoospermia idiopatica, hanno evidenziato l'efficacia del trattamento nell'incrementare i livelli di testosterone, ma l'assenza di una significatività statistica in relazione al parametro "pregnancy rate" tra soggetti studiati e soggetti di controllo¹. Analoghi risultati sono stati riportati anche utilizzando il tamoxifene^{2,3}, per cui al momento la terapia antiestrogenica non rappresenta un presidio valido nella trattamento dell'infertilità maschile.

Bibliografia

1. Vandekerckhove P, Lilford R, Vail A, Hughes E. Clomiphene or tamoxifen for idiopathic oligo/asthenospermia. *Cochrane Database Syst Rev.* 2000; (2): CD000151.
2. Kamischke A, Nieschlag E. Analysis of medical treatment of male infertility. *Hum Reprod.* 1999;14 (Suppl 1): 1-23.
3. O'Donovan PA, Vandekerckhove P, Lilford RJ, Hughes E. Treatment of male infertility: is it effective? Review and meta-analyses of published randomized controlled trials. *Hum Reprod.* 1993; 8(8): 1209-1222.

6.2 TERAPIA NON ORMONALE

Per comprendere le basi molecolari delle terapie non ormonali utilizzate nell'infertilità maschile, è necessario introdurre il concetto di specie reattive dell'ossigeno (ROSs reactive oxygen species) o radicali liberi, che sono atomi o molecole che contengono un elettrone non appaiato e rappresentano il prodotto o il sottoprodotto di diversi processi biochimici. Questi composti sono estremamente instabili e possono reagire con molecole più stabili per appaiare i propri elettroni sia cedendoli (comportandosi come agenti riducenti), sia sottraendoli (comportandosi come agenti ossidanti) alle molecole con le quali reagiscono. In genere si produce una catena di reazioni che porta alla formazione di nuovi radicali ed è questo il motivo per cui la produzione di un solo radicale libero può causare importanti lesioni cellulari. I ROSs si formano continuamente nell'organismo nei mitocondri o nel corso di processi di fagocitosi e si possono attaccare a tutti i costituenti della cellula provocandone gravi alterazioni fino all'apoptosi.

Lo stress ossidativo si realizza per rottura dell'equilibrio ("bilancia ossidativa") fra quantità di ROSs prodotti ed antiossidanti "scavengers" biodisponibili, con una finale iperproduzione di ROSs¹. I principali ROSs sono l'anione superossido (O_2^-), il perossido di idrogeno (H_2O_2), il radicale ossidrilico (HO), il radicale perossidrilico (HOO), l'ossido di azoto (NO) ed il perossinitrito (ONOO). Livelli moderati di ROSs e reazioni ossidative controllate giocano un ruolo importante nella regolazione di diversi processi cellulari, come l'espressione e la proliferazione genica. I ROSs sono prodotti nelle cellule in seguito a stimolo con varie citochine, ormoni, fattori di crescita; a loro volta, poi, essi attivano fattori di trascrizione e molecole di segnale. Tuttavia, a causa della loro elevata reattività, i ROSs possono danneggiare il DNA, le proteine e i lipidi, producendo alterazioni reversibili ed irreversibili nelle cellule e nei tessuti. Pertanto l'equilibrio fra produzione e detossificazione dei ROSs è fondamentale per l'omeostasi cellulare¹.

E' ormai noto da numerosi dati della letteratura che lo stress ossidativo è implicato nei processi degenerativi legati all'invecchiamento e nella patogenesi di diverse malattie, fra cui l'aterosclerosi, alcune neoplasie e le malattie neurodegenerative². Per quanto concerne la sfera riproduttiva maschile, in condizioni normali piccole quantità di ROSs sono necessarie per completare la fase terminale della maturazione dei gameti; all'opposto, però, è ormai noto che infiammazioni ed infezioni genito-urinarie possono indurre la formazione di notevoli quantità di ROSs, che hanno la potenzialità di danneggiare sia i tessuti del tratto genitale che la qualità degli spermatozoi, in termini di motilità, morfologia e concentrazione. Infatti le cellule germinali sono molto sensibili all'azione dei ROSs e molti casi di oligoastenozoospermia possono essere attribuiti a stress ossidativo del liquido seminale ed in particolare a deficit di molecole antiossidanti di cui il liquido seminale deve essere ricco, come l'enzima superossidodismutasi³, il selenio, la L-carnitina e la L-acetil-carnitina, la vitamina E, la vitamina C, il coenzima Q10, lo zinco, il glutatione e gli enzimi glutatione-dipendenti.

La PHGPx (Phospholipid Hydroperoxyde Glutathione Peroxidase) è una selenoproteina appartenente alla superfamiglia delle glutatione per ossidasi, in grado, in cooperazione con la vitamina E, di proteggere le biomembrane attraverso l'inibizione dell'apoptosi. La PHGPx è trascritta e tradotta a livelli particolarmente elevati nelle cellule germinali del testicolo e sin dalle prime fasi della spermatogenesi agisce come elemento antiossidante, eliminando, a spese del glutatione che si ossida, i perossidi potenzialmente dannosi per la cellula e genotossici⁴. E' stato dimostrato che la PHGPx possiede un'azione antiossidante diversa da quella svolta dalla classica glutatione perossidasi tetrameric: infatti mentre quest'ultima riduce

specificamente il perossido di idrogeno, la PHGPx funge da accettore di voluminosi substrati perossidici lipofili, come quelli derivati da fosfolipidi e colesterolo. Caratteristica peculiare di questo enzima, inoltre, probabilmente correlata alla sua funzione nella spermatogenesi, è la capacità di utilizzare substrati riducenti alternativi al glutatione⁴. Una bassa attività PHGPx negli spermatozoi indica una capsula mitocondriale difettosa e quindi una ridotta protezione dei mitocondri, che possono andare incontro a degenerazione. Nei soggetti oligozoospermici è stata documentata una bassa attività PHGPx ed una più rapida perdita della motilità spermatica durante l'incubazione in vitro⁵.

La carnitina è un cofattore metabolico indispensabile nel metabolismo degli acidi grassi a lunga catena e svolge un ruolo fondamentale come substrato nel metabolismo ossidativo degli spermatozoi nei mammiferi, inducendo l'acetilazione della carnitina e del coenzima A. Sulla base delle osservazioni sperimentali, che sottolineano le proprietà protettive della carnitina e dei suoi derivati nei confronti di situazioni di stress ossidativi, l'impiego terapeutico di questi composti può risultare particolarmente utile in quelle patologie che interessano organi e tessuti in cui il metabolismo lipidico risulta particolarmente attivo e questo potrebbe essere il caso degli spermatozoi epididimari. Infatti è stato dimostrato che il metabolismo degli acidi grassi endogeni potrebbe essere particolarmente attivo nell'epididimo. Ciò è dovuto anche alla alta concentrazione di Carnitina e di acetylCarnitina che facilita il passaggio degli acidi grassi nei mitocondri. Inoltre la presenza a livello epididimario e nel plasma seminale dei vari componenti del sistema delle carnitine a concentrazioni superiori ad ogni altro distretto dell'organismo rappresenta la base molecolare su cui si fonda tale metabolismo⁶. Non meno importante è il ruolo svolto dal sistema delle carnitine nella produzione energetica. Una regolazione adeguata del metabolismo energetico in risposta a stimoli endo ed extra-cellulari e micro-ambientali è un compito vitale per lo spermatozoo. Il sistema delle carnitine è coinvolto in particolare nella utilizzazione dei substrati per la produzione di energia a livello mitocondriale e nella rimozione dai mitocondri di acidi grassi a media e piccola catena che si accumulano come risultato del metabolismo. Queste evidenze rappresentano la base razionale dell'uso delle carnitine come una potenziale terapia per forme selezionate di infertilità maschile. Studi infatti hanno dimostrato l'efficacia della carnitina e della L-acetyl-carnitina nel migliorare la motilità spermatica in popolazioni di soggetti con oligo-astenozoospermia idiopatica soprattutto in gruppi di pazienti con astenozoospermia più marcata⁷⁻⁹.

Il glutatione è un tripeptide che svolge un ruolo centrale nei meccanismi di difesa contro il danno ossidativo, fungendo da cofattore per la glutatione perossidasi e per la glutatione S-transferasi. Diversi studi hanno evidenziato che i suoi livelli sono diminuiti nel liquido seminale e negli spermatozoi di soggetti oligozoospermici rispetto a uomini normozoospermici¹⁰⁻¹¹.

Studi in vitro hanno dimostrato un miglioramento dei parametri seminali in campioni con alte specie reattive dell'ossigeno e trattati con **vitamina E**¹².

Il coenzima Q10 ed il licopene sono stati utilizzati in piccole casistiche di soggetti con astenozoospermia idiopatica, con miglioramento dei parametri seminali. Tali dati, comunque, non sono conclusivi e necessitano di ulteriori conferme¹³⁻¹⁴.

Bibliografia

1. Sies H. Damage to plasmid DNA by singlet oxygen and its protection. *Mutat Res* 1993; 299(3-4): 183-191.
2. Griendling KK. Oxidative stress and cardiovascular injury: Part I: basic mechanisms and in vivo monitoring of ROS. *Circulation* 2003; 108(16): 1912-1916.
3. Shamsi MB, Venkatesh S, Tanwar M, Talwar P, Sharma RK, Dhawan A, Kumar R, Gupta NP, Malhotra N, Singh N, Mittal S, Dada R. DNA integrity and semen quality in men with low seminal antioxidant levels. *Mutat Res* 2009; 665(1-2): 29-36.
4. Ursini F, Heim S, Kiess M, Maiorino M, Roveri A, Wissing J, Flohé L. Metamorphoses of the selenoprotein PHGPx during sperm maturation. *Science* 1999; 285: 1393.
5. Foresta C, Flohé L, Garolla A, Roveri A, Ursini F, Maiorino M. Male fertility is linked to selenoprotein Phospholipid Hydroperoxide Glutathione Peroxidase. *Biol Reprod* 2002; 67: 967-971.
6. Zopfgen A, Priem F, Sudhoff F, Jung K, Lenk S, Loening SA, Sinha P. Relationship between semen quality and the seminal plasma components carnitine, alpha-glucosidase, fructose, citrate and granulocyte elastase in infertile men compared with a normal population. *Hum Reprod* 2000; 15(4): 840-845.
7. Lenzi A, Lombardo F, Sgro P, Salacone P, Caponecchia L, Dondero F, Gandini L. Use of carnitine therapy in selected cases of male factor infertility: a double blind cross-over trial. *Fertil Steril* 2003; 79(2): 292-300.
8. Lenzi A, Sgrò P, Salacone P, Paoli D, Gilio B, Lombardo F, Santulli M, Agarwal A, Gandini L. A placebo-controlled double-blind randomized trial of the use of combined l-carnitine and l-acetyl-carnitine treatment in men with asthenozoospermia. *Fertil Steril*. 2004 Jun;81(6):1578-84.
9. Garolla A, Maiorino M, Roverato A, Roveri A, Ursini F, Foresta C. Oral carnitine supplementation increases sperm motility in asthenozoospermic men with normal sperm phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase levels. *Fertil Steril* 2005; 83(2): 355-361.
10. Ochsendorf FR, Buhl R, Bastlein A, Beschmann H. Glutathione in spermatozoa and seminal plasma of infertile men. *Hum Reprod* 1998; 13(2): 353-359.
11. Rajmakers MT, Roelofs HM, Steegers EA, Steegers-Theunissen R RP, Mulder TP, Knapen MF, Wong WY, Peters WH. Glutathione and glutathione S-transferases A1-1 and P1-1 in seminal plasma may play a role in protecting against oxidative damage to spermatozoa. *Fertil Steril* 2003; 79(1): 169-172.
12. Kessopoulou E, Powers HJ, Sharma KK, Pearson MJ, Russell JM, Cooke ID, Barratt CL. A double-blind randomized placebo cross-over controlled trial using the antioxidant vitamin E to treat reactive oxygen species associated male infertility. *Fertil Steril* 1995; 64(4): 825-831.
13. Balercia G, Mosca F, Mantero F, Boscaro M, Mancini A, Ricciardo-Lamonica G, Littarru G. Coenzyme Q(10) supplementation in infertile men with idiopathic asthenozoospermia: an open, uncontrolled pilot study. *Fertil Steril* 2004; 81(1): 93-98.
14. Gupta NP, Kumar R. Lycopene therapy in idiopathic male infertility—a preliminary report. *Int Urol Nephrol* 2002; 34(3): 369-372.

6.3 TERAPIA CHIRURGICA

La terapia chirurgica è un valido presidio nei casi di infertilità secondaria ad ostruzione, congenita od acquisita, delle vie seminali. Tale condizione deve essere sospettata nei pazienti azoospermici o gravemente oligozoospermici, con normali volumi testicolari e normale assetto ormonale¹.

In questi casi selezionati l'efficacia dell'intervento di microchirurgia ricostruttiva dipenderà dalla causa e dalla sede dell'ostruzione, oltre che dall'esperienza del chirurgo.

Le procedure chirurgiche standardizzate includono la vaso-vasostomia e l'epididimovasostomia, che è consigliabile far precedere da tecniche di recupero spermatico, come la MESA, la TESE o la TESA, allo scopo di crioconservare gli eventuali spermatozoi recuperati².

Ostruzione intratesticolare

Una ricanalizzazione dei dotti seminali a questo livello non è possibile, pertanto è raccomandato il ricorso a tecniche di recupero di spermatozoi, come la TESE (Testicular sperm extraction) o la TESA (testicular sperm aspiration), con crioconservazione delle cellule eventualmente ottenute.

Ostruzione epididimale

Nei soggetti con assenza congenita dei vasi deferenti (CBAVD) è indicata l'esecuzione della MESA (28), con successiva crioconservazione degli spermatozoi recuperati. Solitamente il materiale crioconservato è sufficiente per diversi cicli ICSI³.

Nei soggetti con ostruzioni epididimali acquisite è raccomandata l'epididimovasotomia microchirurgica⁴. La ricostruzione può essere mono o bilaterale, con un tasso di gravidanza solitamente maggiore nella ricanalizzazione bilaterale. Prima dell'intervento, ovviamente, va accertata la completa pervietà delle vie seminali a valle dell'epididimo. La ricanalizzazione anatomica effettiva può richiedere dai 3 ai 18 mesi dopo la chirurgia. Prima dell'intervento di ricanalizzazione (e nei casi in cui questa tecnica non sia possibile), tutti i pazienti devono essere sottoposti ad aspirato epididimale per eventuale recupero e crioconservazione di spermatozoi da utilizzare in caso di fallimento chirurgico³.

Il tasso di gravidanza dopo l'intervento varia dal 10% al 43%.

Ostruzione prossimale dei vasi deferenti

Solitamente la ricanalizzazione microchirurgica dei vasi permette di risolvere le forme di ostruzione vasale prossimale conseguenti a vasectomia. La vaso-vasostomia è necessaria in rari casi di ostruzione vasale prossimale di natura iatrogena, post-traumatica o post-infiammatoria. In caso di assenza di spermatozoi nel lume vasale intraoperatorio, deve essere sospettata una seconda ostruzione epididimale, per cui può essere indicata una vaso-epididimostomia.

Ostruzione distale dei vasi deferenti

Se l'ostruzione è la conseguenza involontaria di interventi chirurgici eseguiti per ernia inguinale od orchidopessi, solitamente non è possibile correggerla⁵. In questi casi è indicata l'aspirazione degli spermatozoi dai vasi deferenti⁶ o dall'epididimo (MESA) o la biopsia testicolare (TESE).

Nei casi di esteso difetto deferenziale monolaterale associato ad atrofia testicolare controlaterale, il vaso deferente del testicolo atrofico può essere usato per una vaso-vasostomia o vaso-epididimostomia crociata.

Ostruzione del dotto eiaculatorio

Il tipo di trattamento in caso di ostruzione del dotto eiaculatorio dipende dall'eziologia dell'ostru-

zione. Nelle estese ostruzioni post-infiammatorie o quando uno od entrambi i dotti eiaculatori sboccano in una cisti mediana intraprostata, può essere utilizzata la resezione transuretrale del dotto eiaculatorio (TURED)^{7,8}. In caso di ostruzione secondaria a cisti intraprostata, è indicata la rimozione della cisti⁷. Possibili complicanze della TURED sono l'eiaculazione retrograda per danno del collo vescicale, e reflusso urinario nei dotti seminali, nelle vescichette seminali e nei vasi deferenti (con conseguente scarsa motilità spermatica, acidificazione del pH seminale ed epididimiti). In alternativa alla TURED, possono essere usate la MESA o la TESE, l'aspirazione prossimale dei vasi deferenti o l'aspirazione eco-guidata delle vescichette seminali. In caso di ostruzione funzionale dei dotti seminali distali, la TURED spesso fallisce nel migliorare la fuoriuscita del liquido seminale e gli spermatozoi possono essere recuperati attraverso il wash-out anterogrado delle vie seminali⁹. Indipendentemente dal tipo di tecnica utilizzata per il recupero degli spermatozoi, è sempre indicata la crioconservazione delle cellule trovate.

Bibliografia

1. G.R. Dohle, A. Jungwirth, Z. Kopa, A. Giwercman, T. Diemer, T.B. Hargreave. Guidelines on male infertility. European Association of Urology 2009.
2. Kolettis PN, Thomas AJ Jr. Vasoepididymostomy for vasectomy reversal: a critical assessment in the era of intracytoplasmic sperm injection. *J Urol* 1997;158(2): 467-470.
3. Schroeder-Printzen I, Zumbe G, Bispink L, Palm S, Schneider U, Engelmann U, Weidner W. Microsurgical epididymal sperm aspiration: aspirate analysis and straws available after cryopreservation in patients with non-reconstructable obstructive azoospermia. MESA/TESE Group Giessen. *Hum Reprod* 2000;15(12): 2531-2535.
4. Chan PT, Brandell RA, Goldstein M. Prospective analysis of outcomes after microsurgical intussusception vasoepididymostomy. *BJU Int* 2005;96(4): 598-601.
5. Borovikov A. Treatment of large vasal defects. In: Goldstein M (ed). *Surgery of Male Infertility*. Philadelphia: WB Saunders, 1995, pp.77-95.
6. Ruiz-Romero J, Sarquella J, Pomerol JM. A new device for microsurgical sperm aspiration. *Andrologia* 1994;26(2): 119-120.
7. Schroeder-Printzen I, Ludwig M, Kohn F, Weidner W. Surgical therapy in infertile men with ejaculatory duct obstruction: technique and outcome of a standardized surgical approach. *Hum Reprod* 2000;15(6): 1364-1368.
8. Colpi GM, Negri L, Patrizio P, Pardi G. Fertility restoration by seminal tract washout in ejaculatory duct obstruction. *J Urol* 1995;153(6): 1948-1950.

7. Metodiche di crioconservazione

7.1 INDICAZIONI ALLA CRIOCONSERVAZIONE

Per crioconservazione si intende lo stoccaggio di materiale biologico in azoto liquido a -196°C . A questa temperatura tutti i processi che portano a morte cellulare sono interrotti.

Negli ultimi anni le conoscenze di criobiologia sono straordinariamente aumentate. I primi studi sulla crioconservazione del gamete maschile umano risalgono al 1950 e la prima nascita avvenuta utilizzando la crioconservazione risale al 1954¹.

E' possibile crioconservare spermatozoi provenienti da liquido seminale, dall'epididimo, dal testicolo o da urina a seconda della patologia da cui il paziente è affetto.

Infatti nell'uomo la crioconservazione dei gameti ha due finalità fondamentali:

1. prevenire la sterilità in previsione di trattamenti che potrebbero interferire con la fertilità,
2. preservare i gameti per una successiva tecnica di fecondazione assistita, in pazienti affetti da grave oligozoospermia o azoospermia.

I soggetti che possono quindi ricorrere alla crioconservazione sono:

- soggetti affetti da patologie che necessitano di terapie inducenti danni alla spermatogenesi (patologie neoplastiche, autoimmuni, ecc.);
- soggetti affetti da patologie che necessitano di interventi chirurgici all'apparato uro-genitale che possono ledere la funzione eiaculatoria;
- soggetti in procinto di sottoporsi a vasectomia;
- soggetti che per motivi di lavoro sono esposti a sostanze potenzialmente genotossiche;
- soggetti con oligoastenoteratozoospermia (OAT) che presentano transitori miglioramenti dei parametri seminali o un severo e progressivo peggioramento di questi;
- soggetti con paraplegia in cui gli spermatozoi vengono recuperati grazie a elettro-eiaculazione;
- soggetti in cui vengono eseguite tecniche di recupero degli spermatozoi (agoaspirato epididimale o testicolare o biopsia).

7.2 METODICHE DI CRIOSERVAZIONE

Quando si parla di criobiologia è utile conoscere alcuni aspetti importanti quali il controllo preciso della quota di raffreddamento e riscaldamento che determina il destino finale dell'acqua che è presente dentro la cellula. Ogni cellula ha infatti una quota di raffreddamento ottimale che varia in relazione alle sue dimensioni e alle sue caratteristiche.

Inoltre va ricordato che il raffreddamento provoca la riduzione delle attività enzimatiche, la riduzione dei meccanismi di trasporto attivo e modificazioni della conformazione della membrana cellulare, aspetti che possono portare ad un danno della funzionalità del gamete con ripercussioni sulle sue capacità fertilizzanti²⁻⁴; per questo motivo è importante utilizzare sostanze crioprotettive apposite.

I crioprotettori sono sostanze a diversa composizione chimica che hanno in comune un'elevata solubilità in acqua associata ad una tossicità dipendente dalla concentrazione di utilizzo. La loro azione protettiva si esplica attraverso una azione diretta sulla membrana cellulare: sfruttando la capacità di modificare l'ambiente intra- ed extracellulare, si sostituiscono all'acqua inducendo la formazione di cristalli di ghiaccio ed in questo modo abbassano il punto di congelamento della soluzione permettendo una maggiore disidratazione delle cellule durante il congelamento.

L'interazione tra crioprotettore e cellula è mediata dal tempo di esposizione all'agente chimico e dalla temperatura a cui avviene l'esposizione.

Le sostanze più utilizzate si dividono in due categorie:

1. Crioprotettori in grado di penetrare attraverso le membrane cellulari
2. Crioprotettori non in grado di penetrare attraverso le membrane cellulari

CRIOPROTETTORI PENETRANTI (PM < 400)

- DMSO (DIMETILSOLFOSSIDO)
- GLICEROLO
- PROH (1,2 PROPANEDILOLO)
- GLICOLE ETILENICO

CRIOPROTETTORI NON PENETRANTI (PM > 1000)

- ZUCCHERI: SACCAROSIO, FRUTTOSIO GLUCOSIO, DESTROSIO
- AMIDO
- LIPOPROTEINE
- PVP (POLIVINILPIRROLIDONE)

Per il congelamento degli spermatozoi il crioprotettore più comunemente utilizzato e indicato nelle linee guida nazionali è il Test Yolk Buffer (CPA), contenente glicerolo al 12% che non permette la formazione di cristalli di ghiaccio nella cellula proteggendola da danni che possono riguardare la motilità, la morfologia, la vitalità e il DNA degli spermatozoi⁴⁻⁷.

Esistono tre tecniche diverse di congelamento per il gamete maschile:

1. Metodo rapido⁸⁻⁹;
2. Metodo lento¹⁰;
3. Metodo lento con strumentazione automatizzata.

Per il congelamento rapido occorrono 10 minuti di esposizione ai fumi d'azoto del campione e successiva immersione dello stesso direttamente nell'azoto liquido a -196°C.

Nel congelamento lento, invece, il tempo di esposizione ai fumi d'azoto si prolunga per 40 minuti circa prima dell'immersione in azoto liquido.

Infine utilizzando uno strumento automatizzato il campione viene portato gradualmente a basse temperature con un intervallo di 1-10°C/min prima dell'immersione in azoto liquido.

Prima della crioconservazione, poiché l'azoto liquido può agire come veicolo di trasmissione per batteri, funghi, virus, sono necessari preventivamente per il paziente l'esecuzione di markers infettivologici¹¹.

Le analisi obbligatorie sono:

- Virus Epatite B: HBsAg,
- Virus Epatite C: Anticorpi anti-HCV,
- HCV-RNA qualitativo (in caso di anticorpi positivi),
- HIV: Anticorpi anti-HIV,
- Citomegalovirus: Anticorpi anti IgG, Anticorpi anti IgM.

La crioconservazione è quindi possibile in caso di negatività dei markers sovra citati, mentre nel caso di positività la crioconservazione è possibile solo in apposite banche del seme in cui vengano effettuati percorsi dedicati e specifici per ogni singolo virus.

7.3 TECNICHE DI RECUPERO

Per il congelamento degli spermatozoi esistono diverse tecniche in base alla sede in cui si intende effettuare il prelievo (Tabella 1) (Fig.1).

Tabella 1

Campione di partenza	Tecniche crioconservazione
- Liquido seminale -	- Paillettes a chiusura termostabile da 0,300 ml o 0,500 ml - Cryovials
- Liquido seminale con rarissimi spermatozoi - PESA - MESA - TESA - TESE - Urine	- Paillettes a chiusura termostabile da 0,300 ml - Zona pellucida ovocita animale o umana - Micro-Paillettes poste in cryovials - Microgocce in capsule di Petri - Pipetta da ICSI - Sfere di alghe Volvox Globator - Microincapsulazione in biglie di alginato - Cryoloop - Microsfere di agarosio

Liquido seminale

In caso di crioconservazione da liquido seminale la tecnica di comune utilizzo prevede la diluizione del liquido seminale 1:1 con CPA e l'aspirazione in paillettes ad elevata sicurezza e termostabili quali le CBS che contengono 0,300 ml o 0,500 ml. Per l'aspirazione devono essere utilizzati appositi raccordi (imbout) in modo che la paillette non venga in contatto esternamente con il liquido seminale. Segue poi la chiusura delle paillettes che deve essere eseguita tramite una termosaldatrice^{5, 12}. In alternativa alle paillettes possono essere utilizzate delle cryovials con tappo a vite da 1,5 ml in cui il seme viene stoccato diluito 1:1 con il crioprotettore¹³.

Urine

Le tecniche utilizzate per la crioconservazione di spermatozoi da urina sono le medesime della crioconservazione da liquido seminale. In questo caso è importante ricordare la necessità di basificare il pH dell'urina mediante terapia con Bicarbonato di sodio, in modo da evitare l'effetto lesivo dell'ambiente acido sugli spermatozoi.

Agoaspirato epididimale o testicolare (PESA, TESA)

Il recupero di spermatozoi da epididimo mediante aspirazione percutanea (PESA) o da testicolo mediante aspirazione testicolare (TESA) è indicato in pazienti affetti da azoospermia ostruttiva¹⁴⁻¹⁵ (Fig. 1).

Fig. 1



A: PESA



B: TESA

Nei casi in cui questi metodi portino ad un buon recupero di spermatozoi la crioconservazione si effettua nelle medesime condizioni di quella da liquido seminale.

Invece, nel caso in cui il numero fosse esiguo, si possono utilizzare tecniche che prevedono l'utilizzo della zona pellucida dell'ovocita di criceto, di topo o umano¹⁶⁻¹⁷, singole gocce di crioprotettore in cui crioconservare singoli spermatozoi posti in capsule di Petri¹⁸ o in gocce poste in criovials¹⁹ o infine utilizzando le cryoloops²⁰.

Biopsia testicolare (TESE, micro-TESE)

La Biopsia testicolare (TESE) ha come obiettivo il recupero di spermatozoi da utilizzare nei cicli di Microiniezione spermatica (ICSI). La TESE associata ad ICSI è stata introdotta da Schoysman nel 1993 in casi di azoospermia ostruttiva; successivamente tale tecnica è stata applicata anche in casi di azoospermia non ostruttiva²¹.

Questa tecnica infatti è indicata in pazienti che presentano:

- azoospermia ostruttiva (OA), in cui non possibile il recupero mediante PESA o TESA
- azoospermia non ostruttiva (NOA) in casi di grave ipospermatogenesi
- aneiaculazione
- terato-necrozoospermia completa
- pregressa vasectomia
- astenozoospermia completa.

Le tecniche più utilizzate per il prelievo chirurgico di spermatozoi a livello testicolare sono principalmente 2:

- TESE (estrazione chirurgica di spermatozoi testicolari)
- Micro-TESE (Estrazione microchirurgica di spermatozoi testicolari)

TESE

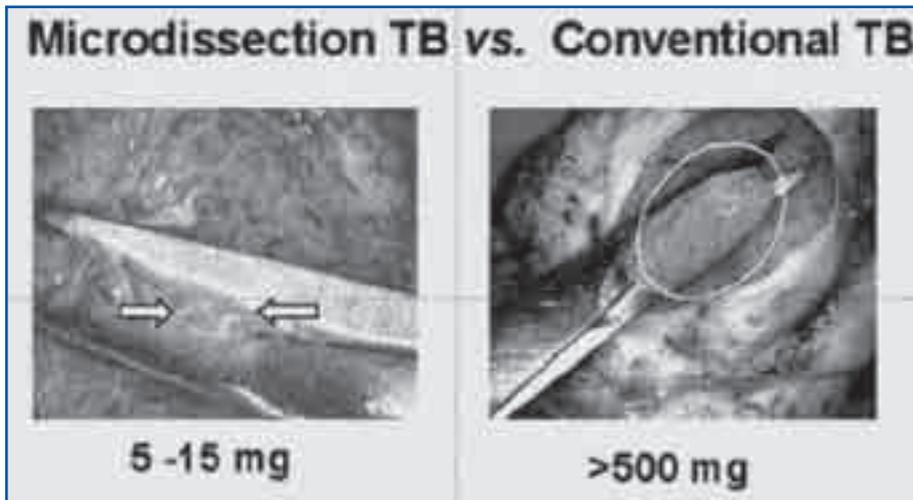
La tecnica più utilizzata per l'estrazione di spermatozoi testicolari consiste nell'asportazione di frammenti di tessuto testicolare²²⁻²³.

La tecnica prevede la possibilità di eseguire prelievi singoli o multipli unilateralmente o in entrambi i testicoli. Studi che hanno valutato le percentuali di recupero per singolo prelievo riportano una percentuale di ritrovamento del 40%²⁴⁻²⁶. Per prelievi multipli è stata riportata una percentuale di recupero in media del 52,6%^{19, 26}.

Micro-TESE

Questa tecnica permette di ispezionare al microscopio operatore il parenchima testicolare per la ricerca di foci di spermatogenesi residua, permettendo anche di ridurre la quantità di tessuto testicolare asportato. Con questa metodica viene garantito un maggiore rispetto della vascolarizzazione con minori rischi di danneggiare ulteriormente il parenchima testicolare (Fig. 2).

Fig. 2



A differenza della TESE in questo caso il tessuto prelevato viene immediatamente processato per la ricerca di spermatozoi contemporaneamente quindi alla fase del prelievo²⁷.

Con tale tecnica la percentuale di recupero è del 58-60%²⁸.

Nei casi in cui questi metodi portino ad un buon recupero di spermatozoi la crioconservazione si effettua nelle medesime condizioni di quella da liquido seminale.

Nel caso in cui invece il numero fosse esiguo si possono utilizzare tecniche che prevedono l'utilizzo della zona pellucida dell'ovocita di criceto, topo o umano¹⁶⁻¹⁷ o altri autori riportano l'utilizzo di cryovials²⁰.

7.4 CRIOCONSERVAZIONE DI SINGOLI SPERMATOZOI

In letteratura sono state descritte varie metodiche di crioconservazione di singoli o pochi spermatozoi. Il primo tentativo risale al 1997 mediante iniezione di spermatozoi nella zona pellucida di ovociti di topo e criceto e successiva crioconservazione con metodo rapido²⁹. In seguito tale metodica è stata effettuata anche utilizzando ovociti umani con successiva crioconservazione con metodo rapido³⁰ o lento automatizzato³¹.

Negli stessi anni sono state messe a punto metodiche alternative, basate sull'utilizzo di micropaillettes, inserite in cryovials congelate con metodo rapido³² o di microgocce poste in capsule di Petri e crioconservate direttamente in azoto liquido^{33,34,18}.

Alcuni Autori hanno riportato l'utilizzo della pipetta da ICSI come carrier sterile ed integralmente crioconservata in azoto liquido³⁵⁻³⁶ o di sfere di alghe di Volvox Globatore³⁷ o di gocce di alginato, un polisaccaride derivato da diverse specie di alghe brune³⁸.

Altri autori hanno descritto l'utilizzo di Cryoloops per la crioconservazione di volumi minimi con un singolo o ristretto numero di spermatozoi, mediante diversi protocolli di crioconservazione quali la vitrificazione, il congelamento lento o quello veloce³⁹⁻⁴³. Infine è stata descritta una metodica di crioconservazione mediante utilizzo di microsferi di agarosio al 2%⁴⁴.

Scongelamento

Lo scongelamento rappresenta l'ultima fase critica dell'intero processo di crioconservazione in quanto permette alla cellula di recuperare le normali attività biologiche.

Le metodiche di scongelamento sono strettamente legate alla modalità della crioconservazione. Quelle più comunemente utilizzate sono:

1. a temperatura ambiente per 10 minuti e in termostato a 37°C per 10 minuti
2. in termostato a bagnomaria a 37°C per 10 minuti
3. a temperatura ambiente (22°C) per 15 minuti

7.5 RISULTATI

Affinchè una tecnica di crioconservazione possa essere utilizzata in modo routinario deve permettere di ottenere:

- un'alta percentuale di recupero di spermatozoi dopo la crioconservazione;
- un'alta percentuale di spermatozoi mobili post-crioconservazione;
- un'alta percentuale di sopravvivenza nemaspermica post-congelamento;
- un'alta percentuale di fertilizzazione.

I risultati ottenuti utilizzando cellule crioconservate, sia che esse derivino da eiaculato che da testicolo o epididimo sono sovrapponibili a quelli ottenuti mediante campioni a fresco, con percentuali variabili nei vari studi, a seconda dell'utilizzo delle varie metodiche di crioconservazione, tra il 50 e l'80% per la fertilizzazione^{13,16,18,19,22,29,30,33-35,37-50}, tra il 60 ed il 100% per il recupero di spermatozoi^{16-18,20,29,30,34-37,41-44,47-52}, tra l'8% e l'85% per la vitalità post-scongelamento^{33,36,38,39,47-49} e tra il 2% ed il 100% per la motilità post-scongelamento^{16-18,29-32,34,37-39,41,42,44,48-52}.

7.6 CONCLUSIONI

La crioconservazione è un valido strumento di supporto nel trattamento dell'infertilità maschile. Grazie a questa metodica, infatti, anche i pazienti con gravi alterazioni testicolari possono ricorrere alle tecniche di fecondazione assistita (IUI, FIVET, ICSI, IMSI).

Le metodiche di crioconservazione degli spermatozoi che oggi sono a disposizione sono molte e il loro utilizzo varia in relazione alla gravità del danno testicolare che il paziente presenta. Nel caso in cui sia possibile reperire un numero elevato di spermatozoi nell'eiaculato o mediante tecniche di recupero, l'utilizzo delle paillettes è da considerarsi un metodo di crioconservazione sicuro ed efficace. Nel caso in cui, invece, siano disponibili solo poche cellule spermatiche, non esistono studi randomizzati in grado di provare se una tecnica sia preferibile rispetto alle altre⁵³.

Bibliografia

1. Bunge RG, Keettel WC, Sherman JK. Clinical use of frozen semen; report of four cases. *Fertil Steril*. 1954; 5(6): 520-529.
2. O'Connell M, McClure N, Lewis SE. The effects of cryopreservation on sperm morphology, motility and mitochondrial function. *Hum Reprod* 2002; 17(3): 704-709.
3. Woolley DM, Richardson DW. Ultrastructural injury to human spermatozoa after freezing and thawing. *J Reprod Fertil* 1978; 53(2): 389-394.
4. Donnelly ET, McClure N, Lewis. Cryopreservation of human semen and prepared sperm: effects on motility parameters and DNA integrity. *Fertil Steril* 2001; 76(5): 892-900.
5. Louise W, Gail SP. Cryosurvival of Human Spermatozoa frozen in eight different buffer systems. *J Androl* 1987;8: 41-47.
6. Desrosiers P, Legare C, Leclerc P, Sullivan R. Membranous and structural damage that occur during cryopreservation of human sperm may be time-related events. *Fertil Steril* 2006; 85(6): 1744-1752.
7. Sinan O, Esra E, Ayca I, Derya O, Sercin K. Effect of cryopreservation on sperm parameters and ultrastructural morphology of human spermatozoa. *J Assist Reprod Genet* 2008;25:403-411.

8. Grischenko VI, Dunaevskaya AV, Babenko VI. Cryopreservation of human sperm using rapid cooling rates. *Cryo Letters* 2003; 24(2): 67-76.
9. Sherman JK, Bunge RG. Observation on preservation of human spermatozoa at low temperatures. *Proc Soc Exp Biol Med* 1953; 82(4): 686-688.
10. Sawada Y, Ackerman D, Behrman SJ. Motility and respiration of human spermatozoa after cooling to various low temperatures. *Fertil Steril* 1967; 18(6): 775-781.
11. Mazzilli F, Delfino M, Imbrogno N, Elia J, Dondero F. Survival of micro-organisms in cryostorage of human sperm. *Cell and Tissue Banking* 2006; 7: 75-79.
12. Rossato M, Zorzi M, Ferlin A, Garolla A, Foresta C. Effects of cryopreservation on progesterone-induced ion flux and acrosome reaction in human spermatozoa. *Hum reprod* 2000; 15(8): 1739-1743.
13. Borges E jr, Rossi LM, Locambo de Freitas CV, Guilherme P, Bonetti TC, Iaconelli A, Pasqualotto FF. Fertilization and pregnancy out come after intracytoplasmic injection with fresh or cryopreseved ejaculated spermatozoa. *Fertil Steril* 2007; 87(2): 316-320.
14. Hovatta O, Moilanen J, Von Smitten K, Reima I. Testicular needle biopsy, open biopsy, epididymal aspiration and intracytoplasmic sperm injection in obstructive azoospermia. *Hum Reprod* 1995; 10: 2595-2599.
15. Foresta C, Zorzi M, Galeazzi C, Rossato M. Functional and structural characteristics of human epididymal spermatozoa retrieve by percutaneous aspiration. *Int J Androl* 1995; 18: 197-202.
16. Walmsley R, Cohen J, Ferrara-Congedo T, Reing A, Garrisi J. The first births and ongoing pregnancies associated with sperm cryopreservation within evacuated egg zonae. *Hum Reprod* 1998; 13(Suppl. 4): 61-70.
17. Hsieh Y, Tsai H, Chang C, Lo H,. Cryopreservation of human spermatozoa within human or mouse empty zona pellucidiae. *Fertil Steril* 2000a; 73: 694.
18. Sereni E, Bonu MA, Fava L, Sciajno R, Serrao L, Preti S, Distratis V, Borini A. Freezing spermatozoa obtained by testicular fine needle aspiration: a new technique. *Reprod Biomed Online* 2008;16: 89-95.
19. Gil-Salom M, Romero J, Rubio C, Ruiz A, Remohi J, Pellicer A. Intracytoplasmic sperm injection with cryopreserved testicular spermatozoa. *Mol Cell Endocrinol* 2000; 169: 15-19.
20. Desai NN, Blackmon H, Goldfarb J. Single sperm cryopreservation on cryoloops: an alternative to hamster zona for freezing individual spermatozoa. *Reprod Biomed Online* 2004b; 9: 47-53.
21. Silber SJ, Van Steiteghem 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: 148-152.
22. Moshe W, Antoine A, Makhlof and Craig S. Niederberger. Therapeutic biopsy for sperm retrieval. *Curr Opin Urol* 2007; 17: 431-438.
23. Garg T, LaRosa C, Strawn E, Robb P, Sandlow JI. Outcomes after testicular aspiration and testicular tissue cryopreservation for obstructive azoospermia and ejaculatory dysfunction. *J Urol* 2008; 180: 2577-2580.
24. Friedler S, Raziel A, Strassburger D, Soffer Y, Komarovsky D, Ron-ELR. Testicular sperm retrieval by percutaneous fine needle sperm aspiration compared with testicular sperm extraction by open biopsy in men with non-obstructive azoospermia. *Hum Reprod.* 1997; 12: 1488-1493.
25. Schlegel PN, Lu LM. Physiological consequences of testicular sperm extraction. *Hum Reprod* 1997;12:1688-1692.
26. Hauser R, Botchan A, Amit A et al. Multiple testicular sampling in non-obstructive azoospermia-is it necessary ? *Hum Reprod* 1998; 13: 3081-3085.
27. Akira T. Microdissection testicular sperm extraction: Prediction, outcome and complications. *Int J Urol* 2007; 14: 883-889.
28. Su LM, Palermo GD, Goldstein M, Veeck LL, Rosenwaks Z, Schelegel PN. Testicular sperm extraction with intracytoplasmic sperm injection for nonobstructive azoospermia: Testicular histology can predict success of sperm retrieval. *J Urol* 1999; 161: 112-116.
29. Cohen J, Garrisi GJ, Congedo-Ferrara TA, Kieck KA, Schimmel TW, Scott RT. Cryopreservation of single human spermatozoa. *Hum Reprod* 1997; 12: 994-1001.
30. Borini A, Sereni E, Bonu MA, Flamigni C. Freezing a few testicular spermatozoa retrieved by TESA. *Mol Cell Endocrinol* 2000; 169: 27-32.
31. Hassa H, Gurer F, Yildirm A, Can C, Sahinturk V, Tekin B. A new protection solution for freezing small numbers of sperm inside empty zona pellucida: Osmangazi-Turk solution. *Cell Preserv Technol* 2006; 4: 199-208.

32. Desai N, Glavan D, Goldfarb J. A convenient technique for cryopreservation of micro quantities of sperm. *Fertil Steril* 1998; S197–S198. Annual meeting program supplement.
33. Quintans CJ, Donaldson MJ, Asprea I, Geller M, Rocha M, Pasqualini RS. Development of a novel approach for cryopreservation of very small numbers of spermatozoa. *Hum Reprod* 2000; 15: 99.
34. Bouamama N, Briot P, Testart J. Comparison of two methods of cryoconservation of sperm when in very small numbers. *Gynecol Obstet Fertil* 2003; 31: 132–135.
35. Gvakharia M, Adamson GD. A method of successful cryopreservation of small numbers of human spermatozoa. *Fertil Steril* 2001; 76: S101.
36. Sohn JO, Jun SH, Park LS, Kim EK, Chung TG, Lee DR. Comparison of recovery and viability of sperm in ICSI pipette after ultra rapid freezing or slow freezing. *Fertil Steril* 2003; 80: S128.
37. Just A, Gruber I, Wober M, Lahodny J, Obruca A, Strohmer H. Novel method for the cryopreservation of testicular sperm and ejaculated spermatozoa from patients with severe oligospermia: a pilot study. *Fertil Steril* 2004; 82: 445–447.
38. Herrler A, Eisner S, Bach V, Weissenborn U, Beier HM. Cryopreservation of spermatozoa in alginic acid capsules. *Fertil Steril* 2006; 85: 208–213.
39. Nawroth F, Isachenko V, Dessole S, Rahimi G, Farina M, Vargiu N, Mallmann P, Dattena M, Capobianco G, Peters D et al. Vitrification of human spermatozoa without cryoprotectants. *Cryo Letters* 2002; 23: 93–102.
40. Schuster TG, Keller LM, Dunn RL, Ohi DA, Smith GD. Ultra-rapid freezing of very low numbers of sperm using cryoloops. *Hum Reprod* 2003; 18:788–795.
41. Isachenko E, Isachenko V, Katkov II, Rahimi G, Schondorf T, Mallmann P, Dessole S, Nawroth F. DNA integrity and motility of human spermatozoa after standard slow freezing versus cryoprotectant-free vitrification. *Hum Reprod* 2004a; 19: 932–939.
42. Isachenko V, Isachenko E, Montag M, Zaeva V, Krivokharchenko I, Nawroth F, Dessole S, Katkov II, van der Ven H. Clean technique for cryoprotectant-free vitrification of human spermatozoa. *Reprod Biomed Online* 2005; 10: 350–354.
43. Desai N, Culler C, Goldfarb J. Cryopreservation of single sperm from epididymal and testicular samples on cryoloops: preliminary case report. *Fertil Steril* 2004a; 82: S264.
44. Isaev DA, Zaletov SY, Zaeva VV, Zakharova EE, Shafei RA, Krivokharchenko IS. Artificial microcontainers for cryopreservation of solitary spermatozoa. *Hum Reprod* 2007; 22: i154.
45. De Croo I, Van der Elst J, Everaert K, De Sutter P, Dhont M. Fertilization, pregnancy and embryo implantation rates after ICSI with fresh or frozen-thawed testicular spermatozoa. *Hum Reprod* 1998; 13(7): 1893–1897.
46. Koscinski I, Wittemer C, Lefebvre-Khalil V, Marcelli F, Defossez A, Rigot JM. Optimal management of extreme oligozoospermia by an appropriate cryopreservation programme. *Hum Reprod*. 2007; 22(10): 2679–2684.
47. Montag M, Rink K, Dieckmann U, Delacretaz G, van der Ven H. Laser-assisted cryopreservation of single human spermatozoa in cell-free zona pellucida. *Andrologia* 1999; 31: 49–53.
48. Suzuki N, Suzuki Y, Sato T, Matsubara H, Ikuta K, Suzumori K. Cryopreservation of a few spermatozoa in hamster zonae pellucidae. *Hum Reprod* 1999; 14: 289.
49. Liu J, Zheng XZ, Baramki TA, Compton G, Yazigi RA, Katz E. Cryopreservation of a small number of fresh human testicular spermatozoa and testicular spermatozoa cultured in vitro for 3 days in an empty zona pellucida. *J Androl* 2000; 21: 409–413.
50. Isachenko V, Isachenko E, Katkov II, Montag M, Dessole S, Nawroth F, Van Der Ven H. Cryoprotectant-free cryopreservation of human spermatozoa by vitrification and freezing in vapor: effect on motility, DNA integrity, and fertilization ability. *Biol Reprod* 2004b; 71: 1167–1173
51. Levi-Setti PE, Albani E, Negri L, Cesana A, Novara P, Bianchi S. Cryopreservation of a small number of spermatozoa in yolk-filled human zonae pellucidae. *Arch Ital Urol Androl*. 2003; 75(4): 195-198.
52. Cesana A, Novara P, Bianchi S, Marras A, Albani E, Negri L, Levi-Setti PE. Sperm cryopreservation in oligoasthenospermic patients. The 19th Annual Meeting of the ESHRE, Madrid, Spain. *Hum Reprod* 2003; 18: xviii76.
53. AbdelHafez F, Bedaiwy M, El-Nashar S, Sabanegh E, Desai N. Techniques for cryopreservation of individual or small numbers of human spermatozoa: a systematic review. *Hum Reprod Update* 2008; 1(1): 1-12.

8. Parametri seminali e tecniche di procreazione medicalmente assistita

INTRODUZIONE

L'avvento delle tecniche di fecondazione assistita ha posto il problema di mettere a punto delle metodologie che consentano di selezionare, in vitro, gli spermatozoi dotati di migliore potenzialità fecondante. Mediante il corretto impiego delle varie tecniche di inseminazione intrauterina e di fecondazione assistita (FIVET e ICSI) e delle metodiche di preparazione del seme si è riusciti ad ottenere successi anche in casi in cui, per impedimenti organici o funzionali del partner maschile o femminile, sarebbe stato improbabile od impossibile ottenere una fecondazione per via naturale.

L'obiettivo comune delle metodiche di preparazione del seme, da utilizzare in un programma di fecondazione assistita, è quello di giungere ad ottenere il maggior numero di spermatozoi mobili e normoconformati, possibilmente dotati di una buona capacità fecondante. In realtà non sempre si raggiunge lo scopo perché, al di là dell'esistenza della oligozoospermia intesa come riduzione puramente numerica della concentrazione nemaspermica, il punto che più gravemente interferisce con la potenzialità fecondante del seme è l'esistenza di una "oligozoospermia funzionale", intesa come riduzione della capacità potenziale fecondante. In tal senso, prima di impostare protocolli terapeutici per una infertilità di coppia legata al fattore maschile, basati sull'uso di tecniche di preparazione del seme, è fondamentale un approccio di studio del liquido seminale mirato alla valutazione della funzione nemaspermica.

Scopo delle metodiche di selezione nemaspermica è quello di mimare in vitro, quanto più possibile, le modificazioni che fisiologicamente lo spermatozoo subisce durante il transito nell'apparato genitale femminile. Le vie genitali femminili, infatti, svolgono una funzione indispensabile ai fini della fecondazione, preparando lo spermatozoo all'incontro con l'ovocita e rendendolo quindi capace di penetrare gli involucri esterni del gamete femminile. Tale azione si svolge a partire dall'incontro con il muco cervicale che agisce come una vera e propria barriera selezionando negativamente gli spermatozoi con alterata motilità e morfologia ed innescando il processo di capacitazione che sarà poi completato dal fluido uterino, tubarico, follicolare e dalle sostanze rilasciate dalle cellule del cumulo ooforo.

Un postulato considerato irrinunciabile per migliorare le caratteristiche del campione in esame è rappresentato dall'eliminazione del plasma seminale e delle componenti cellulari non nemaspermiche (leucociti, cellule epiteliali, ecc.) in esso contenute e dalla scelta del terreno di coltura in

cui risospendere il pool di spermatozoi durante il trattamento. Tutti i terreni di coltura utilizzati hanno come base comune una miscela di sali inorganici, nota come "soluzione salina bilanciata". La funzione di questi sali nel terreno è quella di controllare il pH e la pressione osmotica e fornire alle cellule apporto energetico. La scelta dei componenti di un terreno di coltura condiziona, ovviamente, il risultato che ci si propone di ottenere sin dall'inizio della metodica. Tale scelta, infatti, deve prevedere soprattutto le modificazioni che lo spermatozoo subirà a contatto con il terreno di coltura in questione, così da sincronizzare al massimo la sua maturazione, la capacitazione e la successiva reazione acrosomiale, con i tempi biologici di maturazione dell'ovocita. L'aggiunta di sostanze adeguate (albumina, acido ialuronico, ecc.) al terreno consente, infatti, di ottenere l'attivazione del processo di capacitazione, che apre la strada alla successiva reazione acrosomiale. Purtroppo, le modificazioni maturative cui lo spermatozoo va incontro durante il transito utero tubarico sono solo parzialmente sostituibili con le attuali metodiche di selezione nemaspermica e capacitazione in vitro. Queste metodiche hanno infatti in comune il limite di provocare un innesco contemporaneo delle reazioni di membrana che sicuramente non possono somigliare che lontanamente a quello che realmente avviene in utero. In condizioni fisiologiche infatti, a livello della cavità uterina, giungono varie popolazioni nemaspermiche, a diverso grado di maturazione. In tale modo esistono spermatozoi disponibili alla fecondazione in tempi differenti, il che, sommato alle ondate nemaspermiche rilasciate a tempi successivi dalle cripte del canale cervicale, consente di coprire un periodo assai lungo di possibilità di fecondazione con un solo rapporto.

Quanto suddetto non fa che ribadire, quindi, l'importanza di cercare di impiegare correttamente le metodiche di preparazione del seme al fine di non danneggiare gli spermatozoi, e di scegliere, di volta in volta, la tecnica meno traumatica in rapporto al risultato desiderato¹. Le metodiche che abbiamo oggi a disposizione consentono di: 1) separare gli spermatozoi dal plasma seminale concentrandoli in un piccolo volume di terreno di coltura; 2) selezionare gli spermatozoi dotati di migliore motilità e morfologia; 3) aumentare le capacità cinetiche degli spermatozoi selezionati e conservarne la motilità nel tempo; 4) fornire un campione incontaminato^{2,3}. Peraltro tali metodiche non riescono a selezionare spermatozoi sicuramente dotati di capacità fecondante e con corredo cromosomico aploide normale.

La scelta della metodica di selezione nemaspermica, o meglio di terapia in vitro del seme da utilizzare, dovrà seguire, inoltre, due criteri di fondo: a) essere la meno traumatica per la cellula nemaspermica per il tipo di risultato che speriamo di ottenere; b) essere, sia in caso di normospermia che in caso di dispermia, la più utile a seconda del liquido seminale da preparare.

METODICHE

Le metodiche che vengono impiegate attualmente più di frequente sono la preparazione mediante tecnica del swim up e la separazione su gradiente di densità.

Indubbiamente, la metodica meno traumatica è rappresentata dal swim up da strato fisico, in quanto con questa tecnica è la motilità stessa degli spermatozoi che ne garantisce la separazione dal plasma seminale e dalle eventuali componenti cellulari patologiche in esso contenute, senza alcuna centrifugazione preliminare e quindi con una maggiore preservazione dell'integrità cromatinica^{4,5}. Tale tecnica presuppone, però, un campione seminale basale con sufficiente concentrazione nemaspermica ed, in particolare, un buon numero di spermatozoi dotati di motilità tipica; è quindi da consigliare in tutti i casi di campione seminale non troppo alterato, e nelle metodiche di fecondazione assistita che presuppongono le più basse concentrazioni nemaspermiche.

Nei casi di bassa concentrazione spermatica si deve ricorrere alla tecnica del swim up da pellet, che consente un miglior risultato, in quanto tutti gli spermatozoi presenti nell'eiaculato vengono concentrati nel pellet e, quindi, un maggior numero di forme mobili può migrare nel terreno.

Le metodiche di separazione per gradiente di densità richiedono l'utilizzo di una colonna di liquido con densità crescente man mano che si raggiunge il fondo della provetta. Nel gradiente discontinuo si stratificano soluzioni a densità decrescente ponendo alla sommità della colonna un'opportuna aliquota del campione da separare. La colonna viene poi centrifugata per un tempo sufficientemente lungo affinché, nel passaggio del campione attraverso il gradiente, si formino delle bande di sedimentazione, ciascuna delle quali composta da cellule caratterizzate da una specifica velocità di sedimentazione. La velocità di sedimentazione di una particella è direttamente proporzionale alla dimensione, alla densità ed alla differenza tra la sua densità e quella del mezzo.

La tecnica di separazione per gradiente svolge una potente azione di filtro su tutte le componenti seminali⁶ consentendo, in particolare, di ridurre la generazione di specie reattive dell'ossigeno (ROS) derivanti da cellule contaminanti o da spermatozoi atipici.⁷ In tal senso è indicato utilizzare tale metodica in tutte quelle condizioni seminali caratterizzate da elevata presenza di componente cellulare non nemaspermica, per evitare che una elevata produzione di ROS da parte di queste cellule possa alterare la capacità fecondante degli spermatozoi. In particolare, tale metodica sembra essere la più indicata in caso di ICSI. Infatti i liquidi seminali candidati a tale tecnica di fecondazione mostrano frequentemente una grave condizione di oligoastenoteratozoospermia che non consente di utilizzare le metodiche di swim up a causa della severa ipomotilità.

CONCLUSIONI

L'esecuzione di test preliminari, sia per quanto concerne la scelta della metodica di preparazione del seme, sia per quanto riguarda l'approfondimento di test funzionali, possono orientare verso la tecnica di preparazione del seme e di fecondazione assistita più idonea e possono ridurre sensibilmente la percentuale di errori e di insuccessi sia nei casi di seme patologico, sia nei casi di seme normale o apparentemente normale.

La scelta della metodica di selezione nemaspermica, deve essere personalizzata sulla base delle caratteristiche del seme da preparare. In particolare se il seme è patologico il fine che ci proponiamo sarà quello di ottenere un pool nemaspermico dotato di una potenzialità fecondante maggiore di quella del seme di partenza. Se invece il seme è normozoospermico dobbiamo porci di ottenere un pool nemaspermico finale caratterizzato da una potenzialità fecondante simile a quella del seme in toto.

Bibliografia

1. Ombelet W, Deblaere K, Bosmans E, Cox A, Jacobs P, Janssen M, Nijs M. Semen quality and intrauterine insemination. *Reprod Biomed Online*. 2003; 7 (4): 485-492.
2. Gravance CG, Champion ZJ, Sax-Gravance SK, Casey PJ. Percentage of normal sperm heads is significantly increased by Percoll separation of semen. *Int J Androl*. 1998; 21 (2): 116-119.
3. Donnelly ET, O'Connell M, McClure N, Lewis SE. Differences in nuclear DNA fragmentation and mitochondrial integrity of semen and prepared human spermatozoa. *Hum Reprod*. 2000 Jul; 15 (7): 1552-1561.
4. Zini A, Finelli A, Phang D, Jarvi K. Influence of semen processing technique on human sperm DNA integrity. *Urology*. 2000; 56 (6):1081-1084.
5. Jakab A, Kovacs T, Zavaczki Z, Borsos A, Bray-Ward P, Ward D, Huszar G. Efficacy of the swim-up method in eliminating sperm with diminished maturity and aneuploidy. *Hum Reprod*. 2003; 18 (7): 1481-1488.
6. Gandini L, Lenzi A, Lombardo F, Pacifici R, Dondero F. Immature germ cell separation using a modified discontinuous Percoll gradient technique in human semen. *Hum Reprod*. 1999; 14 (4):1022-1027.
7. Henkel RR, Schill WB. Sperm preparation for ART. *Reprod Biol Endocrinol*. 2003; 1(1):108.

8.1 INSEMINAZIONE INTRAUTERINA (IUI)

L'inseminazione con seme del partner è una tecnica di procreazione medicalmente assistita ampiamente utilizzata, grazie alla sua semplicità di esecuzione, alla bassa invasività, ai bassi costi e perché rispettosa delle fisiologiche tappe dei processi di fecondazione dell'ovocita.

Di tutte le procedure disponibili (inseminazione intravaginale, inseminazione intracervicale o inseminazione intraperitoneale), l'inseminazione intra-uterina (IUI) è quella maggiormente considerata ed applicata.

O'Donovan in una metanalisi del 1993 conclude che in coppie con partner maschile affetto da oligozoospermia, l'inseminazione intra-uterina raddoppia le possibilità di ottenere una gravidanza dopo induzione della superovulazione, se paragonata all'inseminazione intracervicale o a rapporti mirati¹. Gli stessi risultati possono essere dedotti da una metanalisi di Hughes di quattro anni dopo².

Guzick nel 1999 riporta, in un suo studio prospettico e randomizzato, come l'utilizzo dell'inseminazione intra-uterina raddoppi le probabilità di gravidanza rispetto all'inseminazione intracervicale³.

Nella metanalisi di Hughes² l'associazione all'inseminazione intra-uterina di un trattamento per ottenere una super-ovulazione (SO) comporta un incremento di ben 5 volte delle probabilità di successo.

Lo studio randomizzato di Guzick³ dimostra che l'associazione induzione della superovulazione e inseminazione intra-uterina triplica le possibilità di successo di una coppia, se paragonata alle sole inseminazioni intra-cervicali e raddoppia le stesse possibilità se paragonata alla sola inseminazione intra-uterina.

INDICAZIONI

Numero di spermatozoi inseminati

Il parametro più frequentemente utilizzato per valutare le correlazioni tra percentuali di successo e caratteristiche del liquido seminale è sicuramente il numero totale di spermatozoi mobili inseminati (NTSM).

Campana nel 1996¹⁶ riporta, dopo l'analisi retrospettiva di 1115 inseminazioni, una riduzione significativa delle probabilità di gravidanza qualora il NTSM sia $< 1 \times 10^6$ (percentuale di gravidanze per inseminazione che passa dal 6,7% al 2,1%).

Van der Westerlaken³² riporta gli stessi risultati considerando un NTSM $< 2 \times 10^6$.

Khalil nel 2001³⁵ in seguito ad uno studio retrospettivo su 2473 inseminazioni in una popolazione scandinava aumenta questo "cut-off" a 5×10^6 (percentuale di gravidanze per inseminazione che passa dal 12,8% al 5,3%).

Un parametro preso in considerazione in diversi studi è la percentuale di spermatozoi normali. A tale riguardo una recente metanalisi²⁰ riporta un incremento significativo dei risultati dopo inseminazione intrauterina quando la percentuale di forme fisiologiche supera il 4% (secondo gli stretti criteri dell'OMS). La "risk difference" riportata è pari a -0.07 (95% CI 0.11-0.03), e tutti gli studi analizzati sono retrospettivi.

In considerazione dei risultati riportati si ritiene che un numero totale di spermatozoi mobili inseminati di almeno 2×10^6 ed una percentuale di forme normali superiore al 4% siano valori soddisfacenti per dare indicazione ad una procedura di inseminazione intra-uterina.

Infertilità di eziologia sconosciuta

La sterilità viene definita ad eziologia sconosciuta quando il fallimento ad ottenere una gravidanza, a dispetto di frequenti rapporti e di normali indagini diagnostiche (pervietà tubarica, normali parametri del liquido seminale, normali processi ovulatori), persiste per almeno un anno⁴.

Dopo un anno di tentativi, la probabilità attesa di ottenere la gravidanza cercata è del 3%. Le tecniche di fecondazione in vitro assicurerebbero a queste coppie una probabilità di concepimento del 20% circa⁵, a costi sicuramente più elevati rispetto a tecniche di procreazione medico assistita più semplici.

È quindi utile prendere in considerazione in queste coppie "steps" terapeutici intermedi, quali le inseminazioni intrauterine?

Le linee guida del Royal College of Obstetricians and Gynecologists (RCOG)⁶ pubblicate nel 1998 stabiliscono che l'induzione della superovulazione associata all'inseminazione intra-uterina è un trattamento efficace per le coppie affette da sterilità da causa ignota. Tali linee guida si basano esclusivamente sui risultati ottenuti dalla metanalisi di Hughes².

Un recente articolo di Stewart⁷ sottolinea come tra i 22 studi considerati da Hughes solo uno⁸ sia stato effettivamente condotto in coppie affette da sterilità di origine sconosciuta e che questo peraltro non sostiene alcun vantaggio dell'inseminazione intra-uterina rispetto alla semplice induzione dell'ovulazione con rapporti mirati.

Lo stesso anno della pubblicazione delle linee guida del RCOG, Guzick⁹ pubblica su "Fertility and Sterility" una "review" di tutti gli articoli pubblicati tra il 1985 ed il 1995 in merito a questo argomento. Secondo l'autore la scarsità di studi randomizzati e controllati impedirebbe la stesura di linee guida "fortemente supportate dall'evidenza". Nonostante ciò è lo stesso Autore a confermare l'inseminazione intra-uterina un valido trattamento per la sterilità inspiegata.

Dai risultati ottenuti da una recente review del "Cochrane database" la fertilizzazione in vitro (FIVET) comporterebbe un ODDS RATIO di 1.96 (95% CI 0.88-4.36), con un intervallo di confidenza non significativo, nella probabilità di ottenere un concepimento rispetto all'inseminazione intra-uterina in coppie affette da sterilità ad eziologia sconosciuta¹⁰.

N.B. risulta discutibile se una isterosalpingografia (ISG) sia un esame sufficiente per diagnosticare una "sicura normalità" del canale genitale femminile¹¹. Alcuni centri preferiscono un'indagine endoscopica (laparoscopia + isteroscopia)¹²⁻¹³.

Infertilità maschile di grado lieve-moderato

L'infertilità di coppia da fattore maschile di grado lieve-moderato rimane l'indicazione principale all'inseminazione intrauterina.

Una "Cochrane review" del 2000, che include 17 studi randomizzati controllati, condotti su coppie in cui l'unico problema riscontrato era una subfertilità maschile, per un totale di 3662 cicli completati, riporta un ODDS RATIO di 2.43 (95% CI 1.54-3.83) paragonando in cicli naturali l'inseminazione intra-uterina ai semplici rapporti mirati. Aggiungendo un trattamento per l'induzione della super ovulazione la differenza rimane, con un ODDS RATIO di 2.14 (95% CI 1.30-3.51)¹⁴.

Secondo Goverde l'inseminazione intra-uterina dovrebbe essere considerata trattamento di scelta in coppie con infertilità maschile di grado lieve-moderato in quanto i risultati sarebbero paragonabili a quelli della fertilizzazione in vitro, ma a costi nettamente inferiori¹⁵.

La definizione di subfertilità maschile è eterogenea nei diversi studi ed i "cut-off" utilizzati per i parametri del liquido seminale analizzati sono variabili; la maggior parte degli autori sono comunque concordi nel definire come numero minimo indispensabile di spermatozoi mobili progressivi dopo preparazione quello di 1-2 milioni¹⁶⁻¹⁷⁻¹⁸⁻¹⁹ e come percentuale di forme fisiologiche quella del 4% secondo i criteri dell'OMS del 1999²⁰⁻²¹.

Endometriosi I-II stadio AFS

Da una ricerca condotta dal Gruppo Italiano per lo Studio dell'Endometriosi, su 600 donne sottoposte a laparoscopia per sterilità (primaria o secondaria) una diagnosi di endometriosi è stata posta nel 30% dei casi; di queste il 51% erano allo stadio I (secondo la classificazione AFS), il 22% allo stadio secondo e il 27% allo stadio III o IV.

In uno studio clinico randomizzato, condotto su 341 donne affette da endometriosi lieve o moderata, nel quale la laparoscopia diagnostica veniva confrontata alla resezione/ablazione di lesioni visibili, l'intervento chirurgico appariva superiore nel migliorare la fertilità²². Tuttavia la frequenza totale di gravidanze a termine nelle donne non trattate era pari a circa il 20%. Un recente studio condotto su 101 pazienti con prima diagnosi di endometriosi al I o II stadio della classificazione R-AFS, confermata alla laparoscopia e con infertilità altrimenti non spiegata della durata di almeno due anni, ha confrontato il non trattamento verso la resezione/ablazione delle lesioni visibili (follow-up di un anno): nel gruppo resezione/ablazione le donne che hanno concepito sono state il 24%, contro il 29% nel gruppo nessun trattamento (differenza non significativa). Gli autori concludono che a tutt'oggi l'efficacia del trattamento chirurgico delle lesioni interne lievi non va considerata ben documentata²³.

Quale, allora, il ruolo dei trattamenti di induzione dell'ovulazione in queste pazienti? Quale il ruolo dell'inseminazione intra-uterina?

I dati presenti in letteratura a tale riguardo sono abbastanza pessimistici. Uno studio retrospettivo di Sinnika del 1999²⁴ riporta un tasso di gravidanza per ciclo di IUI + SO in donne affette da endometriosi I o II stadio pari al 6,5%, molto inferiore al 15,3% riportato per i cicli condotti in coppie affette da sterilità inspiegata. Tali risultati sono paragonabili a quelli riportati da altri autori²⁵ e confermati dalla metanalisi di Hughes², il quale conclude che una diagnosi di endometriosi si associa ad una riduzione delle probabilità di gravidanza dopo IUI + SO di circa la metà rispetto alle altre indicazioni.

I fattori che riducono la fertilità in caso di endometriosi lieve sono tuttora fonte di notevoli controversie. All'endometriosi sono stati associati un'alterazione dell'ambiente follicolare²⁶, un'alterata qualità ovocitaria²⁷, una riduzione del tasso d'impianto²⁸. Martinez nel 1997 suggerì un effetto "gameto-tossico" dell'endometriosi²⁹.

Questi risultati e quelli pubblicati in relazione all'efficacia della FIVET³⁰ suggerirebbero la fertilizzazione in vitro come tecnica di scelta in donne affette da endometriosi.

Una recente review inerente alla diagnosi di endometriosi e possibilità terapeutiche sostiene che l'inseminazione intrauterina associata ad induzione della superovulazione debba ancora essere considerata appropriata in caso di infertilità da endometriosi minima o moderata³¹.

Ripetuti insuccessi di induzione dell'ovulazione con rapporti mirati

Quando l'anovulazione cronica è il fattore eziologico della sterilità di coppia, l'induzione dell'ovulazione con rapporti mirati rimane il trattamento di scelta. Il tasso di ovulazione raggiunge il 70% per ciclo e il tasso di gravidanza il 30% per tentativo. In coppie in cui nonostante una buona risposta ovarica alla terapia medica non si sia ottenuta una gravidanza dopo un numero minimo di ovulazioni indotte (dai 6 ai 12 cicli) può valere la pena sostituire ai rapporti mirati l'inseminazione intrauterina in considerazione delle più alte probabilità di gravidanza², prima di ricorrere a trattamenti più invasivi e costosi quali la fertilizzazione in vitro.

8.2 FECONDAZIONE IN VITRO CON EMBRIO TRANSFER (FIVET)

La metodica FIVET (fecondazione in vitro e trasferimento embrionario) prevede:

- induzione della crescita follicolare e maturazione di più ovociti dopo somministrazione di farmaci induttori dell'ovulazione. In realtà è prevista anche l'opzione senza induzione multipla dell'ovulazione, la cosiddetta Fivet su ciclo naturale, che però viene poco utilizzata e riservata a pazienti "poor-responders" che anche con alte dosi di gonadotropine rispondono solo con 1 o 2 follicoli.
- Controllo della risposta ovarica mediante dosaggio di estradiolo ed ecografie per la misurazione del diametro follicolare e del numero di follicoli in crescita. Tale controllo è utile per personalizzare la posologia quotidiana delle gonadotropine, nei casi in cui le si stia utilizzando, e per individuare il tempo giusto per la somministrazione di HCG
- Prelievo degli oociti per via transvaginale, sotto controllo ecografico, in anestesia generale (in respirazione spontanea) o loco regionale.
- Preparazione del liquido seminale dell'uomo mediante adatte tecniche di laboratorio.
- Unione e coltura extracorporea dei gameti (ovociti e spermatozoi)
- Verifica dell'avvenuta fecondazione di ciascun ovocita mediante la visualizzazione dei due pronuclei. Tale passaggio è particolarmente importante per visualizzare gli ovociti con fecondazioni anomale: 1 PN, 3 PN, 4 PN; in questi casi è mandatorio non continuare la coltura e non utilizzare l'embrione, in quanto provvisto di un alterato corredo cromosomico e con alte possibilità di ottenere una mola vescicolare
- Valutazione dell'avvenuta segmentazione e trasferimento in utero degli embrioni

Indicazioni

- Fallimento dell'iter terapeutico a bassa tecnologia (3-6 mesi)
- Severo fattore tubo-peritoneale
- Medio-grave fattore maschile (0.5-1.0 milioni spermatozoi con motilità progressiva/ml dopo selezione spermatica e morfologia a fresco >4% (Kruger)

La Fivet può essere considerata la metodica più efficace a prescindere dal fattore di sterilità (escludendo ovviamente il severo fattore maschile per il quale l'indicazione è la ICSI). I risultati che si ottengono con questa metodica sono ormai standardizzati in circa 20-25 gravidanze ogni 100 trattamenti.

8.3 INIEZIONE INTRACITOPLOSMATICA DEL SINGOLO SPERMATOZOO (ICSI)

L'iniezione intracitoplasmatica di uno spermatozoo all'interno dell'ovocita è una tecnica di fecondazione in vitro (IVF) disegnata per il trattamento del fattore maschile severo di sterilità, ma adottabile anche in altri casi in cui campione seminale si presenti normale.

Indicazioni

Fattore maschile puro

- oligospermia severa, fino a casi limite di criptozoospermia (conta mobile totale < 1 x 10⁶ dopo trattamento);

- astenospermia severa o totale come nel caso della sindrome di Kartagener (Conta mobile totale $< 1 \times 10^6$ dopo trattamento);
- teratospermia severa o totale (forme normali $< 5\%$ secondo parametri Kruger);
- azoospermia, con recupero e crioconservazione di spermatozoi attraverso le tecniche di MESA, TESE o biopsia testicolare;
- eiaculazione retrograda.

Oltre il 50% dei pazienti che attualmente ricorrono alla medicina della riproduzione necessitano della fecondazione assistita, fondamentalmente per l'incapacità da parte degli spermatozoi di penetrare l'ovocita. Questo può essere dovuto a problemi di interazione con la zona pellucida, con la membrana ovocitaria, o a mancata decondensazione nucleare all'interno dell'ooplasma. In ogni caso, la tecnica ICSI consente di oltrepassare tutte le barriere che separano i due gameti, con percentuali di successo del tutto sovrapponibili a quelle ottenute mediante IVF convenzionale con campioni seminali del tipo normospermico.

Campioni seminali caratterizzati da oligozoospermia severa, astenozoospermia severa e teratozoospermia, difficilmente riescono a fecondare gli ovociti in seguito a inseminazione convenzionale.

Nei pazienti oligozoospermici ed astenozoospermici il recupero di spermatozoi dopo trattamento del liquido seminale è generalmente molto basso, condizione che non rende possibile l'inseminazione in microgocce. In pazienti caratterizzati da teratozoospermia severa la selezione di uno spermatozoo che non presenti anomalie nella morfologia viene effettuata al momento dell'inseminazione dall'operatore che effettua la ICSI.

Nel caso di campioni TESE, MESA e bioptici il numero di spermatozoi recuperati può essere estremamente basso, per cui deve essere eseguita una ricerca al microscopio degli spermatozoi da inseminare.

Fattore femminile puro

È preferibile eseguire la ICSI su pazienti che abbiano età ≥ 40 anni con ovociti ≤ 5 , a tutte le pazienti con età ≥ 44 anni e alle poor responders (≤ 3 ovociti prelevati dopo stimolazione con dosaggio di gonadotropine elevato), al fine di migliorare la performance di fertilizzazione.

Condizioni legate a tecnica

- Nel caso di ovociti crioconservati, la ICSI si rende necessaria in quanto sia la crioconservazione che la determinazione dello stadio maturativo vengono effettuate dopo aver allontanato le cellule del complesso cumulo-corona dagli ovociti.
- Nel caso di ovociti maturati in vitro (IVM), la ICSI si rende necessaria in quanto l'allungamento del tempo di coltura pre-inseminazione può essere responsabile di un indurimento della zona pellucida.
- Qualora l'embrione dovesse essere sottoposto ad analisi genetica reimpianto per malattie monogeniche, la ICSI è d'obbligo al fine di impedire a eventuali spermatozoi attaccati alla zona pellucida di inquinare il campione di DNA da amplificare.
- Se gli ovociti devono essere inseminati con seme precedentemente crioconservato, la decisione di eseguire o meno la ICSI dipenderà dalle caratteristiche di motilità dopo scongelamento dello stesso.

Vi possono essere casi in cui l'infertilità non sia imputabile a nessuno dei 2 partners (infertilità idiopatica). In tal caso si può eseguire una prova di fertilizzazione inseminando la metà degli ovociti con tecnica convenzionale e l'altra metà con ICSI.

La tecnica ICSI è consigliabile inoltre nel caso di un precedente fallimento di fertilizzazione, o bassa percentuale ($\leq 30\%$) con FIV convenzionale.

Un'altra indicazione alla ICSI è il fattore immunologico: la presenza di una barriera immunologica può in alcuni casi rendere impossibile il naturale incontro tra ovociti e spermatozoi. In questi casi la FIVET risulta essere inefficace e si deve necessariamente ricorrere alla ICSI.

Bibliografia

1. O'Donovan PA, Vandekerckhove P, Lilford RJ, Hughes E. Treatment of male infertility: is it effective? Review and meta-analyses of published randomized controlled trials. *Hum Reprod* 1993; 8(8): 1209-1222.
2. Hughes EG. The effectiveness of ovulation induction and intrauterine insemination in the treatment of persistent infertility: a meta-analysis. *Hum Reprod* 1997; 9: 1865-1872.
3. Guzick DS, Carson SA, Coutifaris C, Overstreet JW, Factor-Litvak P, Steinkampf MP, Hill JA, Mastroianni L, Buster JE, Nakajima ST, Vogel DL, Canfield RE. Efficacy of superovulation and intra-uterine insemination in the treatment of infertility. *N Engl J Med* 1999; 340: 177-183.
4. Weinberg CR, Baird DD, Wilcox AJ. Source of bias in studies of time pregnancies. *Stat Med* 1994; 13:671-681.
5. HFEA Annual Report Human Fertilisation and Embryology Authority, London 2000.
6. RCOG The Management of Infertility in Secondary Care-Evidence Based Guidelines No. 3. RCOG Press, London 1998.
7. Stewart JA. Stimulated intra-uterine insemination is not a natural choice for the treatment of unexplained subfertility. *Hum Reprod* 2003; 18 (5): 903-907.
8. Zikopoulos K, West CP, Thong PW, Kacser EM, Morrison J, Wu FC. Homologous intra-uterine insemination has no advantage over timed natural intercourse when used in combination with ovulation induction for the treatment of unexplained infertility. *Hum Reprod* 1993; 8: 563-567.
9. Guzick DS, Sullivan MW, Adamson GD, Cedars MI, Falk RJ, Peterson EP, Steinkampf MP. Efficacy of treatment for unexplained infertility. *Fertil Steril.* 1998; 70: 207-213.
10. Pandian Z, Bhattacharya S, Nikolaou D, Vale L, Templeton A. The effectiveness of IVF in unexplained infertility: a systemic Cochrane review. 2002. *Hum Reprod* 2003; 18(10): 2001-2007.
11. Fatum M, Laufer N, Simon A. Investigation of the infertile couple: should diagnostic laparoscopy be performed after normal hysterosapingography in treating infertility suspected to be of unknown origin? *Hum Reprod* 2002; 17(1): 1-3.
12. Swart P, Mol BW, van der Veen F, van Beurden M, Redekop WK, Bossuyt PM. The accuracy of hysterosal-

- pingography in the diagnosis of tubal pathology: a meta-analysis. *Fertil Steril* 1995; 64: 486-491.
13. Tanahatoo S, Hompes PG, Lambalk CB. Accuracy of diagnostic laparoscopy in the infertility work-up before intrauterine insemination. *Fertil Steril* 2003; 79(2): 361-366.
 14. Cohlen BJ, Vandekerckhove P, te Velde ER, Habbema JD. Timed intercourse versus intra-uterine insemination with or without hyperstimulation for subfertility in men. *Cochrane Database Syst Rev* 2000; (2): CD000 360.
 15. Goverde AJ, McDonnell J, Vermeiden JP, Schats R, Rutten FF, Schoemaker J. Intra-uterine insemination or in vitro-fertilisation in idiopathic subfertility and male subfertility: a randomized trial and cost-effectiveness analysis. *Lancet* 2000; 355 (9197): 13-18.
 16. Campana A, Sakkas D, Stalberg A, Bianchi PG, Comte I, Pache T, Walker D. Intrauterine insemination: evaluation of the results according to the woman's age, sperm quality, total sperm count per insemination and life table analysis. *Hum Reprod* 1996; 11(4): 732-736.
 17. Berg U, Brucker C, Berg FD. Effect of motile sperm count after swim-up on outcome of intrauterine insemination. *Fertil Steril* 1997; 67 (4): 747-750.
 18. Pasqualotto EB, Daitch JA, Hendin BN, Falcone T, Thomas AJ Jr, Nelson DR, Agarwal A. Relationship of total motile sperm count and percentage motile sperm to successful pregnancy rates following intrauterine insemination. *J Assist Reprod Genet* 1999; 16(9): 476-482.
 19. Dickey RP, Pyrzak R, Lu PY, Taylor SN, Rye PH. Comparison of the sperm quality necessary for successful intrauterine insemination with World Health Organization threshold values for normal sperm. *Fertil Steril* 1999; 71(4): 684-689.
 20. van Waart J, Kruger TF, Lombard CJ, Ombelet W. Predictive value of normal sperm morphology in intrauterine insemination (IUI): a structural literature review. *Hum Reprod Update* 2001; 7(5): 495-500.
 21. Hauser R, Yogev L, Botchan A, Lessing JB, Paz G, Yavetz H. Intrauterine insemination in male factor subfertility: significance of sperm motility and morphology assessed by strict criteria. *Andrologia* 2001; 33(1): 13-17.
 22. Marcoux S, Maheux R, Bérubé S. Laparoscopic surgery in infertile women with minimal or mild endometriosis. *N Engl J Med* 1997; 337: 217-222.
 23. Gruppo Italiano per lo studio dell'Endometriosi Ablation of lesion vs no treatment in infertile women with endometriosis: a randomized trial. *Hum Reprod* 1999; 14(5): 1332-1334.
 24. Nuojua-Huttunen S, Tomas C, Bloigu R, Tuomivaara L, Martikainen H. Intrauterine insemination treatment in subfertility: an analysis of factors affecting outcome. *Hum Reprod* 1999; 14 (3); 698-703.
 25. Singh M, Goldberg J, Falcone T, Nelson D, Pasqualotto E, Attaran M, Agarwal A. Superovulation and intrauterine insemination in cases of treated mild pelvic disease. *J Assist Reprod Genet* 2001; 18 (1): 26-29.
 26. Harlow CR, Cahill DJ, Maile LA, Talbot WM, Mears J, Wardle PG, Hull MG. Reduced preovulatory granulosa cell steroidogenesis in women with endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81:426-429.
 27. Pellicer A, Oliveira N, Ruiz A, Remohí J, Simón C. Exploring the mechanism(s) of endometriosis-related infertility: an analysis of embryo development and implantation in assisted reproduction. *Hum Reprod* 1995; 10 (Suppl 2): 91-97.
 28. Arici A, Oral E, Bukulmez O, Duleba A, Olive DL, Jones EE. The effect of endometriosis on implantation: results from the Yale University in vitro-fertilization end embryo transfer program. *Fertil Steril* 1996; 65: 603-607.
 29. Martinez-Roman S, Balasch J, Creus M, Fábregues F, Carmona F, Vilella R, Vanrell JA. Immunological factors in endometriosis-associated reproductive failure: studies in fertile and infertile women with and without endometriosis. *Hum Reprod* 1997; 12: 1794-1799.
 30. Geber S, Paraschos T, Atkinson G, Margara R, Winston RM. Results of IVF in patients with endometriosis: the severity of the disease does not effect outcome, or the incidence of miscarriage. *Hum Reprod* 1995; 10: 1507-1511.
 31. Buyalos RP. and Agarwal SK. Endometriosis-associated infertility. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2000; 12 (5): 377-381.
 32. van der Westerlaken LA, Naaktgeboren N, Helmerhorst FM. Evaluation of pregnancy rates after intrauterine insemination according to indication, age, and sperm parameters. *J Assist Reprod Genet* 1998; 15: 359-364.
 33. Khalil MR, Rasmussen PE, Erb K, Laursen SB, Rex S, Westergaard LG. Homologous intrauterine insemination. An evaluation of prognostic factors based on a review of 2473 cycles. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2001; 80: 74-81.

8.4 INIEZIONE INTRACITOPLOSMATICA DEL SINGOLO SPERMATOZOO MORFOLOGICAMENTE SELEZIONATO (IMSI)

Il potenziale di fertilità degli spermatozoi ed il normale sviluppo dell'embrione dipendono fondamentalmente dalla funzionalità e dall'integrità delle differenti strutture spermatiche ed in particolare del DNA nucleare¹⁻⁴. E' noto che i soggetti affetti da infertilità, soprattutto quelli con oligozoospermia severa, presentano una percentuale di anomalie dei cromosomi spermatici più elevata rispetto ai soggetti fertili⁵⁻⁸ ed una riduzione del potenziale di membrana, considerata espressione precoce di un processo apoptotico⁹⁻¹¹. In questi pazienti molti dei fallimenti delle tecniche di fecondazione assistita (ICSI) sono dovuti al fatto che la selezione delle cellule spermatiche deve basarsi esclusivamente sulla morfologia e motilità¹², parametri che non escludono la presenza di alterazioni del patrimonio genetico, nè il rischio di una loro trasmissione all'embrione¹³. Infatti le metodiche convenzionali di selezione spermatica nei soggetti gravemente oligozoospermici sono associate a bassa percentuale di fecondazione, ridotto numero di nati vivi ed aumentata probabilità di aberrazioni cromosomiche nei nati¹⁴⁻¹⁷. Sulla base di tali evidenze, nei casi in cui si ricorra a tecniche di fecondazione assistita e nei pazienti affetti da grave testicolopatia, risultano particolarmente utili ed indicate la valutazione del danno del DNA spermatico, attraverso lo studio della frammentazione e dell'integrità cromatinica¹⁸, e la valutazione delle aneuploidie spermatiche mediante FISH. Queste tecniche specifiche per la valutazione spermatica, tuttavia, sono altamente dannose per la cellula e ne impediscono il successivo utilizzo a scopo riproduttivo.

Recentemente sono state proposte tecniche non invasive per lo studio e la selezione degli spermatozoi, allo scopo di migliorare la percentuale di successo delle tecniche di fecondazione assistita nei soggetti con importanti alterazioni seminali¹⁹⁻²². Tra queste tecniche quella che sembra più promettente è la selezione morfologica della testa degli spermatozoi, mediante studio della morfologia degli organelli degli spermatozoi mobili (MSOME). Tale metodica si basa sull'osservazione ad alto ingrandimento, 6300x, dei vacuoli nucleari e permette la selezione degli spermatozoi privi di alterazioni nucleari da microiniettare tramite IMSI²³⁻²⁵.

I primi risultati pubblicati suggeriscono che la IMSI si associa ad una maggiore percentuale di impianto e gravidanza rispetto alla ICSI²², ad aumento del numero dei bambini nati e a riduzione degli aborti²⁶. Un recente studio²⁷, inoltre, ha correlato lo studio funzionale degli spermatozoi, mediante test di funzionalità mitocondriale, test di frammentazione del DNA e valutazione delle aneuploidie spermatiche, con le caratteristiche morfologiche di singoli spermatozoi selezionati ad altissimo ingrandimento (13000x), dimostrando che le cellule selezionate con normale morfologia hanno più frequentemente una normale funzionalità mitocondriale, un'adeguata struttura cromatinica e basse percentuali di aneuploidie e che tali parametri migliorano ulteriormente (fino all'assenza completa delle aneuploidie spermatiche) se si considerano solo gli spermatozoi senza vacuoli nucleari.

Da questi dati la IMSI sembra emergere come una tecnica di selezione spermatica efficace nell'isolare spermatozoi potenzialmente normali e con una maggiore capacità fecondante.

Bibliografia

1. Virant-Klun I, Tomazevic T, Meden-Vrtovec H. Sperm single-stranded DNA, detected by acridine orange staining, reduces fertilization and quality of ICSI-derived embryos. *J Assist Reprod Genet.* 2002; 19(7):319-328.
2. Zini A, Meriano J, Kader K, Jarvi K, Laskin CA, Cadesky K. Potential adverse effect of sperm DNA damage on embryo quality after ICSI. *Hum Reprod.* 2005; 20(12):3476-3480.
3. Brugnion F, Van Assche E, Verheyen G, Sion B, Boucher D, Pouly JL, Janny L, Devroey P, Liebaers I, Van Steirteghem A. Study of two markers of apoptosis and meiotic segregation in ejaculated sperm of chromosomal translocation carrier patients. *Hum Reprod.* 2006; 21(3):685-693.
4. Evenson DP, Wixon R. Clinical aspects of sperm DNA fragmentation detection and male infertility. *Theriogenology.* 2006; 65(5):979-991.
5. Irvine DS, Twigg JP, Gordon EL, Fulton N, Milne PA, Aitken RJ. DNA integrity in human spermatozoa: relationships with semen quality. *J Androl.* 2000; 21(1):33-44.
6. Shen H, Ong C. Detection of oxidative DNA damage in human sperm and its association with sperm function and male infertility. *Free Radic Biol Med.* 2000 Feb 15; 28(4):529-536. Review.
7. Spanò M, Bonde JP, Hjøllund HI, Kolstad HA, Cordelli E, Leter G. Sperm chromatin damage impairs human fertility. The Danish First Pregnancy Planner Study Team. *Fertil Steril.* 2000; 73(1):43-50.
8. Zini A, Bielecki R, Phang D, Zenzes MT. Correlations between two markers of sperm DNA integrity, DNA denaturation and DNA fragmentation, in fertile and infertile men. *Fertil Steril.* 2001; 75(4): 674-677.
9. Gillan L, Evans G, Maxwell WM. Flow cytometric evaluation of sperm parameters in relation to fertility potential. *Theriogenology.* 2005; 63(2):445-457.
10. Marchetti C, Marchetti P. Detection of apoptotic markers in human ejaculated spermatozoa as new methods in human reproductive biology. *Gynecol Obstet Fertil.* 2005; 33(9):669-677.
11. Barroso G, Taylor S, Morshedi M, Manzur F, Gaviño F, Oehninger S. Mitochondrial membrane potential integrity and plasma membrane translocation of phosphatidylserine as early apoptotic markers: a comparison of two different sperm subpopulations. *Fertil Steril.* 2006; 85(1):149-154.
12. Junca AM, Cohen-Bacrie P, Belloc S, Dumont M, Ménézo Y. Teratozoospermia at the time of intracytoplasmic morphologically selected sperm injection (IMSI). *Gynecol Obstet Fertil.* 2009; 37(6):552-557.
13. Bonduelle M, Camus M, De Vos A, Staessen C, Tournaye H, Van Assche E, Verheyen G, Devroey P, Liebaers I, Van Steirteghem A. Seven years of intracytoplasmic sperm injection and follow-up of 1987 subsequent children. *Hum Reprod.* 1999; 14 Suppl 1: 243-264.
14. Silver RI, Rodriguez R, Chang TS, Gearhart JP. In vitro fertilization is associated with an increased risk of hypospadias. *J Urol.* 1999; 161(6):1954-1957.
15. 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(10):725-730.
16. Loutradi KE, Tarlatzis BC, Goulis DG, Zepiridis L, Pagou T, Chatziioannou E, Grimbizis GF, Papadimas I, Bontis I. The effects of sperm quality on embryo development after intracytoplasmic sperm injection. *J Assist Reprod Genet.* 2006; 23(2):69-74.
17. Verpoest W, Tournaye H. ICSI: hype or hazard? *Hum Fertil (Camb).* 2006; 9(2):81-92.
18. Zini A, Libman J. Sperm DNA damage: importance in the era of assisted reproduction. *Curr Opin Urol.* 2006; 16(6):428-434.
19. Jakab A, Sakkas D, Delpiano E, Cayli S, Kovanci E, Ward D, Revelli A, Huszar G. Intracytoplasmic sperm injection: a novel selection method for sperm with normal frequency of chromosomal aneuploidies. *Fertil Steril.* 2006; 86(2):498.
20. Berkovitz A, Eltes F, Ellenbogen A, Peer S, Feldberg D, Bartoov B. Does the presence of nuclear vacuoles in human sperm selected for ICSI affect pregnancy outcome? *Hum Reprod.* 2006; 21(7):1787-1790.
21. Guthauser B, Vialard F, Dakouane M, Izard V, Albert M, Selva J. Chromosomal analysis of spermatozoa with normal-sized heads in two infertile patients with macrocephalic sperm head syndrome. *Fertil Steril.* 2006; 85(3):750.e5-750.e7.
22. Hazout A, Dumont-Hassan M, Junca AM, Cohen Bacrie P, Tesarik J. High-magnification ICSI overcomes paternal effect resistant to conventional ICSI. *Reprod Biomed Online.* 2006; 12(1):19-25.

23. Bartoov B, Berkovitz A, Eltes F, Kogosowski A, Menezo Y, Barak Y. Real-time fine morphology of motile human sperm cells is associated with IVF-ICSI outcome. *J Androl.* 2002; 23(1):1-8.
24. Bartoov B, Berkovitz A, Eltes F, Kogosovsky A, Yagoda A, Lederman H, Artzi S, Gross M, Barak Y. Pregnancy rates are higher with intracytoplasmic morphologically selected sperm injection than with conventional intracytoplasmic injection. *Fertil Steril.* 2003; 80(6):1413-1419.
25. Berkovitz A, Eltes F, Yaari S, Katz N, Barr I, Fishman A, Bartoov B. The morphological normalcy of the sperm nucleus and pregnancy rate of intracytoplasmic injection with morphologically selected sperm. *Hum Reprod.* 2005; 20(1):185-190.
26. Berkovitz A, Eltes F, Lederman H, Peer S, Ellenbogen A, Feldberg B, Bartoov B. How to improve IVF-ICSI outcome by sperm selection. *Reprod Biomed Online.* 2006; 12(5):634-638.
27. Garolla A, Fortini D, Menegazzo M, De Toni L, Nicoletti V, Moretti A, Selice R, Engl B, Foresta C. High-power microscopy for selecting spermatozoa for ICSI by physiological status. *Reprod Biomed Online.* 2008; 17(5):610-616.

Capitolo 2

I DISTURBI DELL'EIACULAZIONE

F. Pirozzi Farina

Introduzione

Le disfunzioni eiaculatorie e i disordini dell'orgasmo sono tra le più frequenti alterazioni della funzione sessuale del maschio.¹

Esse comprendono:

- Eiaculazione precoce
- Aneiaculazione
- Anorgasmia ed eiaculazione ritardata
- Eiaculazione retrograda

Il ciclo della risposta sessuale, che sintetizza fattori organici e psicologici, è stato concettualmente frazionato in quattro fasi: del desiderio, dell'eccitazione, dell'orgasmo e della risoluzione. Una disfunzione sessuale rappresenta l'alterazione di almeno una di queste fasi.²

Orgasmo ed eiaculazione rappresentano la fase apicale del ciclo della risposta sessuale che precede la fase della risoluzione. Benché l'orgasmo coincida abitualmente con il riflesso eiaculatorio, si differenzia da questo perché esprime un evento corticale distinto che elabora i fenomeni in chiave emotiva e cognitiva.¹ L'eiaculazione è un processo che coinvolge recettori sensoriali, vie nervose afferenti, aree cerebrali sensoriali, centri motori cerebrali e spinali e vie nervose efferenti. Il riflesso eiaculatorio è prevalentemente controllato, a livello del SNC, da un complesso di sistemi nei quali interagiscono neuroni dopaminergici e serotoninergici che, secondariamente, coinvolgono sistemi e vie nervose di tipo adrenergico, colinergico, ossitocinergico e gabaergico.¹

FISIOLOGIA DELL'EIACULAZIONE

Il termine "eiaculazione" sintetizza gli eventi genitali che fisiologicamente culminano nella serie di contrazioni ritmiche della muscolatura bulbo-uretrale e del pavimento pelvico che, insieme al rilassamento delle fibre dello sfintere uretrale esterno, accompagnano la fuoriuscita anterograda dello sperma dal-

l'uretra. Di fatto, l'eiaculazione è costituita da due fasi successive, l'emissione e l'espulsione³, ognuna delle quali coinvolge differenti organi e strutture anatomiche, pelviche e perineali.⁴ Come molte altre funzioni dell'organismo, anche quella eiaculatoria è condizionata dall'integrità anatomica e funzionale di numerosi organi ed apparati che devono operare in reciproca sinergia:

- *la componente endocrina*
- *le ghiandole sessuali*
- *la via seminale*
- *il collo vescicale*
- *il pavimento pelvico*

Il ruolo più importante e complesso è tuttavia giocato dal sistema nervoso centrale e periferico e dalle modalità di interazione dei centri spinali, sopraspinali e cerebrali coinvolti nella gestione del fenomeno eiaculatorio. L'eiaculazione è neuromodulata da un centro spinale di controllo, indicato come centro generatore spinale dell'eiaculazione, che coordina le attività simpatica, parasimpatica e somatica che inducono l'emissione e l'espulsione e che, a sua volta, è sotto l'influenza di centri sopraspinali.⁵

1. Eiaculazione Precoce

La mancanza di una definizione univoca di eiaculazione precoce e la presenza di problemi metodologici correlati all'uso di definizioni inadeguate, sono un motivo di potenziale inattendibilità della maggior parte degli studi fino ad oggi condotti sull'argomento.¹

Sono identificabili almeno tre tipi di eiaculazione precoce: l'eiaculazione precoce primitiva, l'eiaculazione precoce acquisita o secondaria e l'eiaculazione precoce situazionale.⁶

DEFINIZIONE DI EIACULAZIONE PRECOCE

Rispondendo al bisogno di una nuova definizione di eiaculazione precoce ispirata alla medicina basata sull'evidenza, la International Society for Sexual Medicine (ISSM) ha istituito una Commissione ad hoc per la definizione dell'eiaculazione prematura composto da 21 esperti. Questa Commissione si è riunita ad Amsterdam tra il 19 ed il 21 ottobre 2007. Questi esperti hanno convenuto che i concetti necessari per definire l'eiaculazione precoce sono: il tempo di eiaculazione; l'incapacità di ritardare l'eiaculazione; le conseguenze negative derivate dall'eiaculazione precoce.⁷ La Commissione ha concluso che, attualmente, l'evidenza obiettiva valida sull'eiaculazione precoce è limitata agli uomini con eiaculazione precoce primitiva che si impegnano in un rapporto vaginale.⁷ La Commissione accetta che la definizione sia attendibilmente applicabile anche a uomini con eiaculazione precoce che si impegnano in attività sessuali che non siano il rapporto in vagina.⁷

EIACULAZIONE PRECOCE PRIMITIVA

L'eiaculazione precoce è una disfunzione sessuale maschile caratterizzata da una eiaculazione che sempre o quasi sempre avviene prima o entro circa un minuto dalla penetrazione vaginale; è l'incapacità di ritardare l'eiaculazione in tutte o quasi tutte le penetrazioni vaginali; ha conseguenze personali negative quali: stress, preoccupazione, frustrazione e/o evitamento dell'intimità sessuale.⁷

Riferendosi ai principi della medicina basata sull'evidenza, la capacità di permanenza in vagina è definita con il termine "Intravaginal Ejaculation Latency Time (IELT)" che equivale al tempo cronometrato di latenza eiaculatoria intravaginale.⁸

EIACULAZIONE PRECOCE ACQUISITA

Dopo un'accurata revisione, la Commissione ISSM di Amsterdam ha riferito che non ci sono sufficienti dati obiettivi per proporre una definizione basata sull'evidenza per l'eiaculazione precoce acquisita.⁷

L'eiaculazione precoce acquisita è un disturbo che può sottendere un problema somatico o psicologico.⁹ Essa esordisce, in maniera improvvisa o graduale, solo ad un certo momento della vita sessuale e dopo che il maschio ha avuto un iniziale periodo di normali esperienze eiaculatorie.⁹ Tra le cause che possono determinare un'eiaculazione precoce acquisita, le più frequenti sono: alcuni tipi di disfunzioni uro-genitali come, ad esempio, le prostatite-vescicoliti;¹⁰ le disfunzioni tiroidee;¹¹ alcuni tipi di problemi psicologici¹² o di relazione.¹³

Un tipo particolare di eiaculazione precoce acquisita è quella secondaria alla disfunzione erettile. Circa il 30% di maschi riferiscono la comparsa di eiaculazione precoce in concomitanza alla difficoltà di ottenere o di mantenere un'erezione adeguata alla penetrazione.¹⁴ Tipicamente questi maschi eiaculano senza essere riusciti ad ottenere una erezione completa e spesso la loro tumescenza peniena raggiunge un suo massimo relativo solo al momento dell'eiaculazione.¹ Peraltro, non è noto in quale misura queste due disfunzioni coesistano in maniera tra loro indipendente o siano, in qualche modo, tra loro correlate.¹

EIACULAZIONE PRECOCE SITUAZIONALE

L'eiaculazione precoce situazionale non è da considerare un sintomo o una manifestazione di reale patologia, ma è una normale variazione della fisiologica prestazione sessuale.⁶ Essa è caratterizzata da eiaculazioni che solo discontinuamente ed irregolarmente sono veloci, a causa di episodiche incapacità di controllo dell'eiaculazione stessa.⁹

EZIOLOGIA DELL'EIACULAZIONE PRECOCE PRIMITIVA

I tentativi per spiegare le cause dell'eiaculazione precoce spaziano dalle teorie psico-sessuologiche a quelle biogenetiche. La maggior parte di queste non sono frutto della medicina basata sull'evidenza e sono prevalentemente di tipo speculativo.¹ Le teorie psicologiche includono gli effetti di esperienze sessuali veloci e capaci di condizionare la sessualità, l'ansia, la tecnica sessuale, la frequenza dell'attività sessuale e motivazioni psicodinamiche.¹ Le spiegazioni biogenetiche chiamano in causa teorie evolutive, l'ipersensibilità del glande, l'inadeguatezza del livello di alcuni neurotrasmettitori centrali e della soglia di sensibilità recettoriale, il grado di eccitabilità, la velocità del riflesso eiaculatorio e l'inadeguato livello degli ormoni sessuali.¹

La distinzione in differenti sindromi della eiaculazione precoce, mostra che questo disordine della sfera sessuale si articola lungo una linea che va da forme soprattutto neurobiologicamente determinate a forme psicologicamente determinate.⁹

Relativamente all'eiaculazione precoce primitiva, sebbene finora non si possa non ammettere che in certe forme possa essere psicologicamente determinata,⁹ tuttavia la teoria della patogenesi su base genetica sembrerebbe essere, attualmente, quella più accreditata. Infatti, in uomini affetti da eiaculazione precoce primitiva la serotonina sembrerebbe essere meno attiva a livello dell'area cerebrale che controlla l'eiaculazione.¹⁵ La serotonina è il principale neurotrasmettitore implicato nella trasmissione dei segnali deputati al controllo eiaculatorio ed ha anche un ruolo nell'attivazione della fase eccitatoria centrale.⁴ Se la serotonina riduce la sua capacità di trasmettere adeguata-

mente il segnale da un neurone all'altro, può instaurarsi un'eiaculazione precoce.¹⁵ E' stato scoperto un gene, chiamato 5-HTTLPR, che sembra essere responsabile della quantità e del livello di attività della serotonina e, quindi, anche del controllo del tempo di eiaculazione.¹⁵ Esistono tre tipi di geni 5-HTTLPR: LL, SL e SS. Gli studi indicherebbero che il tipo LL è quello che causa un'eiaculazione più rapida. In media, gli uomini con gene LL eiaculano due volte più velocemente rispetto agli uomini con gene tipo SS e SL.¹⁵ Sono in corso ricerche anche su altri geni coinvolti nell'eiaculazione. Queste recenti acquisizioni sembrerebbero contraddire l'idea, diffusa in tutti questi anni, che l'eiaculazione precoce primitiva esprima un disordine di tipo psicologico ed aprono la strada alla terapia genica di questa disfunzione.¹⁵

LA DIAGNOSI DI EIACULAZIONE PRECOCE

L'eiaculazione precoce primitiva, quella acquisita e quella situazionale sono tra loro riconoscibili raccogliendo una breve ma accurata storia medica e sessuale.⁹ Particolare attenzione deve essere posta alla durata del tempo di eiaculazione, alla frequenza degli episodi e all'andamento dell'eiaculazione a partire dal primo incontro sessuale.⁹ Nella pratica clinica quotidiana, la diagnosi delle tre sindromi di eiaculazione precoce non pone difficoltà, e quindi, la valutazione con questionari o l'uso di cronografi non è richiesto ed è riservato all'ambito della ricerca clinica¹⁶.

LA TERAPIA DELL'EIACULAZIONE PRECOCE PRIMITIVA

Anche se un substrato biologico è stato da anni sospettato per molti tipi di eiaculazione precoce,¹⁷ fino ad un'epoca recente le opzioni terapeutiche sono state soprattutto di tipo psicosessuologico e comportamentale.¹ Ciò si spiega anche con il fatto che non esiste ancora un farmaco approvato e registrato per il trattamento dell'eiaculazione precoce. Infatti, la terapia medica farmacologica, impiegata peraltro solo da circa dieci anni, si avvale ancora di farmaci registrati per il trattamento di altre patologie ma che, tuttavia, hanno mostrato una variabile efficacia sintomatica sulla eiaculazione precoce primitiva.

I trattamenti psicologici/comportamentali dell'eiaculazione precoce primitiva

Fattori psicologici quali l'ansia ed eventi emozionali, situazionali e relazionali, sono stati frequentemente associati alle disfunzioni sessuali in genere e, quindi, anche all'eiaculazione precoce.^{2,18} Per questo motivo, numerose metodologie terapeutiche di tipo psicologico e/o comportamentale hanno rappresentato un approccio logico ed adeguato a tali problemi. Peraltro, sono veramente poche o assenti le evidenze che dimostrino che la patogenesi psicologica può essere alla base dei meccanismi psico-neuroendocrini che sostengono l'eiaculazione precoce.¹ Pur con questi limiti, gli approcci psico-comportamentali all'eiaculazione precoce hanno dimostrato un moderato successo¹⁹ e rimangono un'opzione terapeutica interessante per le seguenti ragioni: sono trattamenti indirizzati specificatamente al problema; non sono dannosi né fastidiosi; sono scarsamente dipendenti dalla storia medica del paziente; producono effetti collaterali minimi o assenti; incoraggiano l'apertura ad una comunicazione sul tema della sessualità nell'ambito della coppia, e ciò può portare ad una relazione più soddisfacente²⁰. Con tutto ciò, gli approcci psico-comportamentali presentano alcuni inconvenienti: si articolano, per lo più, nel lungo periodo mancando perciò di immediatezza; hanno la necessità di essere condotti da personale particolarmente esperto, non sempre disponibile sul territorio e

richiedono, al paziente, disponibilità in tempo e denaro; per dare risultati ottimali richiedono la cooperazione di una partner motivata; hanno, comunque, un'efficacia incerta e scarsamente ben documentata.²¹

Emerge dalla 2nd International Consultation on Sexual Dysfunctions (Parigi, 2004) che solo due metodi psico-comportamentali, che peraltro godono di una buona popolarità tra i sessuologi terapeuti, arriverebbero almeno ad avvicinarsi al rispetto dei criteri di supporto empirici.¹ Il primo è il metodo dello stop-squeeze sviluppato da Semans (1956)²² e più tardi adottato da Masters & Johnson nella loro terapia sessuologica clinica.²³ Il secondo metodo, propugnato da H. Kaplan (1983), è quello dello stop and start.² Entrambi i metodi sono finalizzati ad inibire l'eiaculazione tramite l'arresto della stimolazione sessuale fisica: lo stop-squeeze comprimendo il glande del pene; lo stop and start arrestando la stimolazione sessuale del glande in modo da impedire l'innescio del riflesso eiaculatorio.¹ Altri metodi psico-comportamentali ampiamente diffusi ed utilizzati sono la focalizzazione sensoriale e le tecniche di counselling, quest'ultimo più opportunamente rivolto, se possibile, alla coppia (Relationship counselling).

La Focalizzazione sensoriale, si prefigge di educare la coppia, o il singolo senza partner o senza una partner compliante, all'uso di tutti i sensi al fine di migliorare la conoscenza e la confidenza con il proprio corpo e, parallelamente, il contatto corporeo e psichico con il partner. Per questa via la focalizzazione sensoriale è finalizzata al miglioramento della comunicazione nell'ambito della coppia (comunicazione generale, comunicazione sessuale, gestione della intimità), alla riduzione dell'ansia, che spesso accompagna l'attività sessuale, ed a sperimentare il piacere derivante da un migliore e ritrovato contatto fisico e psichico imparando a viverlo come fine a se stesso. Il piacere per il piacere, senza attribuire all'atto sessuale altri significati. Lo scopo della terapia è un ripristino o, talora, la scoperta della sessualità come mezzo di comunicazione e relazione fondamentale dell'individuo e tra questi ed il partner.

Il Counselling, secondo U. Galimberti nel suo Dizionario di Psicologia, «...è finalizzato a consentire ad un individuo una visione realistica di sé e dell'ambiente sociale in cui si trova ad operare, in modo da poter meglio affrontare le scelte relative alla professione, al matrimonio, alla gestione dei rapporti interpersonali, con la riduzione al minimo della conflittualità dovuta a fattori soggettivi».²⁴ In altri termini il counselling è un intervento breve, al termine del quale il paziente non avrà cambiato il suo modo di essere ma il suo modo di fronteggiare il problema, nel suo mondo, mantenendo o modificando in parte il proprio sistema valoriale e relazionandosi con sé stesso, il partner e la realtà in maniera maggiormente adattativa e, dunque, imparando a gestire meglio conflitti e frustrazioni.

Il Relationship Counselling è un processo che affronta i problemi della coppia nell'ottica del counselling proponendosi i seguenti obiettivi: riconoscere i fastidiosi contrasti che si creano nell'ambito della coppia; studiare i patterns del disagio; valutare con la coppia le strategie più adatte per meglio appianarli o gestirli.

I trattamenti farmacologici dell'eiaculazione precoce primitiva

Come già sottolineato, la terapia farmacologica dell'eiaculazione precoce è attualmente solo di tipo sintomatico ed utilizza farmaci off label somministrabili previo un corretto consenso informato. Sono attuabili due strategie di trattamento farmacologico con farmaci off label: l'assunzione del farmaco on demand e l'assunzione giornaliera. Alcune classi di farmaci sono impiegati esclusivamente on demand mentre i farmaci psicotropi sono usati, con differente efficacia, sia on

demand sia con assunzione giornaliera. Come riportato più oltre, gli studi più recenti ridimensionano l'efficacia dei farmaci SSRIs assunti on demand nel trattamento della EP.

ATTUALITA' SUI FARMACI OFF LABEL MAGGIORMENTE UTILIZZATI

Desensibilizzazione on demand del glande con anestetici di contatto

Gli anestetici di contatto possono essere efficaci specie quando nella patogenesi della eiaculazione precoce è implicata una ipersensibilità del glande. L'uso di anestetici topici è la più vecchia strategia di trattamento farmacologico dell'eiaculazione precoce ed è ancor oggi utilizzata.⁹ Sono pochi gli studi controllati attuati con questa terapia. Sono impiegati anestetici topici locali come lidocaina e/o prilocaina in crema (es.: Emla®) gel o spray: da 2 a 5 g applicati sul glande prima del rapporto mantenuti per un tempo variabile da 10'- 20'²⁵ e quindi accuratamente rimossi prima del rapporto.²⁶

Terapia on demand con PDE5 inibitori

In Letteratura esistono alcuni Report sulla capacità dei PDE5i di allungare il tempo di latenza dell'eiaculazione più efficacemente degli inibitori del reuptake della serotonina (SSRIs).²⁷ A questo proposito, tuttavia, i risultati della revisione della Letteratura evidenziano discordanze circa l'efficacia dei PDE5i nel trattamento della EP primitiva, in monoterapia o associati a SSRIs^{27,28}. E' possibile che i benefici sulla EP primitiva indotti dagli inibitori delle PDE5, possano essere prevalentemente determinati dal miglioramento dell'erezione con conseguente riduzione dell'ansia da performance.²⁹

Terapia con gli inibitori del reuptake della serotonina (SSRIs)

Il sistema centrale 5-HT-mediato è il più implicato nella eiaculazione precoce in quanto la serotonina esercita un effetto inibitorio sull'eiaculazione.⁴ Per questo motivo gli agenti che aumentano la serotonina intersinaptica, quali sono gli inibitori del reuptake della serotonina (SSRIs), incrementano questo effetto inibitorio sull'eiaculazione.³⁰ La 5-HT agisce per attivazione di specifici recettori. Sono attualmente noti 15 sottotipi di recettori 5-HT, che sono raggruppati all'interno di sette classi maggiori (5-HT1-7).³¹ Tra questi, i recettori 5-HT2C 5-HT1B e gli autorecettori presinaptici 5-HT1A hanno certamente un ruolo nell'eiaculazione.³¹ In particolare, l'attivazione dei recettori 5-HT2C ritarda l'eiaculazione mentre l'attivazione dei recettori 5-HT1A facilita l'eiaculazione.³² Questi recettori sono presenti nei Centri Superiori del SNC, nel Centro Spinale dell'eiaculazione,³³ nei deferenti e vescicole seminali.³⁴ Sulla base di questi presupposti, l'eiaculazione precoce primitiva potrebbe essere spiegabile da tre circostanze: un'insufficiente attività serotoninergica a livello centrale; una iposensibilità dei recettori 5-HT2C; una ipersensibilità degli autorecettori 5-HT1A.³⁵

La paroxetina sembrerebbe l'SSRI più efficace a ritardare l'eiaculazione tra tutti gli SSRIs.^{36,37} Gli attuali SSRIs, e quindi anche la paroxetina, sono molecole a lunga emivita, quindi non "short-acting", impiegate per il trattamento della depressione. Al dosaggio di 20 mg al giorno, il loro effetto terapeutico si manifesta dopo circa 1 - 2 settimane di assunzione giornaliera. Il loro impiego ottimale nel trattamento sintomatico dell'eiaculazione precoce primitiva, ricalca quello adottato per la depressione e prevede, quindi, una somministrazione giornaliera e sufficientemente protratta.³¹ Tuttavia molti lavori hanno riportato buoni risultati nel trattamento sintomatico dell'eiaculazione precoce con somministrazione on demand di 20 mg di paroxetina da 4 a 6 ore prima dell'attività sessuale. Di fatto, i risultati della somministrazione on demand di SSRIs sono modesti. Per esempio, è stato riportato che in un

gruppo di 30 pazienti l'assunzione di paroxetina, in media 5, 4 ore prima del rapporto, incrementa il tempo medio di latenza eiaculatoria intravaginale (IELT) 1.4-volte, da 21 a 36 secondi.³⁸ Lo stesso farmaco, assunto giornalmente per 6 settimane, migliora il IELT fino a 146 secondi partendo da un valore di base simile.³⁹ Il più forte supporto alla somministrazione on demand dei SSRI deriva da protocolli metodologicamente poco rigorosi.³⁹

Infine, va considerato che è stata ripetutamente dimostrata, in studi controllati, l'efficacia della paroxetina emiidrato nel ritardare l'eiaculazione mentre mancano studi con la paroxetina mesilato.⁹ Data la mancanza di studi comparativi placebo controllati tra le due molecole, per il trattamento della PE primitiva è attualmente da preferibile l'impiego della paroxetina idrocloridrato emiidrato.⁹

Più recentemente, sono usciti nuovi inibitori del trasportatore di 5-HT che hanno molto più rapidi profili farmacocinetici rispetto agli SSRI tradizionali e perciò indicati con il termine short-acting. Questi SSRI includono la dapoxetina, molecola attualmente in attesa dell'autorizzazione alla commercializzazione. Questi nuovi SSRI short-acting non si accumulano nel plasma e, quindi, potevano non avere efficacia come antidepressivi.³¹ Comunque, il loro rapido assorbimento ed eliminazione (livelli di picco plasmatico erano raggiunti entro 90 minuti dalla assunzione orale) li rende potenzialmente idonei al trattamento on demand della eiaculazione precoce.⁴⁰ Il farmaco è efficace nei pazienti con eiaculazione precoce se assunto 1-3 ore prima del rapporto, incrementando il IELT in media di 3 volte e migliorando significativamente la capacità di controllo sull'eiaculazione ed il livello di soddisfazione sessuale.⁴¹

La terapia dell'eiaculazione precoce acquisita

In contrasto con l'eiaculazione precoce primitiva, l'eiaculazione precoce acquisita può essere efficacemente trattata con una terapia causale, individuando e curando le cause che l'hanno determinata e che la sostengono. Nei casi più gravi, può essere utile un periodo di counselling psico-sessuologico e/o un iniziale impiego di terapia farmacologica sintomatica.

La terapia dell'eiaculazione precoce situazionale

Per il recupero del paziente è spesso sufficiente il counselling informativo che, nei casi più resistenti, può essere convertito in un counselling terapeutico.

ALGORITMO DELLA GESTIONE DEI PAZIENTI CON EIACULAZIONE PRECOCE (EP)

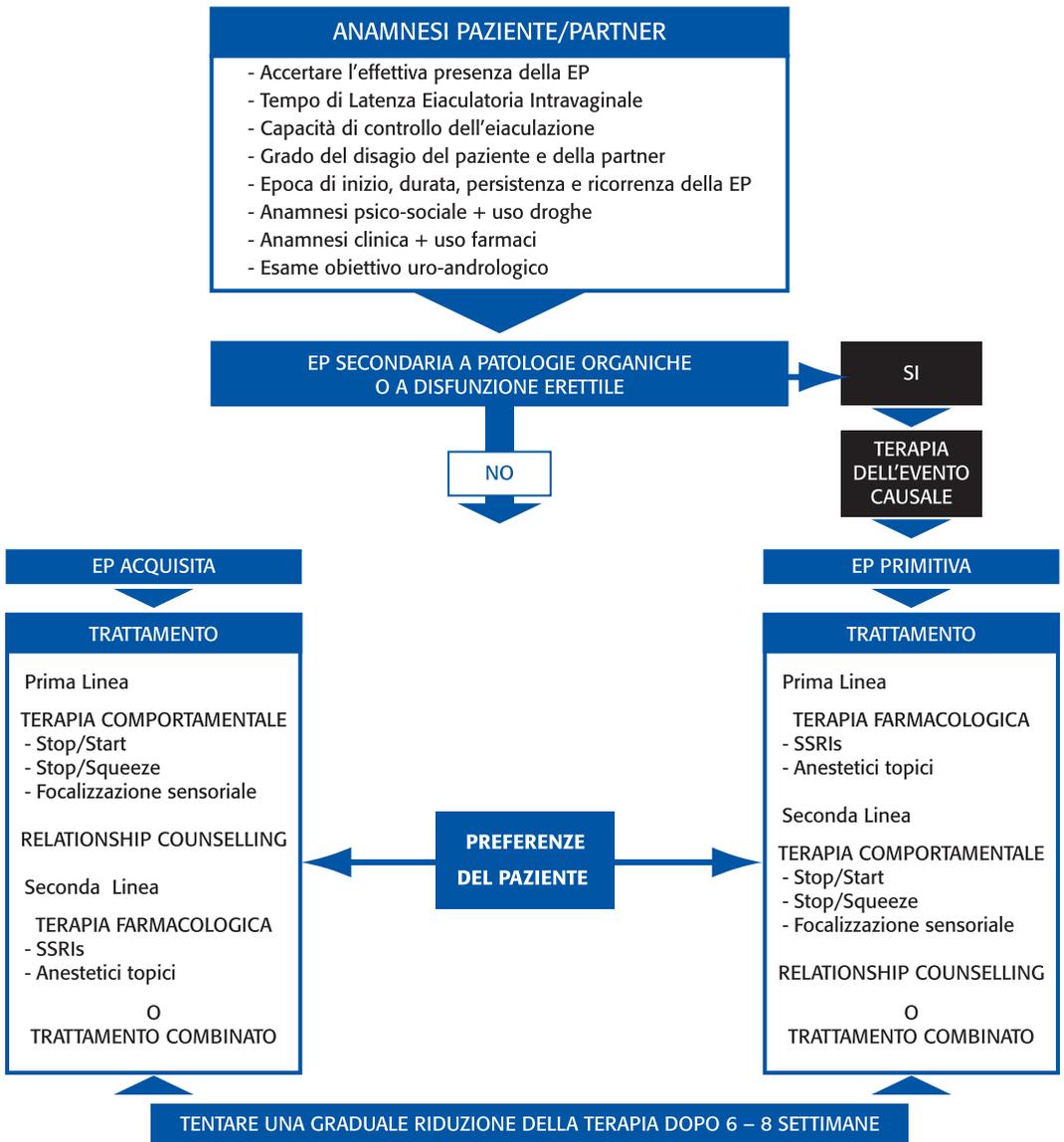


Figura 1. Modificata da: CG. McMahon. Disorders of Orgasm and ejaculation in men. In TF Lue, R. Basson, R. Rosen, F. Giuliano, S. Khoury, F. Montorsi: Sexual Medicine - Sexual Dysfunctions in Men and Women. 2nd International Consultation on Sexual Dufunctions, Paris. Edition 2004.

2. Aneiaculazione

Alcune patologie psichiatriche e mediche ed alcune procedure chirurgiche possono interferire con il controllo centrale dell'eiaculazione, con l'innervazione autonoma della via seminale e del collo vescicale, con l'innervazione efferente somatica del pavimento pelvico o con la via somatica afferente dal pene.¹ In questo modo, numerose e diversificate cause patogenetiche possono determinare eiaculazione ritardata, aneiaculazione ed anorgasmia.¹

La progressiva riduzione delle fibre nervose periferiche sensoriali a rapida conduzione, che inizia dalla terza decade di vita, insieme all'atrofia del derma, all'infiltrazione della mielina da parte del collagene ed alla degenerazione dei corpuscoli del Pacini osservata nel maschio anziano, possono esitare in una ipoestesia peniena su base degenerativa ed età correlata in grado di rendere difficile il raggiungimento dell'eiaculazione.⁴²

DEFINIZIONE ED EZIOLOGIA

L'aneiaculazione è la completa assenza di eiaculazione sia anterograda che retrograda.⁴³ E' causata dalla mancata emissione in uretra di sperma dalle vescicole seminali, dalla prostata e dai dotti eiaculatori.⁴⁴ L'aneiaculazione è abitualmente associata ad una normale sensazione orgasmica.⁴³ Occasionalmente, quando ad esempio l'aneiaculazione è causata da lesioni spinali incomplete, la sensazione orgasmica può essere alterata o ridotta.⁴³ L'aneiaculazione è sempre correlata con una disfunzione neurogena centrale o periferica o con l'uso di farmaci o droghe.⁴⁵

Tabella 1: Eziologie dell'aneiaculazione⁴³

CAUSE NEUROLOGICHE	FARMACI E DROGHE
• Lesion spinali	• Antiipertensivi
• Lesioni della cauda equina	• Antipsicotici
• Linfadenectomia retro peritoneale	• Antidepressivi
• Chirurgia aortoiliaca o del rene a ferro di cavallo	• Alcool
• Chirurgia del colon/retto	• Cannabinoidi
• Sclerosi multipla	• Oppiacei
• Malattia di Parkinson	
• Neuropatia Autonoma (diabete - alcool)	

Modificato da: GR. Dohle, A. Jungwirth, G. Colpi, A. Giwercman, T. Diemer, TB. Hargreave. Disorders of Ejaculation. In: European Association of Urology (EAU) (ed). Guidelines on Male Infertility 2008: 59-64

DIAGNOSI

In caso di orgasmo senza eiaculazione, deve essere raccolta un'accurata anamnesi e condotto un attento esame obiettivo allo scopo di ricercare la presenza o meno di una delle cause eziologiche espresse in Tabella.1. Nel caso in cui una di queste cause fosse riscontrata, dovrà essere valutata l'esistenza di una plausibile relazione temporale tra la sua epoca di insorgenza e la comparsa dell'aneiaculazione.⁴⁶ Infine deve essere verificata l'esistenza di correlazioni tra eventuali modificazioni della qualità e dello stile di vita e la comparsa dell'aneiaculazione.⁴⁶

La causa ostruttiva può essere responsabile di riduzioni, anche drammatiche, del volume dell'eiaculato (ipoposia) con associate modificazione del pH seminale.¹ Molto più raramente una patologia ostruttiva bilaterale determina una vera aneiaculazione.⁴⁷ Comunque, nel sospetto di una causa ostruttiva, potrà aiutare lo studio della via seminale con ecografia trans-scrotale e trans-rettale e, in caso di necessità, la deferento-vesciculografia della via seminale.¹

In caso di aneiaculazione può essere necessaria la diagnosi differenziale con l'eiaculazione retrograda completa. Ciò anche in considerazione del fatto che entrambe le disfunzioni eiaculatorie hanno in comune il mantenimento della sensazione orgasmica ed alcune cause patogenetiche (es.: la neuropatia diabetica ed alcolica). La diagnosi differenziale si pone ricercando spermatozoi nel centrifugato urinario dopo che il paziente ha avuto un orgasmo.⁴⁴ In caso di mancanza di spermatozoi, la diagnosi di eiaculazione retrograda si pone documentando nell'urina il fruttosio prodotto dalle vescicole seminali.⁴⁴

TERAPIA

L'unica terapia sarebbe quella indirizzata al trattamento della causa che determina l'aneiaculazione. In realtà, ciò è raramente possibile. In piccole serie di pazienti con aneiaculazione secondaria all'assunzione di SSRIs, studi non placebo-controllati hanno affermato una qualche efficacia di alcuni farmaci con effetto anti-serotonergico o dopaminergico centrale (Tabella 3).¹

E' possibile, invece, finalizzare l'approccio terapeutico al recupero della fertilità nel maschio in età riproduttiva, tramite il prelievo, chirurgico o per citoaspirato, di spermatozoi dal testicolo ed il loro utilizzo, a fresco o dopo congelamento/decongelamento, in una tecnica di procreazione medicalmente assistita (PMA).

3. Anorgasmia ed eiaculazione ritardata

DEFINIZIONE ED EZIOLOGIA

L'anorgasmia è l'incapacità di raggiungere l'orgasmo e può essere interpretata come la forma più grave di eiaculazione ritardata. Per questo motivo le due disfunzioni sono qui trattate nello stesso paragrafo.

L'anorgasmia può comportare aneiaculazione.⁴⁴ La causa è più frequentemente psicologica.⁴⁴ ma può essere anche organica. (Tabella 1).¹ L'anorgasmia è spesso una condizione primitiva.⁴⁴ Alcuni pazienti affetti da anorgasmia, riportano sporadici episodi di emissione notturna o di eiaculazioni che avvengono in occasione di situazioni di grande eccitazione non correlati all'attività sessuale.⁴⁸

L'eiaculazione ritardata colpisce oltre il 4% della popolazione maschile sessualmente attiva.⁴⁹ Essa è una condizione disfunzionale per la quale l'individuo necessita di un'abnorme stimolazione del pene in erezione per arrivare all'orgasmo.⁴⁵ L'eiaculazione ritardata può essere considerata una forma meno grave di anorgasmia ed entrambe le disfunzioni possono presentarsi in maniera alternata nello stesso paziente.⁴⁴

Analogamente a quanto avviene per l'anorgasmia, le cause di eiaculazione ritardata possono essere psicologiche o organiche (Tabella 2). E così, ad esempio, la patogenesi potrebbe essere legata ad una lesione spinale incompleta,⁴⁸ al danno iatrogeno chirurgico del nervo dorsale del pene⁵⁰ o medico (antidepressivi, antiipertensivi, antipsicogeni).⁴³

Tabella 2: Cause di Anorgasmia ed Eiaculazione ritardata⁵¹

Cause Psicogene

- Condizioni sfavorevoli o aversive all'innesco della fase eccitatoria centrale
- Psico-patologie

Cause Organiche

CONGENITE

- Cisti Mülleriane
- Anomalie del dotto di Wolff
- Prune-belly syndrome

NEUROGENE

- Neuropatia autonoma (diabetica - alcolica)
- Lesioni midollari
- Simpatectomia bilaterale
- Asportazione di aneurisma addominale
- Linfadenectomia paraortica

INFETTIVE (URETRO-PROSTATO-VESCICULITI)

ENDOCRINE

- Ipogonadismo
- Ipotiroidismo

FARMACOLOGICHE

- Metildopa
- Psicotropi
- Triciclici
- Inibitori reuptake serotonina (SSRI)
- Fenotiazine
- Inibitori delle fosfodiesterasi 5 (PDE5i)

Modificato da: GM Colpi, G. Piediferro. Ritardi eiaculatori: fisiopatologia e terapia.
In: EA Jannini, A. Lenzi, M. Maggi (eds). Sessuologia Clinica Trattato di psicossessuologia e medicina della sessualità. Milano: Elsevier Masson, 2007:328-335

CLASSIFICAZIONE

L'eiaculazione ritardata è classificabile in quattro gradi: il grado 1 (lieve) nel quale l'eiaculazione in vagina avviene ma con difficoltà, abitualmente con un rapporto prolungato ed intenso; il grado 2 (moderata) nel quale l'eiaculazione, impossibile in vagina, avviene solo con la stimolazione manuale o orale da parte della partner; il grado 3 (severa) nel quale l'eiaculazione è ottenuta solo con la masturbazione attuata non in presenza della partner; il grado 4 (aneiaculazione) caratterizzato dall'assoluta incapacità ad eiaculare in ogni situazione.⁵²

DIAGNOSI

La diagnosi è innanzi tutto affidata ad una scrupolosa raccolta anamnestica, sia generale che sessuale. L'eiaculazione ritardata e l'anorgasmia solo coitale e/o partner-dipendente, in assenza di disfunzione erettile e con mantenimento anche episodico o situazionale (es.: eccitazioni non sessuali; autoerotismo) o notturno dell'orgasmo, orientano a condizioni a patogenesi d'ambito psicogenico.⁴⁹ Per contro, ritardi eiaculatori globali persistenti e ricorrenti e, comunque, non situazionali né partner-correlati, meritano una diagnostica orientata a verificare una possibile patogenesi organica. In quest'ambito, è utile ricordare la possibilità di deterioramento, correlato all'invecchiamento, della sensibilità sia del glande sia delle aree corticali⁵⁰ deputate all'elaborazione degli stimoli sensoriali a significato eccitatorio. In questi casi, può essere utile la valutazione recettoriale peniena della via somatica afferente e dei centri cerebrali di elaborazione mediante bio-tesiomètria (misurazione della sensibilità pallesesia del pene), la valutazione elettrofisiologica delle vie nervose che controllano l'eiaculazione (potenziali evocati somato-sensoriali; potenziali evocati motori; test dell'arco riflesso somatico-somatico; risposta simpatico-cutanea),¹ il profilo degli ormoni sessuali e tiroidei⁵¹, valori di glicemia e Hb glicata.

TERAPIA

Anche la terapia dell'anorgasmia e dell'eiaculazione ritardata deve essere finalizzata, quando possibile, al trattamento della loro causa eziologica. In seconda battuta, al maschio in età riproduttiva deve essere data la possibilità di procreare tramite PMA attuata con la raccolta di sperma ottenuta con vibromassaggio penieno e, nei casi più gravi, con elettrostimolazione o con il prelievo, chirurgico o per citoaspirato, di gameti.

I trattamenti psicologici dell'anorgasmia e dell'eiaculazione ritardata

Nei casi di anorgasmia e di eiaculazione ritardata nei quali sia stata identificata una eziologia psicogena, la letteratura d'ambito psicoterapeutico ha presentato proposte di trattamento tra le quali l'approccio psicodinamico breve,⁵³ la terapia sessuologica,⁵⁴ la focalizzazione sensoriale associata a energetiche stimolazioni peniene non coitali e ad adeguate modificazioni della modalità di condurre il rapporto,⁵⁵ la terapia sessuologica cognitivo-comportamentale,⁵⁶ l'uso dell'eiaculazione indotta con vibro stimolazione peniena a scopo terapeutico per risolvere l'anorgasmia.⁵⁷ Deve essere segnalato che esistono revisioni critiche sui risultati dei trattamenti psico-sessuologici dell'anorgasmia e dell'eiaculazione ritardata.⁵⁸

I trattamenti farmacologici dell'anorgasmia e dell'eiaculazione ritardata

E' interessante rilevare che non è infrequente l'eiaculazione ritardata o l'anorgasmia secondaria all'assunzione di droghe o farmaci, più spesso antidepressivi.¹ Negli ultimi dieci anni, i farmaci più spesso chiamati in causa sono stati gli SSRIs¹. A questo proposito è stata verificata l'efficacia di Sildenafil nel migliorare gli effetti collaterali indotti, sulla sfera sessuale, dai triciclici e dagli SSRIs.⁵⁹ Il trattamento farmacologico è l'approccio più promettente dell'eiaculazione ritardata e dell'anor-

gasmia.¹ Anche quando la terapia medica non normalizza l'eiaculazione, può tuttavia trasformare una mancanza di emissione in un'eiaculazione retrograda che consente la raccolta di piccole quantità di spermatozoi vitali utilizzabili per attuare una PMA.¹ In letteratura sono presenti molti report sull'uso di differenti molecole per il trattamento dell'eiaculazione ritardata e dell'anorgasmia. (Tabella 3).¹ Queste sostanze non sono state valutate con studi placebo-controllati, bensì in piccole serie di pazienti con anorgasmia, eiaculazione ritardata o aneiaculazione conseguenti all'assunzione di SSRIs.¹ Queste molecole sembrerebbero facilitare l'eiaculazione a livello centrale con effetti sia dopaminergici sia anti-serotoninergici.¹

Tabella 3. Farmacoterapia aggiuntiva in disfunzioni sessuali SSRIs-indotte

MOLECOLA	EFFETTO	DOSAGGIO	
		Al bisogno	Giornaliero
Amantadina ⁶⁰	Stimolatore dopaminergico centrale e periferico	100-400 mg x 2 giorni prima del coito	75-100 mg x 2-3/die
Bupropion ⁶¹	Antidepressivo dopaminergico	75 - 150 mg	75 mg x 2-3/die
Buspirone ⁶²	Benzodiazepina ad attività 5HT1A agonista	15 - 60 mg	5-15 mg x2/die
Ciproptadina ⁶³	Antistaminico che incrementa la serotonina cerebrale	4 - 12 mg	On Demand
Yohimbina ⁶⁴	α_2 -antagonista - α_1 -antagonista	5.4 - 10.8 mg	5.4 mg x 3/die

Modificata da: CG. McMahon. Disorders of Orgasm and ejaculation in men. In TF Lue, R. Basson, R. Rosen, F. Giuliano, S. Khoury, F. Montorsi: Sexual Medicine - Sexual Dysfunctions in Men and Women. 2nd International Consultation on Sexual Dysfunctions, Paris. Edition 2004

ALGORITMO DELLA GESTIONE DEI PAZIENTI CON ANEIACULAZIONE – ANORGASMIA – EIACULAZIONE RITARDATA

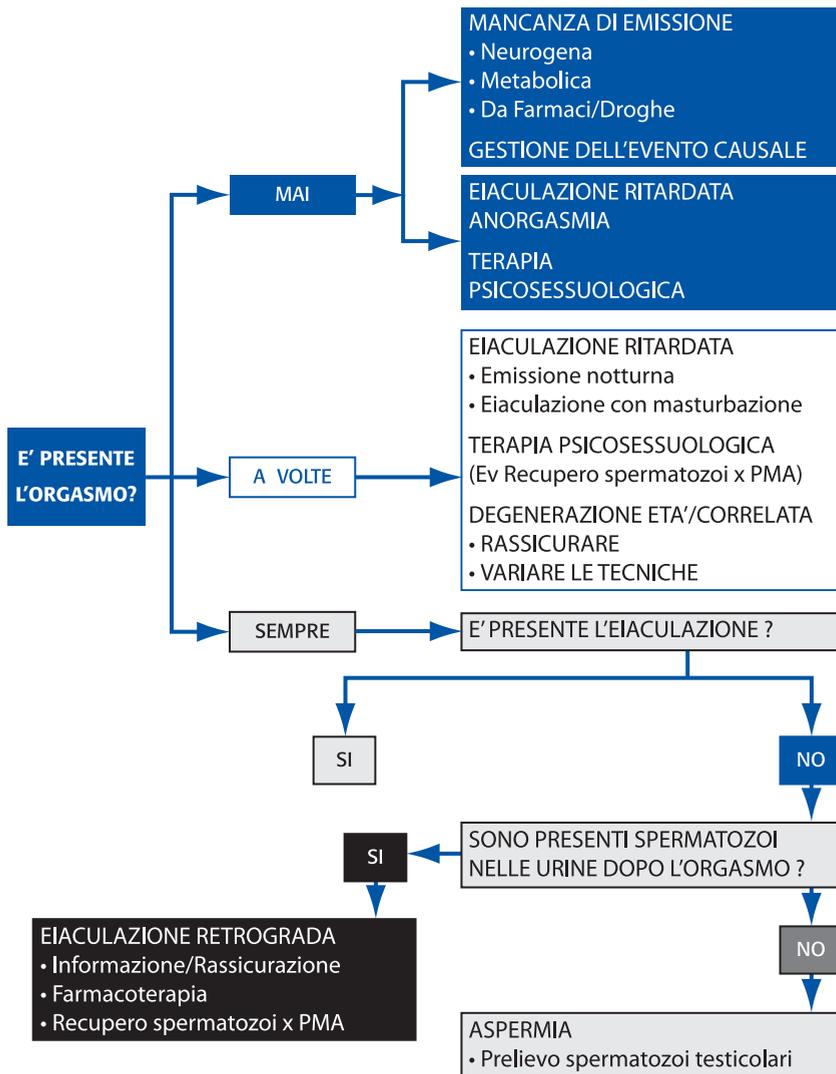


Figura 2. Modificata da: CG. McMahon. Disorders of Orgasm and ejaculation in men. In TF Lue, R. Basson, R. Rosen, F. Giuliano, S. Khoury, F. Montorsi: Sexual Medicine - Sexual Dysfunctions in Men and Women. 2nd International Consultation on Sexual Dysfunctions, Paris. Edition 2004

4. Eiaculazione Retrograda

DEFINIZIONE ED EZIOLOGIA

L'eiaculazione retrograda è l'assenza totale, ma a volte anche parziale, di eiaculazione, perché lo sperma refluisce in vescica attraverso il collo vescicale.⁴⁴ I pazienti con eiaculazione retrograda hanno una sensazione orgasmica normale o ridotta, salvo quelli che hanno una paraplegia.⁴⁴ Eiaculazione retrograda parziale può essere confusa con una secrezione delle ghiandole bulbo-uretrali.⁴⁴

Le cause di eiaculazione retrograda sono illustrate e classificate in Tabella 4.⁴⁴

Tabella 4. Etiologia dell'eiaculazione retrograda

Cause neurologiche <ul style="list-style-type: none">• Lesioni spinali• Lesioni della cauda equina retroperitoneale• Simpatiectomia• Chirurgia del colon-retto	Incompetenza del collo vescicale <ul style="list-style-type: none">• Difetti congeniti/disfunzioni dell'emitrigono• Estrofia vescicale• Resezione del collo vescicale• Chirurgia prostatica
Cause farmacologiche <ul style="list-style-type: none">• Antiipertensivi• Alfa-1-bloccanti• Antipsicotici• Antidepressivi	Cause uretrali <ul style="list-style-type: none">• Stenosi uretrale• Valvole uretrali• Iperplasia del veru montanum• Ureterocele ectopico• Difetto congenito di Dopamina beta-idrossilasi

Modificata da: GR. Dohle, A. Jungwirth, G. Colpi, A. Giwercman, T. Diemer, TB. Hargreave. Disorders of Ejaculation. In: European Association of Urology (EAU) (ed). Guidelines on Male Infertility 2008:59

DIAGNOSI

L'iter diagnostico deve iniziare con una attenta raccolta anamnestica alla ricerca di uno o più degli eventi causali riportati in tabella 4, e dell'eventuale correlazione temporale tra la loro comparsa e quella della disfunzione eiaculatoria. E' bene indagare anche sulla eventuale presenza di disfunzioni minzionali correlate alla scomparsa dell'eiaculazione: quadri ostruttivi e/o presenza di incontinenza o sgocciolamento post-minzionale.

L'esame obiettivo va condotto sull'apparato genitale e sulla prostata tramite l'esplorazione digito-rettale. Deve essere valutato il riflesso bulbocavernoso ed il tono dello sfintere anale. Un approccio neurologico di minima prevede la valutazione della sensibilità dello scroto, i riflessi patellare e plantare, la valutazione del tono del muscolo pubo-coccigeo.

Deve essere quindi posta la diagnosi differenziale tra eiaculazione retrograda completa ed aneiaculazione. Tali disfunzioni hanno in comune il mantenimento dell'orgasmo ed alcune cause patogenetiche (es.: la neuropatia diabetica). La diagnosi differenziale si pone ricercando spermatozoi nel centrifugato urinario dopo che il paziente ha avuto un orgasmo.⁴⁴ In caso di mancanza di spermatozoi, andrà ricercato il fruttoso prodotto dalle vescicole seminali.⁴⁴

TERAPIA

In assenza di lesioni spinali, anomalie anatomiche dell'uretra e di danni iatrogeni medici o chirurgici sul collo vescicale, si può provare un trattamento farmacologico dell'eiaculazione retrograda causata da una insufficienza funzionale della chiusura. Tale trattamento, quando efficace, è abitualmente somministrato per ripristinare l'eiaculazione anterograda nei giorni ovulatori della partner quando la coppia ricerca un figlio, o per attuare una crioconservazione dello sperma finalizzata ad una successiva procreazione medicalmente assistita. A tal fine, potranno essere impiegati i farmaci riportati nella tabella 5.⁴⁴

Tabella 5. Terapia medica per l'eiaculazione retrograda

Imipramina, 25-75 mg 3 volte al dì⁶⁵

Efedrina solfato, 10-15 mg 4 volte al dì⁶⁶

Midodrin, 5 mg 3 volte al dì⁶⁷

Bromfeniramina maleato, 8 mg 2 volte al dì⁶⁸

Desipramine, 50 mg ogni 2 giorni⁶⁹

Modificata da: GR. Dohle, A. Jungwirth, G. Colpi, A. Giwercman, T. Diemer, TB. Hargreave. Disorders of Ejaculation. In: European Association of Urology (EAU) (ed). Guidelines on Male Infertility 2008:59

Nei casi in cui l'eiaculazione retrograda sia determinata da una lesione spinale o da una terapia medica che non può essere interrotta o quando i farmaci elencati in tabella 5 non siano efficaci o siano mal sopportati dal paziente,⁴⁴ l'obiettivo riproduttivo potrà essere perseguito solo tramite una procreazione medicalmente assistita eseguita con spermatozoi recuperati dalle urine, opportunamente pre-alcalinizzate, dopo che il paziente è arrivato all'orgasmo.⁷⁰

Bibliografia

1. CG. McMahon. Disorders of Orgasm and ejaculation in men. In TF Lue, R. Basson, R. Rosen, F. Giuliano, S. Khoury, F. Montorsi: Sexual Medicine - Sexual Dysfunctions in Men and Women. 2nd International Consultation on Sexual Dysfunctions, Paris: Edition 2004
2. H Kaplan. The evaluation of sexual disorders: the urologic evaluation of ejaculatory disorders. New York: Brunner/Mazel, 1983
3. J.G. Pfaus, T.E. Kippin and S. Centeno, Conditioning and sexual behavior: a review, *Horm. Behav.* 2001;(40):291
4. F. Giuliano, P. Clément, Physiology of Ejaculation: Emphasis on Serotonergic Control. *Eur Urol* 2005; 46(3): 408
5. K. McKenna. Ejaculation In: E. Knobil and J. Neil (eds), *Encyclopedia of reproduction* vol. 1, Academic Press, New York, 1999
6. M.D. Waldinger and D.H. Schweitzer, Changing paradigms from an historical DSM-III and DSM-IV view towards an evidence based definition of premature ejaculation. Part I: validity of DSM-IV-TR, *J Sex Med* 2006;3:682
7. CG.McMahon, S.Althof, MD.Waldinger, H.Porst, J.Dean, I.Sharlip, PG.Adaikan, E. Becher, GA. Broderick, J.Buvat, K.Dabees, A.Giraldi, F. Giuliano, JG. Hellstrom Wayne, L. Incrocci, E. Laan, E.Meuleman, MA. Perelman, R. Rosen, D. Rowland, R. Seagraves. An evidence-based definition of lifelong premature ejaculation: report of the International Society for Sexual Medicine Ad Hoc Committee for the Definition of Premature Ejaculation. *BJU International* 2008;102 (3):338
8. MD. Waldinger: Relevance of an evidence-based ejaculation time cutoff point for neurobiological research of premature ejaculation *J. Comp. Neurol.*2005; 493(1):46
9. M.D. Waldinger, Premature Ejaculation: State of the Art *Urol Cl. North Am.* 2007;34(4):591
10. E. Screponi, E. Carosa and S.M. Stasi, M. Pepe, G. Carruba, EA. Jannini. Prevalence of chronic prostatitis in men with premature ejaculation, *Urology* 2001;58:198
11. C.Carani, AM. Isidori, A. Granata, E. Carosa, M. Maggi, A. Lenzi, and E. A. Jannini. Multicenter study on the prevalence of sexual symptoms in male hypo- and hyperthyroid patients. *J Clin Endocrinol Metab*, 2005; 90(12):6472
12. S.E. Althof, Psychological treatment strategies for rapid ejaculation: rationale, practical aspects, and outcome, *World J Urol* 2005;23:89
13. U. Hartmann, M. Schedlowski and T.H.C. Kruger, Cognitive and partner-related factors in rapid ejaculation: differences between dysfunctional and functional men, *World J Urol* 2005;23:93
14. Grenier G., Byers S.: Operationalizing early or rapid ejaculation. *J. Sex. Res.*2001;38:369
15. PK.Janssen, SC. Bakker, J. Réthelyi, AH. Zwinderman, DJ. Touw, B. Olivier, MD. Waldinger. Serotonin Transporter Promoter Region (5-HTTLPR) Polymorphism is Associated with the Intravaginal Ejaculation Latency Time in Dutch Men with Lifelong Premature Ejaculation, *Journal of Sexual Medicine* 2009; 6(1):276
16. M.D. Waldinger, Premature ejaculation: definition and drug treatment, *Drugs* 2007;67:547
17. W Pasini. Sexologic problems in dermatology. *Clin. Dermatol.*1984;2:59
18. H Kaplan. Premature ejaculation: Overcoming early ejaculation. New York : Brunner/Mazel, 1989
19. S. Levin. Helping men to control ejaculation. In S. Levine (ed). *Sexual life: A clinician's guide*. New York: Plenum, 1992
20. J. Wincze, MP. Carey. Sexual dysfunction: A guide for assessment and treatment. New York : Guilford, 1991
21. J. Heiman. Empirically validated treatment for sexual dysfunction. *Ann. Rev. Sex.Res* 1997;8:148
22. J. Semans. Premature ejaculation. *Southern Med J* 1956;49:352
23. V. Masters, VE. Johnson. *Human sexual inadequacy*. Boston: Little, Brown;1970
24. U. Galimberti *Dizionario di Psicologia*, Torino, UTET2006
25. M. Berkovitch, A.G. Keresteci and G. Koren, Efficacy of prilocaine-lidocaine cream in the treatment of premature ejaculation, *J Urol* 1995;154:1360
26. R. Henry, A. Morales. Topical lidocaine-prilocaine spray for the treatment of premature ejaculation: a proof of concept study *Int J Impot Res.* 2003;15(4):277
27. J. Chen, G. Keren-Paz, Y Bar-Yosef and H. Matzkin. The Role of Phosphodiesterase Type 5 Inhibitors in the Management of Premature Ejaculation: A Critical Analysis of Basic Science and Clinical Data. *European Urology* 2007; 52(5):1331-1339

28. A. Salonia, T. Maga, R. Colombo, V. Scattoni, A. Briganti, A. Cestari, G. Guazzoni, P. Rigatti, F. Montorsi. A prospective study comparing paroxetine alone versus paroxetine plus sildenafil in patients with premature ejaculation, *J Urol* 2002; 168: 2486-2489
29. CG.McMahon, B. Stuckey, ML. Andersen, K. Purvis, N. Koppiker, S. Haughie, M.Boolell. Efficacy of Viagra: Sildenafil citrate in men with premature ejaculation. *J Sex Med* 2005;2:368
30. MD. Waldinger, DH. Dave and B. Olivier. On-demand SSRI treatment of premature ejaculation: pharmacodynamic limitations for relevant ejaculation delay and consequent solutions, *J. Sex Med.* 2005;2:120
31. F. Giuliano. 5-hydroxytryptamine in premature ejaculation: opportunities for therapeutic intervention. *Trends in Neurosciences* 2007; 3(2):79
32. P. Quintin and P. Thomas, Efficacy of atypical antipsychotics in depressive syndromes, *Encephale* 2004;30:583
33. TR. de Jong, J.G. Veening, MD. Waldinger, AR. Cools and B. Olivier. Serotonin and the neurobiology of the ejaculatory threshold, *Neurosci. Biobehav. Rev.* 2006;30:893
34. S.W. Kim and J.S. Paick, Peripheral effects of serotonin on the contractile responses of rat seminal vesicles and vasa deferentia, *J. Androl.* 2004;25:893
35. MD. Waldinger. The neurobiological approach to premature ejaculation. *J Urol* 2002;168:2359
36. MD. Waldinger, AH. Zwinderman, DH Schweitzer and B Olivier. Relevance of methodological design for the interpretation of efficacy of drug treatment of premature ejaculation: a systematic review and meta-analysis, *Int. J. Impot. Res.* 2004;16:369
37. AL. Montejo-Gonzalez, G. Liorca, JA. Izquierdo, A. Ledesma, M. Bousono, A. Calcedo, E. Vicens.. SSRI-induced sexual dysfunction: floxetine, paroxetine, sertraline and fluvoxamine in a prospective, multi-center, and descriptive clinical study of 344 patients, *J. Sex Marital Ther.* 1997;23:176
38. MD. Waldingeret, AH. Zwinderman, B. Olivier. On-demand treatment of premature ejaculation with clomipramine and paroxetine: a randomized, double-blind fixed-dose study with stopwatch assessment, *Eur. Urol.* 2004;46:510
39. MD. Waldinger, H. Zwinderman, B. Olivier. Antidepressants and ejaculation: a double-blind, randomized, placebo-controlled, fixed-dose study with paroxetine, sertraline, and nefazodone, *J. Clin. Psychopharmacol.* 2001;21:293
40. NB. Modi, MJ Dresser, M. Simon, D. Lin, D. Desai, S. Gupta. Single- and multiple-dose pharmacokinetics of dapoxetine hydrochloride, a novel agent for the treatment of premature ejaculation, *J. Clin. Pharmacol.* 2006;46:301
41. JL Pryor, SE Althof, C Steidle, RC Rosen, WJG Hellstrom, R Shabsigh, Miloslavsky, S Kell and for the Dapoxetine Study Group. Efficacy and tolerability of dapoxetine in treatment of premature ejaculation: an integrated analysis of two double-blind, randomised controlled trials, *Lancet* 2006;368:929
42. AR Tome, JC Da Silva, AA Souza, JP Mattos, MR Vale, VS Rao. Possible involvement of nitric oxide in pilocarpine induced seminal emission in rats. *Gen Pharmacol.* 1999;33:479
43. GR. Dohle, A. Jungwirth, G. Colpi, A. Giwercman, T. Diemer, TB. Hargreave. Disorders of Ejaculation. In: European Association of Urology (EAU) (ed). *Guidelines on Male Infertility 2008*:59
44. J. Buvart. Glossaire (Les perturbations de l'éjaculation). In: J. Buvart, P. Jouannet (eds.). *L'éjaculation et ses Perturbations.* Lyon-Villeurbanne, 1984
45. R. Wang, M. Monga, WJG. Hellstrom. Ejaculatory dysfunction. In: FH. Comhaire (ed.). *Male Infertility: Clinical Investigation. Cause, Evaluation and Treatment.* London. Vhapman Hall, 1996
46. C. Bettocchi, F. Palumbo, P. ditonno, M. Battaglia. Orgasmo senza eiaculazione ed eiaculazione senza orgasmo. In: EA Jannini, A. Lenzi, M. Maggi (eds). *Sessuologia Clinica Trattato di psicosessuologia e medicina della sessualità.* Milano. Elsevier Masson, 2007
47. HJ. Stricker, JR. Kunin, GJ. Faerber. Congenital prostatica cyst causing ejaculatory duct obstruction: management by transrectal cyst aspiration. *J Urol.* 1993;149(5):1141
48. JP. Pryor. Erectile and ejaculatory problems in infertility. In: TB. Hargreave (ed.) *Male Infertility.* Berlin. Springer-Verlag, 1997
49. B. Apfelbaum. L'eiaculazione ritardata: una sindrome spesso fraintesa. In: SR Leiblum, RC. Rosen (eds), *Principi e pratica di terapia sessuale (ed. Italiana).* CIC Edizioni Internazionali. Roma, 2004
50. D. Yachia. Our experience with penile deformations: incidence, operative technique, and results. *J Androl* 1994;15(suppl):63S

51. GM Colpi, G. Piediferro. Ritardi eiaculatori: fisiopatologia e terapia. In: EA Jannini, A. Lenzi, M. Maggi (eds). *Sessuologia Clinica Trattato di psicossessuologia e medicina della sessualità*. Milano. Elsevier Masson, 2007
52. HS. Kaplan. *The new Sex therapy*, London. Bailliere Tindall, 1974
53. M Delmonte. Meditation as a clinical intervention strategy: a brief review. *International Journal of Psychosomatics* 1986;33:9
54. GWR. Zgourides. Retarded ejaculation: Overview and treatment implications. *Journal of Psychology & Human Sexuality* 1989;2:139
55. W. Master, VE. Johnson. *Human sexual inadequacy*. Boston. Little, Brown, 1970
56. M. Perelman. Sildenafil, Sex Therapy, and Retarded Ejaculation. *Journal of Sex Education & Therapy* 2001;26:13
57. D. Ohl, AC. Menge, J. Sonksen. Penile vibratory stimulation in spinal cord injured men: Optimized vibration parameters and prognostic factors. *Arch. Phys. Med Rehabil* 1996;77:903
58. JR. Heiman, CM Meston. Empirically validated treatment for sexual dysfunction. In: R. Rosen, C. Davis, H. Ruppel (eds). *Annual review of sex research*. Mount Vernon, IA: The Society for the Scientific Study of Sexuality, 1998
59. HG. Nurnberg. Treatment of antidepressant-associated sexual dysfunction with sildenafil: a randomized controlled trial. *JAMA* 2003;1:56
60. R. Balon. Intermittent amantadine for fluoxetine-induced anorgasmia. *J Sex Marital Ther* 1996;22:290
61. A. Ashton, R. Rosen: Bupropion as an antidote for serotonin reuptake inhibitor-induced sexual dysfunction. *J J Clin Psychiatry* 1998;59:12
62. E. Othmer, SC. Othmer, Effect of buspirone on sexual dysfunction in patients with generalized anxiety disorder. *J Clin Psychiatry* 1997;48:201
63. K. Ashton, R. Rosen: Serotonin reuptake inhibitor-induced sexual dysfunction and its treatment: a large scale retrospective study of 596 psychiatric outpatients. *J Sex Marital Ther* 1997;23:165
64. E. Hollander, A. McCarley. Yohimbine treatment of sexual side effects induced by serotonin reuptake blockers. *J Clin Psychiatry* 1992;53:207
65. ME. Brooks, M. Berezin, Z. Braf. Treatment of retrograde ejaculation with imipramine. *Urology* 1980;15:353
66. I. Gilja, J. Parazajder, M. Radej, P. Cvitkovic, M. Kovacic. Retrograde ejaculation and loss of emission: possibilities of conservative treatment. *Eur Urol* 1994;25:226
67. D. Jonas, P. Linzbach, W. Weber. The use of midodrin in the treatment of ejaculation disorders following retroperitoneal lymphadenectomy. *Eur Urol*. 1979;5(3):184
68. WB. Schill. Pregnancy after brompheniramine treatment of a diabetic with incomplete emission failure. *Arch. Androl*. 1990;25(1):101
69. WF. Hendry. Disorders of ejaculation: congenital, acquired and functional. *Br. J. Urol*. 1998;82(3):331
70. WB Schill. Diagnosis and treatment of ejaculatory sterility. In: JD Paulson, A. Nigro-Vitar, E. Lucena, L. Martini (eds). *Andrology. Male Fertility and Sterility*. Orlando: Academic Press, 1986

Capitolo 3

NEOPLASIA DEL TESTICOLO

R. Salvioni

Introduzione

I tumori a cellule germinali (GCT) sono neoplasie infrequenti e con un tasso di guarigione molto alto. La chiave del successo del trattamento dipende sia dal corretto uso dei mezzi diagnostici (soprattutto TC e markers tumorali) sia dall'integrazione delle diverse armi terapeutiche a disposizione: chemioterapia, chirurgia e radioterapia. Lo standard ottimale associa una precisa stadiazione della malattia a una corretta somministrazione delle diverse terapie, il che comporta nei primi stadi diverse possibilità terapeutiche mentre nella malattia avanzata trattamenti che devono essere associati in maniera sequenziale con un corretto timing. Questi principi sono in accordo con il fatto che i pazienti in stadio iniziale, nei quali è possibile ottenere la guarigione con un trattamento minimo, rischiano di essere costantemente sovratrattati, mentre i pazienti con malattia avanzata, con recidiva o malattia refrattaria sono difficili da trattare e talvolta non ricevono la terapia migliore.

L'esperienza dei centri nel trattamento di questa malattia svolge un ruolo molto importante nel determinare il risultato oncologico, soprattutto in quelli a prognosi peggiore, laddove si rende necessario un approccio multidisciplinare^{1,2}. Di uguale importanza è la disponibilità di raccomandazioni cliniche aggiornate per la diagnosi e il trattamento di questa patologia. Il Gruppo Italiano dei tumori a cellule germinali (IGG) ha sviluppato le seguenti linee guida, che focalizzano gli standard a livello internazionale per la diagnosi e la cura dei pazienti affetti da GCT. Queste raccomandazioni cliniche sono basate su una revisione non strutturata della letteratura mediante l'uso di Medline. Inoltre, sono state riviste anche le linee guida più recenti³⁻⁷. Il testo che ne risulta è stato redatto da un writing committee, rivisto e discusso da tutti i partecipanti e approvato infine dalla commissione scientifica dell'IGG. Tutti i partecipanti dell'IGG elencati nell'appendice hanno condiviso ed accettato il lavoro finale.

Questo documento è stato pensato non solo per i clinici per avere uno schema di rapida consultazione, ma anche cercando di ricordarci quelle che possono essere le situazioni più frequenti e le deviazioni dalle procedure standard a cui ci si può trovare di fronte in questi pazienti nel corso della loro storia clinica. Un'attenzione speciale a questi aspetti cruciali è stata data nell'elaborazione del testo.

Linee guida pratiche IGG per pazienti con tumore del testicolo

INCIDENZA E FATTORI DI RISCHIO

I GCT rappresentano circa 1-1,5% di tutte le neoplasie dell'uomo, e rappresentano la neoplasia maligna più frequente nei maschi di età compresa tra i 15 e 40 anni⁸. L'incidenza dei tumori del testicolo è di 3-6 nuovi casi all'anno per 100.000 maschi nei paesi occidentali, con un aumento di incidenza osservato negli ultimi 30 anni⁹. Circa il 95% sono neoplasie primitive del testicolo, mentre nel 5% dei casi vi è una sede primitiva extragonadica, più frequentemente nel mediastino o nel retroperitoneo^{8,9}. Nel 40% dei casi si tratta di seminoma puro, mentre circa il 60% sono tumori non-seminomatosi o tumori misti⁹.

Fattori di rischio ben definiti sono rappresentati dalla presenza di un tumore nel testicolo controlaterale o di neoplasia testicolare intraepiteliale (TIN), una storia di criptorchidismo o di testicolo ritenuto, un testicolo ipotrofico, la sindrome di Klinefelter. La presenza di infertilità o di riduzione della fertilità può avere un ruolo importante nello sviluppo di queste neoplasie ed è comunque argomento di studio. Una storia familiare di tumore testicolare tra i parenti di primo grado è stata riportata in alcuni casi⁹.

DIAGNOSI

Il tumore del testicolo è generalmente sospettato all'esame clinico. Un'ecografia testicolare è necessaria per confermare il sospetto clinico. La diagnosi patologica è basata sull'esame istologico del testicolo rimosso mediante orchietomia condotta per via inguinale. La biopsia intraoperatoria molto raramente è necessaria. La chirurgia con preservazione d'organo può essere un'alternativa solo in casi molto selezionati: come ad esempio in pazienti con livelli di testosterone preoperatorio normali e piccole neoplasie bilaterali sincrone senza invasione della rete testis, o tumori controlaterali metacroni, o in casi di paziente mono-orchide¹⁰. Nei pazienti che esordiscono con malattia extragonadica primitiva è necessario effettuare la biopsia della lesione, con la procedura meno invasiva possibile.

Nei pazienti con GCT metastatico a prognosi sfavorevole, in cui la chemioterapia deve essere iniziata il prima possibile, può rendersi necessario posticipare l'intervento di orchietomia dopo la fine del primo ciclo o al termine del programma chemioterapico.

I risultati del dosaggio dei marcatori tumorali dovrebbe essere disponibile al momento dell'orchietomia e questi dovrebbero essere rivalutati dopo l'intervento tenendo conto del tempo di emivita dei marcatori stessi. Nel caso di un'asportazione radicale della neoplasia i valori di alfa fetoproteina (AFP) e di beta gonadotropina corionica umana (β -HCG) dovrebbero ridursi entro 5-7 giorni e 1-2 giorni dopo la chirurgia, rispettivamente¹¹. La stadiazione deve essere completata con la tomografia computerizzata (TC) del torace, addome e pelvi (la TC del torace può essere sostituita da una radiografia del torace nei pazienti affetti da seminoma in I stadio).

Importante è la valutazione dei linfonodi retroperitoneali. Il criterio convenzionale di non evidenza di aumento dimensionale dei linfonodi può essere troppo generico. La sede e le dimensioni dei linfonodi deve essere valutato da radiologi esperti in modo tale da dare una più accurata definizione di normalità del retroperitoneo^{3,12}. Per i testicoli normalmente scesi, le aree linfonodali di metastatizzazione sono state definite da studi anatomici e chirurgici. L'area di drenaggio del testicolo sinistro è l'area para-aortica sinistra, delimitata medialmente dall'aorta, cranialmente dall'arteria renale, lateralmente dall'uretere sinistro, posteriormente dal muscolo psoas e inferiormente dall'incrocio dell'uretere con l'arteria iliaca omolaterale. Per il testicolo destro invece l'area di drenaggio è più ampia e interessa l'area para-aortica destra e l'area iliaca comune destra, includendo al suo interno la vena cava inferiore; tale area è delimitata medialmente dall'aorta, cranialmente dall'arteria renale destra, lateralmente dall'uretere destro, posteriormente dal muscolo psoas e inferiormente da una linea che passa attraverso la biforcazione iliaca comune fino all'arteria iliaca comune. Non esiste una definizione di normalità per le dimensioni di un linfonodo. La probabilità di interessamento del linfonodo aumenta con l'aumentare del diametro trasverso del linfonodo stesso. Accettando come dimensioni massime un diametro di 3 cm nelle aree di drenaggio, i falsi negativi sono pari al 9,8% ed i falsi positivi sono 46,7%¹⁴. Nella pratica clinica possiamo considerare normale una TC addomino-pelvica in cui non sia identificabile chiaramente nessun linfonodo nelle aree di drenaggio e nessuna adenopatia, di dimensioni superiori a 1 cm, nell'intero retroperitoneo.

L'analisi dello sperma dovrebbe essere sempre raccomandata in questi pazienti. La criopreservazione del seme può essere discussa con i pazienti prima dell'orchietomia, e potrebbe essere eseguita dopo l'intervento in tutti quei pazienti desiderosi di paternità, in cui vi sia un significativo rischio di infertilità, prima di eseguire qualunque tipo di trattamento adiuvante (chemio e/o radioterapia)¹⁵.

STADIAZIONE CLINICA

La classificazione TNM viene usata per definire lo stadio clinico di questi pazienti affetti da GCT¹⁶.

Stadio I. Comprende tutti quei pazienti con tumore a cellule germinali senza evidenza clinica, radiologica o biumorale di malattia al di fuori del testicolo dopo orchietomia radicale^{3,11}.

Nello stadio I con positività dei marcatori tumorali (stadio IS) sono inclusi quei pazienti con tumore testicolare senza evidenza clinica e radiologica di malattia al di fuori del testicolo, ma con persistenza di marcatori tumorali elevati (AFP e/o β HCG) dopo intervento radicale di

orchiectomia (nel seminoma puro deve essere valutata solo la β HCG).

Stadio IIA. Raggruppa tutti quei pazienti in cui vi sia evidenza radiologica di linfonodi retroperitoneali e/o pelvici con diametro trasverso massimo inferiore a 2 cm.

Stadio IIB. Include tutti quei pazienti in cui vi sia evidenza radiologica di linfonodi retroperitoneali e/o pelvici con diametro trasverso massimo compreso tra 2 e 5 cm.

Stadio IIC. E' definito dalla presenza di sole metastasi linfonodali retroperitoneali e/o pelviche con diametro trasverso massimo superiore a 5 cm.

Nei pazienti con malattia metastatica nella pratica clinica viene usata la classificazione dell'IGCCCG. Questa classificazione si basa su: istologia, marcatori tumorali, sede primitiva e secondaria/e includendo anche i GCT primitivi extragonadici¹⁷. Questa classificazione ci permette anche una valutazione prognostica e comprende tutti gli stadi II e III della classificazione TNM (Tabella 1).

NEOPLASIA TESTICOLARE INTRAEPITELIALE (TIN)

Il TIN è definito come una lesione maligna delle cellule germinali testicolari pre-invasiva ed è sinonimo di neoplasia a cellule germinali intratubulare e di carcinoma in situ, anche se questo ultimo appellativo non è formalmente corretto in quanto la lesione non riassume le caratteristiche di una lesione epiteliale. Il TIN è considerato il comune precursore di pressoché tutti i tipi di tumori germinali testicolari^{18,19}, ma la relazione fra TIN e lo sviluppo di un tumore testicolare è dibattuta. Il TIN è abitualmente diagnosticato all'esame istologico di biopsia testicolare e la diagnosi può essere supportata dall'immunoistochimica: la fosfatasi alcalina placentare è considerato un buon marcatore²⁰.

Non abbiamo informazioni sulla prevalenza dei TIN nella popolazione generale dei giovani adulti maschi, ma è stata valutata essere leggermente inferiore all' 1% in Danimarca (lo stesso rischio nel corso della vita di sviluppare un tumore del testicolo nel maschio danese)²¹. Il TIN è riscontrato nello 0.5-1% dei maschi fertili²², nel 2-4% dei testicoli criptorchidi²³, nel 5% di tutti i pazienti con tumore testicolare controlaterale (>34% nelle gonadi atrofiche controlaterali ed età < 30 anni) ed in più del 33% dei pazienti con tumore a cellule germinali extragonadico²⁴.

Quasi tutte le pubblicazioni sul TIN testicolare provengono dai paesi nord europei (soprattutto scandinavi), dove l'incidenza del cancro al testicolo è maggiore più che in ogni altra parte del mondo. È ipotizzabile che anche l'incidenza e il comportamento biologico dei TIN sia diverso nelle diverse popolazioni. In accordo con questo punto, una minor incidenza di tumore controlaterale è segnalata nelle popolazioni del sud Europa: Taberner et al²⁵ descrivono una incidenza di neoplasia invasiva controlaterale di circa 1%, e un recente studio prospettico segnala la non evoluzione a tumore invasivo testicolare in 6 criptorchidi con test positivo alla immunocolorazione con fosfatasi alcalina placentare su una valutazione immunocitochimica dopo 12 anni di follow up²⁶.

La biopsia controlaterale è stata proposta contestualmente all'orchifuniculectomia per valutare la presenza del TIN. La bassa incidenza del TIN nella popolazione del sud Europa e le morbilità della biopsia chirurgica (edema, ematoma, infezione) non è a favore di questa procedura in questi paesi (Italia compresa). Gli scandinavi riferiscono di una probabilità di sviluppare tumore testicolare invasivo nel 70% a 7 anni nei pazienti con TIN e suggeriscono la biopsia controlaterale in pazienti ben informati e motivati che sono ad alto rischio di sviluppare TIN controlaterale²⁷.

Quando il TIN viene riscontrato occasionalmente nel corso di indagini per altro motivo (es. infertilità), l'orchiectomia sembra essere la scelta migliore, se il testicolo controlaterale è normale, allo

scopo di conservare la fertilità che può essere compromessa da una terapia radiante. Quando il TIN è diagnosticato nel testicolo controlaterale al momento della orchifuniculectomia per tumore si presentano 3 possibili scelte terapeutiche: orchietomia e radioterapia (18-20 Gy in singole frazioni di 2 Gy, 5 volte la settimana) offrono un trattamento completo del TIN, ma entrambe compromettono la fertilità, mentre la sorveglianza è una buona opzione nei pazienti che hanno un proposito di procreazione e una buona spermatogenesi residua o almeno sufficiente per una inseminazione assistita. In questi casi un programma di controlli ogni 3 mesi con ecografia scrotale sembra essere ragionevole. Nel caso del persistere del TIN, i pazienti dovrebbero essere trattati come descritto precedentemente.

SEMINOMA STADIO I

La prognosi di questo stadio è ottima, con un tasso di sopravvivenza malattia-specifica del prossimo al 100%. Le tre opzioni terapeutiche a nostra disposizione dopo l'orchietomia sono: sorveglianza, radioterapia e chemioterapia.

Sorveglianza

Nel 15-20% dei pazienti con seminoma stadio I sono presenti delle metastasi subcliniche, generalmente localizzate a livello retroperitoneale. Una politica di sola osservazione (wait and see) ci permette di evitare un sovra-trattamento nell'80% dei casi, tuttavia è necessario un follow-up molto lungo, stressante e costoso. Una metanalisi retrospettiva su pazienti sottoposti a sola sorveglianza, ha permesso di identificare le dimensioni del tumore (> 4 cm) e l'invasione della rete testis come fattori di rischio per la comparsa di recidive. Il rischio di ripresa di malattia è 3-4 volte maggiore quando sono presenti entrambi i fattori. Ciononostante anche pazienti con nessun fattore di rischio (quindi a basso rischio di ripresa) hanno un tasso di recidiva a 5 anni del 6-12%²⁸⁻²⁹.

Radioterapia

La radioterapia adiuvante sulle stazioni linfonodali para-aortiche ed iliache omolaterali (campo a emi-ipsilon rovesciato o dog-leg, acronimo: DL) è stata la terapia standard negli ultimi 60 anni. Con questa tecnica il rischio di ripresa di malattia è dell'1-3%²⁸, e il tasso di sopravvivenza globale è del 99-100%. Questo trattamento storico ed efficace è tuttavia associato ad una tossicità gonadica e al rischio di sviluppare neoplasie secondarie non germinali³⁰. Huddart³¹ e Zagars³² hanno riportato un aumentato rischio di malattie cardiovascolari associato alla radioterapia infradiaframmatica, ma in uno studio molto più recente, in cui è stato valutato un numero molto più elevato di pazienti e con un follow-up molto più lungo, questo rischio è stato evidenziato solo in quei pazienti sottoposti ad irradiazione del mediastino³³. Sulla scorta di un grande studio randomizzato del Medical Research Council (MRC), Fossa e altri autori³⁴ raccomandano la radioterapia sulle sole stazioni linfonodali para-aortiche (PA) come trattamento standard nei pazienti con seminoma del testicolo in stadio I, con tumore T1-T2 e un normale drenaggio linfatico (quest'ultimo potrebbe essere alterato in presenza di pregresso intervento chirurgico per ernia inguinale, per orchidopessi o qualunque chirurgia sullo scroto). La radioterapia limitata ai soli linfonodi para-aortici è associata ad una minore tossicità ematologica, gastrointestinale e gonadica, ma con un rischio maggiore di ripresa pelvica della malattia: ciononostante la DFS a 3 anni è del 96% nel braccio con irradiazione delle sole

stazioni linfonodali para-aortiche contro un 96,6% nel braccio con irradiazione delle stazioni linfonodali para-aortiche e iliache omolaterali dopo il trattamento della recidiva pelvica.

In base a questo il follow-up di questi pazienti deve essere modificato³⁵. Uno studio multicentrico randomizzato del MRC/EORTC ha confrontato due schemi di radioterapia: 20 Gy versus 30 Gy (in entrambi i bracci erano inclusi sia PA sia DL), senza evidenza di differenze significative per quanto riguarda la percentuale di recidiva³⁶: 10 e 11 recidive su 625 pazienti trattati, con solo una morte per malattia. Inoltre negli ultimi 20 anni le tecniche di radioterapia sono notevolmente evolute, la dose totale e i volumi di irradiazione sono stati ridotti per cui ci si aspetta una netta riduzione della tossicità tardiva nel futuro.

Chemioterapia

Uno studio randomizzato dal MRC/EORTC ha confrontato la radioterapia con un unico ciclo di chemioterapia con carboplatino AUC7. La sopravvivenza globale a 3 anni è stata del 94,8% nel braccio con chemioterapia vs 95,9% nel braccio con radioterapia ad un follow-up mediano di 4 anni³⁷. Il tempo complessivo di trattamento è stato ridotto, con una tossicità acuta soggettiva minore e un'inaspettata riduzione dell'incidenza di tumori a cellule germinali nel testicolo controlaterale. Tuttavia è ancora presto, sulla base di questi dati, per poter dare delle raccomandazioni certe da seguire nella pratica clinica.

Aparicio²⁹ ha recentemente proposto un modello basato sulla presenza di alcuni fattori di rischio: due cicli con carboplatino AUC7 nei pazienti ad alto rischio (dimensioni del tumore > 4 cm e/o invasione della rete testis) o sorveglianza in assenza di fattori prognostici negativi. Con un follow-up mediano di 36 mesi, il tasso di recidiva totale era del 3% e 6% rispettivamente nei pazienti trattati e sottoposti a sorveglianza. Il tasso stimato di sopravvivenza a 5 anni è del 100%. Tuttavia, gli autori hanno riportato un 9% di recidive tra quei pazienti con invasione della rete testis ed un 6% tra quelli invece con entrambi i fattori di rischio.

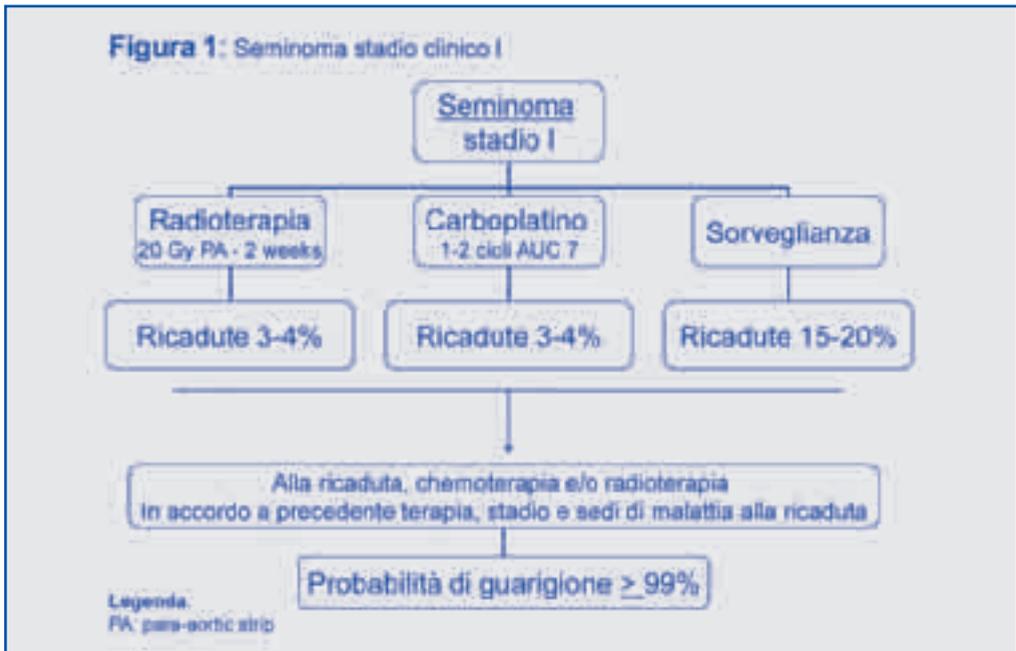
Tradizionalmente, la radioterapia (RT su PA 20 Gy/10 fr) rappresenta il trattamento di scelta. Il volume da irradiare deve essere esteso ai linfonodi iliaci omolaterali (DL) in tutti quei pazienti con tumore del testicolo destro e in quelli in cui è possibile vi sia un'alterazione del drenaggio linfatico. La sorveglianza e la chemioterapia sono scelte alternative nei pazienti che non possono essere sottoposti alla radioterapia (ad esempio per pregressa radioterapia, rene a ferro di cavallo, malattia infiammatoria cronica intestinale).

Nei pazienti a basso rischio, che possono essere disposti a seguire un programma di follow-up adeguato, può essere proposta la sorveglianza.

La chemioterapia, con carboplatino AUC7 (uno o due cicli), potrebbe essere considerata in quei pazienti con fattori di rischio, ma la tossicità ed i risultati dello studio MRC/EORTC necessitano di conferma dei dati a lungo termine.

E' inoltre importante che l'anatomopatologo dia informazioni riguardanti le dimensioni del tumore (> 4cm) e/o sulla presenza di invasione della rete testis. Questa informazione permette infatti di eseguire un trattamento specifico sulla base della presenza di fattori di rischio per i pazienti affetti da seminoma in stadio I. Per di più il significato prognostico dell'invasione vascolare nel seminoma puro non è ancora stato definito.

Nella scelta terapeutica, i vantaggi e svantaggi dei tre approcci terapeutici (sorveglianza, radioterapia e chemioterapia) devono essere discussi con ogni paziente, considerando l'accessibilità al centro per il trattamento, la possibilità di avere un'adeguata strategia di follow-up senza peraltro dimenticare gli aspetti psicologici correlati (Figura 1).



SEMINOMA STADIO IIA/B

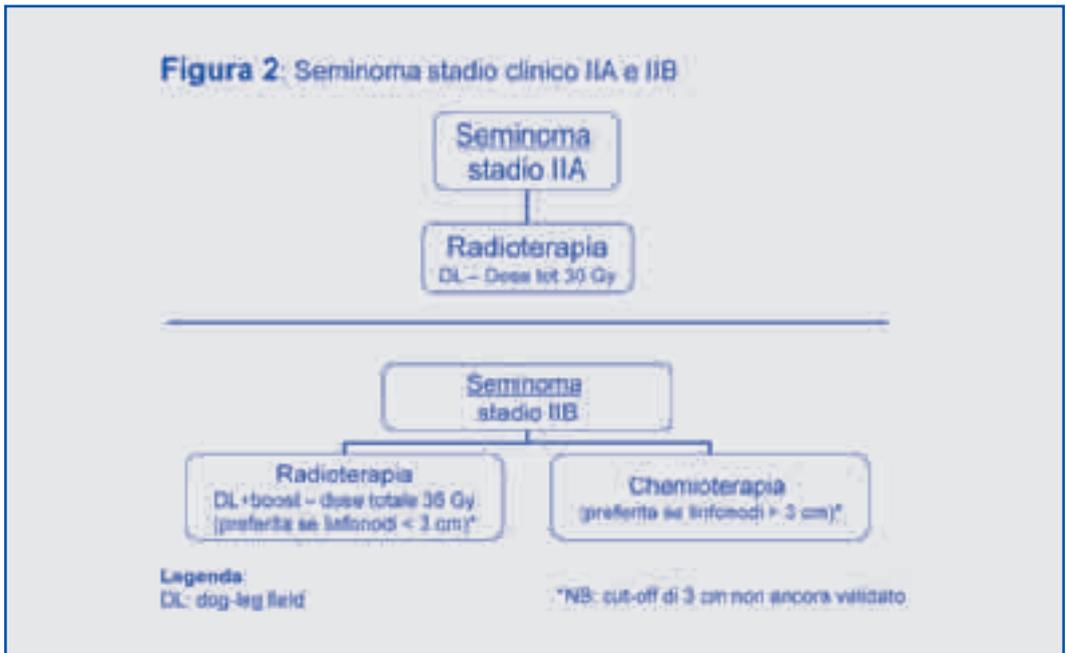
Stadio IIA

Il trattamento standard del seminoma in stadio IIA è la radioterapia: 30 Gy sulle stazioni linfonodali para-aortiche ed iliache omolaterali (DL). Questa tecnica porta ad una sopravvivenza libera da malattia a 6 anni pari al 95%, mentre la sopravvivenza globale è vicino al 100%³⁸.

Stadio IIB

La radioterapia (30 Gy campo DL con boost fino a 36-38 Gy) in questo stadio determina un tasso libero da malattia a 6 anni del 89%³⁹. Una valida alternativa è rappresentata da 3 cicli di cisplatino, etoposide e bleomicina (PEB) o 4 cicli di cisplatino ed etoposide (PE), soprattutto nei pazienti con pacchetti adenopatici o linfonodi localizzati in vicinanza del rene, sebbene la tossicità acuta possa essere peggiore che con la sola radioterapia⁴⁰. Uno studio retrospettivo condotto su 59 pazienti ha evidenziato un tasso di recidiva significativo dopo radioterapia, soprattutto nei pazienti con tumore di dimensioni > 3 cm. Questo dato necessita tuttavia di studi di conferma in studi clinici prospettici⁴¹. Nella figura 2 si può vedere un diagramma di flusso che riassume le opzioni terapeutiche nei pazienti con seminoma in stadio IIA/B.

Figura 2: Seminoma stadio clinico IIA e IIB

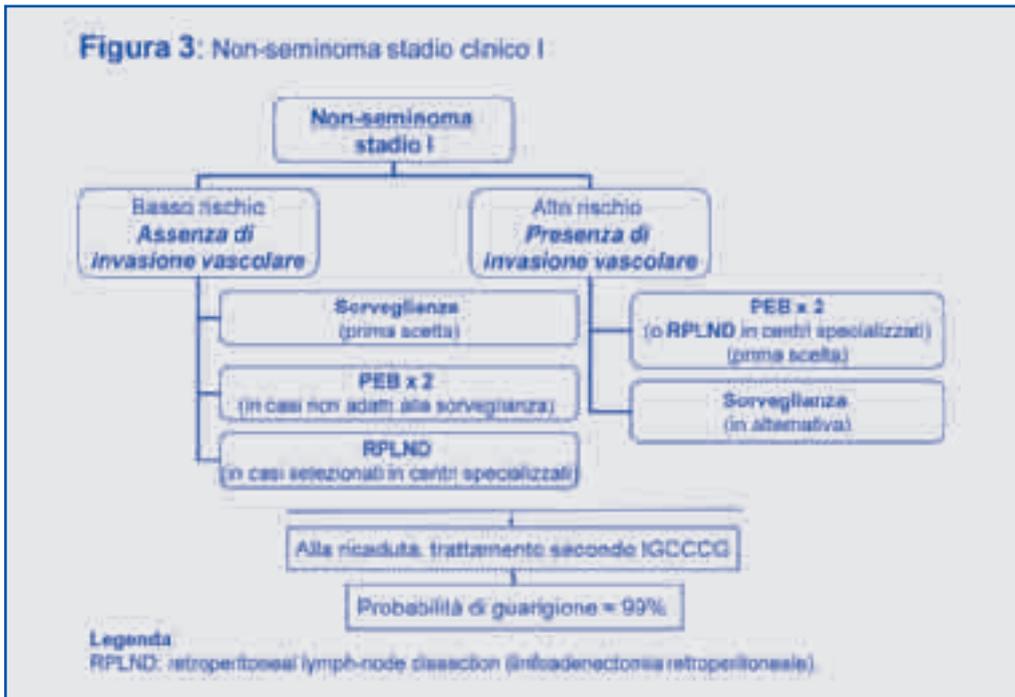


NON-SEMINOMA STADIO I

La prognosi dei pazienti con non-seminoma stadio I è eccellente, con una sopravvivenza globale di circa il 99%. In questi casi, la tollerabilità e gli effetti collaterali delle terapie e non i risultati clinici sono il principale argomento di interesse. L'identificazione di fattori prognostici ha permesso di sviluppare trattamenti selettivi in accordo con le classi di rischio: la chirurgia e la chemioterapia sono prese in considerazione nei pazienti ad alto rischio di sviluppare metastasi, mentre la sorveglianza è la principale scelta nei pazienti a basso rischio. Fino al 30% dei pazienti in stadio clinico I hanno metastasi sub-cliniche. Circa i due terzi di queste sono nel retroperitoneo. Nelle serie di pazienti trattati sia con chirurgia sia con terapia medica sono stati identificati fattori di rischio per le metastasi occulte. Il principale fattore predittivo di ricaduta nel non-seminoma stadio clinico I è la presenza di invasione vascolare (sia linfatica che venosa) di cellule tumorali nel tumore primitivo o nelle adiacenze. Altri fattori identificati sono: la percentuale o il volume di carcinoma embrionario nel tumore primitivo, l'elevata espressione di Ki-67 misurata con MIB-1 e, con minor evidenza, la presenza di tumore del sacco vitellino^{4,42}.

I referti patologici dovrebbero indicare la presenza della invasione vascolare, la percentuale dei vari tipi istologici e l'estensione della malattia. Queste informazioni possono permettere un trattamento adattato sul rischio, che è il trattamento di prima scelta per questa categoria di pazienti. La stratificazione più semplice del rischio si basa sulla invasione vascolare (figura 3).

Figura 3: Non-seminoma stadio clinico I



Stadio clinico I a basso rischio (assenza di invasione vascolare)

La sorveglianza può essere adottata come prima scelta. Con questo approccio, il 78-86% dei pazienti non necessita di ulteriore trattamento dopo l'orchietomia⁴³. Se un paziente in sorveglianza ricade, la chemioterapia ha un tasso di cura che tende al 100%. In circostanze non compatibili con la sorveglianza, sono suggeriti 2 cicli di chemioterapia PEB, mentre la linfadenectomia retroperitoneale (RPLND) è una alternativa di scelta in centri con elevata esperienza (figura 3). La percentuale di metastasi attesa è del 20%. Questo implica che il 78-86% dei pazienti in stadio clinico I a basso rischio può subire un trattamento non necessario. Nel caso della chirurgia, le metastasi attese sono meno del 15%, e un ulteriore 5% può ricadere fuori dall'addome durante il follow up^{4,43-46}. Pertanto i principali vantaggi della chirurgia sono, se gli effetti collaterali sono limitati, la stadiazione patologica del retroperitoneo e un follow up più semplificato, poiché le sedi più frequenti di ricaduta sono il parenchima polmonare e i linfonodi sovraclaveari con una frequente elevazione dei marcatori tumorali.

Stadio clinico I ad alto rischio (presenza di invasione vascolare)

La chemioterapia adiuvante con 2 cicli di trattamento standard basata sul cisplatino o la RPLND sono le possibili strategie considerate, mentre la sorveglianza rappresenta solo una alternativa (figura 3) Nel caso della chemioterapia, è atteso un 2-3% di ricadute. Il salvataggio dei pazienti ricaduti è difficile^{47,48}. Nel caso della chirurgia, le metastasi linfonodali sono attese nel 35% dei casi e un ulteriore 15% può ricadere fuori dall'addome al follow-up^{4,43,46}. Il trattamento delle metastasi linfonodali accertate con la chirurgia è discusso in seguito. L'80% delle ricadute avviene nei primi 12 mesi di follow-up, il 12% durante il secondo anno e un 6% durante il 3 anno, scendendo al 1% durante il 4 e 5 anno, occasionalmente anche più tardive⁴⁹. Circa il 35% dei pazienti ricaduti ha valori dei marcatori tumorali nella norma.

Se la RPLND è eseguita senza la stratificazione del rischio, circa il 20% dei pazienti presenta metastasi linfonodali retroperitoneali. Se non si trovano metastasi retroperitoneali alla RPLND, circa il 10% di questi pazienti avrà una ricaduta a distanza.

Tossicità del trattamento per lo stadio clinico I

Sorveglianza. I pazienti devono essere sottoposti ad un follow-up stretto e questo potrebbe indurre problemi psicologici in alcuni di loro, con il rischio che non siano seguite scrupolosamente le visite di controllo. Alla ricaduta, i pazienti devono sottoporsi necessariamente a più terapie, eventualmente a più chirurgie, di quanto avrebbero richiesto se fossero stati sottoposti a trattamento immediato dopo orchietomia. Tuttavia questa scelta evita un trattamento non necessario ai pazienti non portatori di metastasi^{44,45,49}. I pazienti che dovranno essere sottoposti a chirurgia retroperitoneale post-chemioterapia correranno un rischio maggiore di perdere l'eiaculazione di quelli trattati con RPLND primaria. Questo può comportare che la percentuale di pazienti che perderanno l'eiaculazione potrebbe essere maggiore nelle serie di pazienti sottoposti a sorveglianza rispetto alla chirurgia⁵⁰. Gli effetti a lungo termine della chemioterapia sono discussi successivamente.

RPLND. La percentuale di morbidità a seguito di chirurgia del retroperitoneo è bassa, ma non assente. La mortalità è occasionale e comunque molto inferiore alla chirurgia generale addominale. La necessità di re-interventi per qualsiasi causa di complicanza acuta chirurgica è inferiore al 1% in centri specializzati con elevata esperienza. La perdita dell'eiaculazione anterograda in corso di chirurgia nerve sparing avviene nel 1-2%. La necessità di un follow-up rimane, ma i programmi sono più semplici, anche se i pazienti con ripresa di malattia necessiteranno di più cicli di chemioterapia rispetto ad un setting adiuvante (3 invece di 2). Tuttavia la chemioterapia non necessaria è evitata nella maggior parte dei casi.

Chemioterapia adiuvante. Circa il 50% dei pazienti ad alto rischio riceve una terapia non necessaria. Sebbene solitamente ben tollerata, una tossicità severa è stata riportata già dopo 1 o 2 cicli di chemioterapia⁴⁸. La tossicità a lungo termine, che include l'incidenza di malattie cardiovascolari, di sindromi metaboliche, di sindromi da deficit gonadico e di seconde neoplasie, è attualmente materia di interesse⁵². La percentuale di ricaduta dopo chemioterapia adiuvante è molto bassa. Le ricadute includono le malattie chemio-resistenti e sono difficili da recuperare. Le ricadute tardive di teratoma, che tende a crescere di volume, richiedono comunque una chirurgia radicale e un follow-up lungo.

NON-SEMINOMA STADIO CLINICO I CON MARKER POSITIVI

Questi pazienti hanno malattia metastatica, spesso disseminata e sono trattati con chemioterapia a pieno dosaggio in accordo con la propria categoria di rischio⁵³. La RPLND rappresenta una seconda possibilità per quei pazienti che non desiderano ricevere chemioterapia. L'esplorazione chirurgica del retroperitoneo garantisce una più accurata stadiazione, in quanto con la RPLND è stato riscontrato che più dell'85% di questi pazienti avevano metastasi retroperitoneali⁵⁴. I pazienti con malattia esclusivamente retroperitoneale e conseguente normale dimezzamento dei marcatori tumorali potrebbero evitare la chemioterapia (entrando in sorveglianza) o ricevere chemioterapia adiuvante con soli due cicli.

NON-SEMINOMA STADIO CLINICO IIA/B

In circa il 98% di questi pazienti è attesa la guarigione.

NON-SEMINOMA STADIO IIA CON MARCATORI NEGATIVI

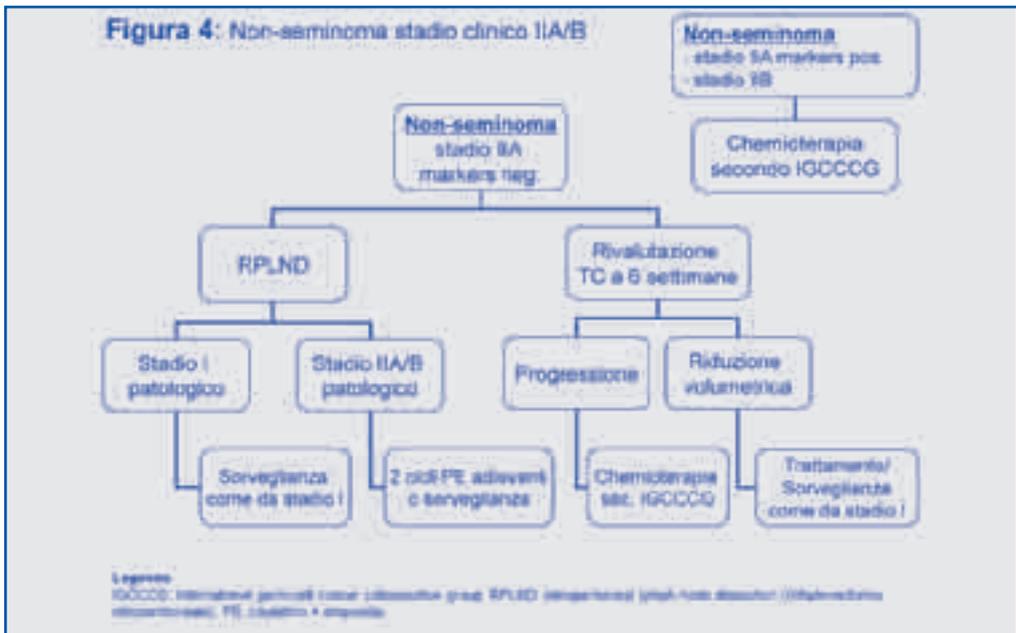
La condizione clinica del paziente con non-seminoma stadio IIA con marcatori negativi è definita come l'evidenza radiologica di malattia retroperitoneale con diametro trasverso massimo <2 cm. I marcatori tumorali devono essere normali o in regolare normalizzazione secondo gli attesi tempi di dimezzamento.

Due opzioni principali devono essere prese in considerazione (figura 4):

RPLND. Dal 10 a più del 40% di questi pazienti vi è riscontro di linfonodi negativi alla chirurgia^{4,55}. Questo gruppo può così evitare ulteriori inutili terapie mantenendo il rischio di ricaduta dei pazienti allo stadio I patologico a circa il 10%. Di seguito viene discussa la condotta nel caso di metastasi retroperitoneali accertate chirurgicamente. La RPLND laparoscopica è una procedura prevalentemente riconosciuta per la stadiazione e qualora si verificasse la presenza di linfonodi positivi, è in genere suggerita la somministrazione di due cicli di chemioterapia adiuvante⁵⁵.

Rivalutazione a breve termine. Poiché può non essere possibile individuare il paziente realmente metastatico, è stato raccomandato un periodo di 6 settimane di attesa prima di ripetere la stadiazione con TC e dosaggio dei marcatori. In caso di incremento volumetrico dei linfonodi o positivizzazione dei marcatori viene intrapresa una terapia sistemica, mentre in caso di decremento o stazionarietà con marcatori normali i pazienti possono essere assimilati a quelli della categoria del I stadio clinico⁴.

Infine, alcuni autori propongono la biopsia con ago sottile e chemioterapia (3 cicli di PEB seguiti dalla chirurgia in caso di massa residua) in presenza di tumore attivo. Questa procedura è tecnicamente difficile e può associarsi a falsi negativi. Pertanto questa non può essere una prima scelta secondo il consenso in questo documento. La RPLND laparoscopica può essere eseguita in centri con elevata esperienza, tenendo conto delle raccomandazioni già menzionate⁵⁶.



Non-seminoma stadio clinico IIA marcatori positivi e stadio clinico IIB

La condizione clinica di non seminoma stadio IIA con marcatori positivi è definita dall'evidenza radiologica di malattia retroperitoneale con diametro trasverso massimo inferiore a 2 cm e valori dei marcatori tumorali persistentemente elevati dopo orchietomia. La condizione clinica di non seminoma stadio IIB è definita dall'evidenza radiologica di malattia retroperitoneale con diametro trasverso compreso tra 2 e 5 cm. Entrambi gli stadi sono associati a malattia metastatica^{4,43}.

Questi pazienti dopo orchietomia sono candidati a 3 o 4 cicli di PEB a seconda della classificazione IGCCCG17. A 3-4 settimane dal termine della chemioterapia viene eseguita una ri-stadiazione completa. Dovrebbe venire eseguita la determinazione dei valori dei marcatori AFP, beta HCG e LDH insieme a TC torace e addome. Le immagini TC devono essere visionate e discusse insieme da radiologi e clinici (oncologi medici e chirurghi) e paragonate alle immagini antecedenti il trattamento al fine di stabilire con correttezza quale sia stata la risposta al trattamento. I marcatori tumorali dovrebbero normalizzarsi dopo la chemioterapia. In quei rari pazienti con valori elevati di marcatori viene somministrata chemioterapia di salvataggio, mentre i pazienti con marcatori con valori borderline vengono tenuti sotto sorveglianza. Una remissione clinica completa è considerata nei casi di non evidenza di malattia misurabile e marcatori negativi. In questo caso il paziente è candidato alla sola osservazione. In caso di massa residua e marcatori normalizzati è obbligatoria l'asportazione chirurgica con RPLND.

Non-seminoma stadio II patologico

Dopo la chirurgia del retroperitoneo ci si aspetta una negativizzazione dei marcatori tumorali. Negli stadi I marcatori positivi, dopo la RPLND, i marcatori sono attesi normalizzati secondo i tempi di dimezzamento. Se questo non avviene, è segno di persistenza di malattia metastasica e questi pazienti necessitano quindi di una terapia sistemica seguendo la classificazione IGCCCG. Attualmente, attendersi una malattia retroperitoneale importante alla RPLND primaria nei casi non seminoma a basso stadio è un'evenienza rara. In questi casi (pN3 o malattia patologica IIC), la chemioterapia adiuvante alla RPLND dovrebbe essere programmata.

Nei casi con piccole metastasi linfonodali (stadio patologico IIA/B) sono possibili due opzioni:

Sola osservazione. Circa il 70% di questi pazienti sono curati con la sola chirurgia. I pazienti che ricadono sono trattati con la chemioterapia sistemica. Questa strategia è possibile in pazienti adeguatamente informati e che accettano un piano di follow-up stretto per monitorare il rischio di ricaduta. Scegliendo questa strategia si può risparmiare ai pazienti un trattamento non necessario e potenzialmente tossico^{4,17,43,58}.

Chemioterapia adiuvante. Due cicli di chemioterapia standard a base di cisplatino-etoposide rappresentano il trattamento di scelta. I pazienti, poco idonei ad un programma di follow up, sono candidati al trattamento adiuvante. Questa strategia evita i controlli serrati e la necessità di più chemioterapia per il 30% dei pazienti per i quali è attesa la ricaduta (figura 4)^{4,17,43,57,59,60}.

MALATTIA AVANZATA

Tutti i pazienti con malattia metastatica con stadio TNM possono essere classificati in base ai criteri della classificazione internazionale IGCCCG, basata sui fattori prognostici per il tumore del

testicolo metastatico (Tabella 1), e suddivisi in tre categorie IGCCCG a prognosi "buona", "intermedia" o "sfavorevole"¹⁷.

Tabella 1: Classificazione prognostica internazionale delle neoplasie geminali del testicolo metastatiche (IGCCCG 1997)

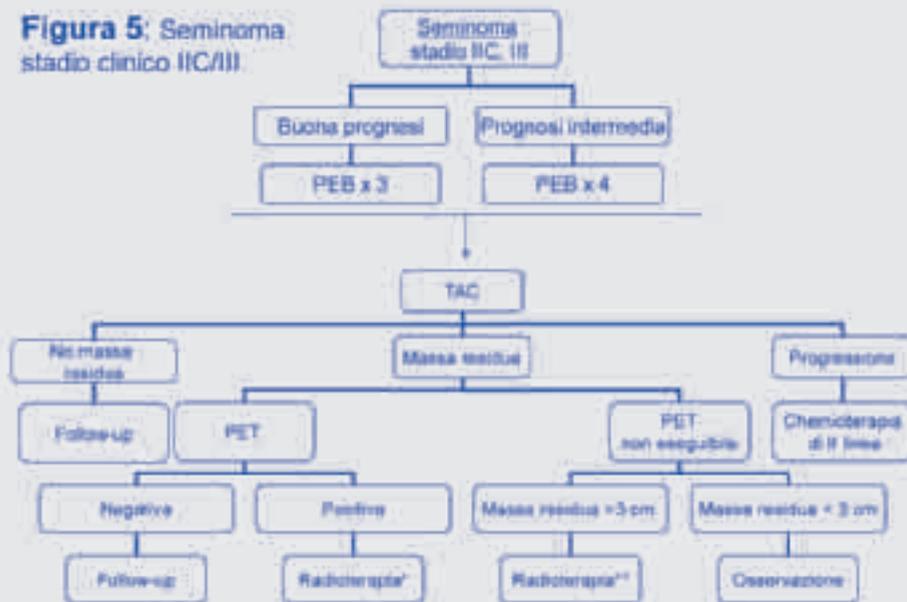
Buona Prognosi	
Non-seminoma Cisti (tubi testicolari) primitiva testicolare o retroperitoneale. "testi vuoti" in rapporto a assenza di metastasi visibili extragonadiche (es. fegato, midollo renale, renale, osso, intestino ecc.).	Recidivanza dopo la rivascolazione a 5 anni: 80% Sopravvivenza globale a 5 anni: 80% "Buoni valori" dei markers: AFP < 1000 ng/ml, β-HCG < 1000 ng/ml > 5000 U/L1) e LDH < 1.2 volte il limite superiore della norma.
Seminoma Cisti (tubi testicolari) primitiva testicolare, AFP normale, assenza valore di β- HCG e LDH e assenza di metastasi visibili extragonadiche.	Recidivanza dopo la rivascolazione a 5 anni: 80% Sopravvivenza globale a 5 anni: 80%.
Prognosi Intermedia	
Non-seminoma Cisti (tubi testicolari) primitiva testicolare o retroperitoneale. "testi vuoti" in rapporto a assenza di metastasi visibili extragonadiche.	Recidivanza dopo la rivascolazione a 5 anni: 70% Sopravvivenza globale a 5 anni: 50% "Valori intermedi" dei markers: AFP 5000-10000 ng/ml, β-HCG 1000- 10000 ng/ml (5000-50000 U/L1) e LDH 1.5-10) volte il limite superiore della norma.
Seminoma Cisti (tubi testicolari) primitiva testicolare, presenza valore di β-HCG e/o AFP normale, assenza valore di β-HCG, assenza valore di LDH.	Recidivanza dopo la rivascolazione a 5 anni: 50% Sopravvivenza globale a 5 anni: 70%.
Cattiva Prognosi	
Non-seminoma Cisti (tubi testicolari) primitiva testicolare, presenza valore di β-HCG e/o AFP elevato, presenza valore di β-HCG, presenza valore di LDH.	Recidivanza dopo la rivascolazione a 5 anni: 40% Sopravvivenza globale a 5 anni: 40% "Valori sfavorevoli" dei markers: AFP > 10000 ng/ml o β-HCG > 10000 ng/ml (> 50000 U/L1) o LDH > 10 volte il limite superiore della norma.
Seminoma Nessun valore visibile a cattiva prognosi.	

Leggenda
IGCCCG, International Germ Cell Cancer Collaborative Group
AFP, alfa-fetoproteina; β-HCG, beta-choriongonadotropina umana;
LDH, lattato-deidrogenasi.

¹ Regole sono 40 la sopravvivenza a 5 anni dei pazienti a cattiva prognosi di
proliferazione sessuale e Q1-Q99.¹⁷

Nei pazienti con seminoma stadio IIC, la chemioterapia di prima linea rappresenta il trattamento di scelta a causa dell'elevato rischio di ricaduta di circa il 20-30% dopo radioterapia soltanto e elevato rischio di effetti collaterali dopo tale trattamento^{61,62}. La terapia standard dei pazienti con seminoma avanzato consiste in tre o quattro cicli di PEB nei pazienti con prognosi "buona" o "intermedia" (criteri IGCCCG), rispettivamente (Figura 5).

Figura 5: Seminoma stadio clinico II/III



*Chemioterapia di II linea: carboplatino 1000 mg/m² + etoposide 100 mg/m² + ifosfamide 1200 mg/m² + cisplatino 50 mg/m².
 **Chemioterapia di II linea: carboplatino 1000 mg/m² + etoposide 100 mg/m² + ifosfamide 1200 mg/m² + cisplatino 50 mg/m².

Anche il trattamento di prima linea di scelta dei nonseminomi metastatici è tre o quattro cicli di PEB a seconda della classificazione IGCCCG (Tabella 1). Per i pazienti con una “buona prognosi” in base alla classificazione IGCCCG, il trattamento standard consiste in tre cicli di PEB o, nei casi in cui la bleomicina è controindicata, quattro cicli di PE. Per i pazienti con prognosi “intermedia” o “sfavorevole”, il trattamento standard consiste in quattro cicli di PEB. Quattro cicli di PEI (cisplatino, etoposide, ifosfamida) presentano la medesima efficacia ma sono più tossici e sono seguiti da sterilità definitiva; questi possono comunque essere presi in considerazione quando la bleomicina è controindicata in pazienti a prognosi intermedia o sfavorevole sterili o in coloro che hanno effettuato la criopreservazione del seme. Quando si somministrano 4 PEB, le ultime due dosi di bleomicina solitamente vengono omesse (si arriva fino a 10 dosi totali di bleomicina) in caso di presenza di masse polmonari che richiedono chirurgia, allo scopo di ridurre il rischio di complicazioni post-chirurgiche respiratorie. Il PEB somministrato in 5 giorni rimane il trattamento standard quando si somministrano quattro cicli, mentre in caso di tre cicli, il PEB in 3 giorni (cisplatino 50 mg/m² giorni 1-2, etoposide 165 mg/m² giorni 1-3, e bleomicina giorni 2, 9, 16, rappresenta un'alternativa^{63,64}. Il numero di cicli di chemioterapia viene sempre stabilito prima dell'inizio della stessa in base al classificazione prognostica, e non durante il trattamento (esclusi aggiustamenti di dose per tossicità). In ogni caso, più di 4 cicli di PEB non sono mai giustificati. Non esistono raccomandazioni generali per eventuali modificazioni del trattamento in casi con condizioni generali scadute (Performance status Karnofsky <50%), o con estesa infiltrazione del fegato e/o dei polmoni. Poiché è necessario evitare ritardi superiori ai 3-4 giorni nel trattamento e riduzioni di dose a causa di neutropenia, la somministrazione di G-CSF a scopo profilattico dovrebbe essere considerata per mantenere la corretta intensità di dose⁶⁵.

Malattia residua

Nei pazienti con seminoma avanzato, la PET rappresenta un valido strumento per individuare

cellule tumorali vitali in una massa residua^{66,67}. Comunque, nonostante una PET negativa indichi una bassa probabilità di malattia attiva persistente dopo chemioterapia, una PET positiva non vuol dire necessariamente che vi sia una equivalente elevata probabilità di persistenza di seminoma⁶⁸. La Figura 4 mostra una flow-chart del trattamento per seminoma avanzato che considera anche l'eventuale impiego della PET, se disponibile. Comunque, una PET positiva potrebbe avere dei limiti e la gestione di questi pazienti non si dovrebbe basare solo su tale risultato.

Nei casi di GCT non-seminomatoso con massa residua e marcatori normalizzati, è necessaria la resezione chirurgica^{69,70}. La FDG-PET non è un esame attendibile in questi casi.

Dopo la resezione di necrosi e teratoma, non sono necessari ulteriori trattamenti. Nei casi di resezione completa di carcinoma attivo, 2 cicli di chemioterapia adiuvante a base di cisplatino possono essere considerati nel sottogruppo a cattiva prognosi come descritto da Fizazi et al^{71,72} in uno studio che è stato recentemente validato. Una attenta valutazione cardiologica ed anestesologica è necessaria nei pazienti che richiedono una chirurgia del torace. In questi casi la percentuale di ossigeno durante l'anestesia non dovrebbe superare il 25%.

MALATTIA RICADUTA/REFRATTARIA

Circa il 30-40% dei pazienti con tumore germinale metastatico, che corrisponde a circa il 5-10% di tutti i pazienti con tumore germinale va incontro a una ricaduta o progressione di malattia dopo chemioterapia di prima linea⁷³.

Una chemioterapia di salvataggio basata sul cisplatino produce remissioni a lungo termine fino al 50% dei pazienti con seminoma e che ricadono dopo chemioterapia di prima linea⁴⁸, e il 20-50% dei pazienti con non-seminoma, a seconda della presenza o meno di determinati fattori di rischio⁷³. Fattori di rischio favorevoli sono considerati: una remissione completa alla chemioterapia di prima linea, ridotto volume tumorale e/o bassi livelli dei marker tumorali, primitivo del testicolo e assenza di siti metastatici viscerali non-polmonari, mentre fattori sfavorevoli sono una risposta incompleta, elevato volume tumorale e/o elevati livelli di marker tumorali, primitivo mediastinico, presenza di siti metastatici viscerali non-polmonari e ricadute tardive^{67,74,75}. Non esiste attualmente un consenso circa la stratificazione del rischio per i pazienti ricaduti o refrattari alla chemioterapia di prima linea. Questo ha contribuito alla eterogeneità dei risultati delle diverse esperienze. Tra le più importanti classificazioni disponibili per questi pazienti, quella di Fossa e colleghi individua indicatori predittivi di risposta alla chemioterapia di salvataggio con sopravvivenza libera da progressione < 2 anni, mancata remissione completa alla chemioterapia di prima linea e marcatori elevati alla ricaduta (AFP >100 ng/mL or HCG >100 IU). Pazienti con tutti e tre questi fattori formano un gruppo a prognosi particolarmente sfavorevole, con nessuno dei pazienti sopravvissuto a 3 anni dalla ricaduta⁷⁶. Un progetto internazionale stabilirà un database di pazienti con GCT ricaduti dopo chemioterapia di prima linea basata sul cisplatino per consentire l'identificazione di fattori prognostici per i trattamenti di salvataggio nei pazienti alla prima ricaduta. Tale database dovrebbe includere tanti casi quanti disponibili dai maggiori centri specializzati negli Stati Uniti e in Europa allo scopo di definire uno score prognostico internazionale validato per i fattori prognostici per il trattamento di salvataggio dei GCT alla prima ricaduta.

I regimi standard per la malattia ricaduta sono: quattro cicli di PEI/VIP (cisplatino, etoposide, ifosfamide), quattro cicli di VeIP (vinblastina, ifosfamide, cisplatino), o quattro cicli di TIP (paclitaxel, ifosfamide, cisplatino). La chemioterapia ad alte dosi (HDCT) è stata largamen-

te investigata nei GCT^{77,78}. Dopo la prima ricaduta, i risultati della HDCT rimangono controversi, cosicché la HDCT non è raccomandata al di fuori di studi clinici in seconda linea⁷⁹⁻⁸¹

In terza o successive linee di trattamento e in pazienti con GCT cisplatino-refrattario non è possibile fornire una raccomandazione di grado elevato, due cicli di alte dosi di carboplatino ed etoposide (tandem HDCT) rappresentano una possibile opzione, capace di indurre remissioni a lungo termine ottenute nel 45% di questi pazienti, escludendo pazienti con non-seminoma primitivo del mediastino e pazienti con malattia in progressione durante l'ultimo trattamento basato sul cisplatino (refrattarietà assoluta al cisplatino)^{80,82}, mentre una singola corsa di HDCT dopo 3-4 cicli di un regime a dosi convenzionali non ha mostrato attività significativa in questi pazienti^{83,84}. Nei tumori primitivi extragonadici, la HDCT ha mostrato efficacia nei tumori primitivi del retroperitoneo ma non nei non-seminomi primitivi del mediastino^{85,86}.

Nei pazienti non candidabili ad un trattamento intensificato è possibile ricorrere a schemi di trattamento con la combinazione di 2-3 farmaci che includono farmaci nuovi quali la gemcitabina, i taxani e l'oxaliplatino, ma possono prevedere anche il reimpiego del cisplatino⁸⁷. La prognosi dei pazienti con GCT con refrattarietà assoluta al cisplatino è particolarmente severa e i regimi chemioterapici basati sul cisplatino inducono remissioni complete e durature in meno del 5% dei casi. In questi pazienti, gli studi clinici hanno testato i nuovi agenti chemioterapici precedentemente citati⁸⁸. Per pazienti con buone performance status e adeguata riserva midollare, regimi di combinazione con due o tre di questi farmaci (esempio gemcitabina e oxaliplatino) dovrebbero essere suggeriti poiché almeno una piccola parte di questi pazienti (5-15%) può ottenere ancora remissioni durature⁸⁸⁻⁹¹. Lesioni tumorali residue dopo la chemioterapia di salvataggio dovrebbero sempre essere resecate entro 4-6 settimane dopo la normalizzazione dei marker o al momento dell'ottenimento del plateau dei marcatori. In caso di progressione dei marcatori dopo trattamento di salvataggio e mancanza di ulteriori valide opzioni chemioterapiche, la resezione chirurgica delle masse tumorali dovrebbe essere considerata se una resezione completa di tutte le lesioni è considerata fattibile (si può ottenere fino a circa il 25% di sopravvivenze a lungo termine)⁹².

FOLLOW-UP

Non sono disponibili linee guida circa l'ottimale strategia di follow-up per pazienti con GCT. La durata e intensità dei programmi di follow-up dovrebbe dipendere da istologia del tumore primitivo, gruppo prognostico e siti di malattia, terapie somministrate e rischio di ricaduta/progressione⁹³. A seconda di tali fattori, i clinici dovrebbe considerare i seguenti aspetti:

- le ricadute da seminoma sono meno frequenti di quelle da non-seminoma, ma tendono a rendersi evidenti in un periodo più lungo di follow-up dal termine del trattamento;
- in caso di malattia avanzata a prognosi intermedia o sfavorevole, è ragionevole considerare una sorveglianza intensiva allo scopo di individuare per tempo eventuali ricadute;
- quasi tutti i casi di ricaduta avvengono nei primi due anni di follow-up, ma possono occorrere anche successivamente, per cui, la sorveglianza dovrebbe essere intensiva nei primi due anni, ma il follow-up dovrebbe poi essere proseguito annualmente anche superati i cinque anni di follow-up³; dopo linfadenectomia retroperitoneale, le ricadute addominali e tardive sono rare e il torace rappresenta la principale sede di ricaduta; se la linfadenectomia retroperitoneale viene effettuata senza ulteriori trattamenti, quasi tutte le ricadute avvengono nei primi due anni, mentre le ricadute tardive avvengono molto raramente; la TC del torace ha un valore predittivo superiore alla radiografia del torace un tumore testicolare controlaterale è atteso in non oltre 1.5%

dei pazienti nel nostro paese, ciononostante tale rischio dovrebbe essere monitorato in tutti i pazienti anche dopo 5 anni di follow-up, specie nei pazienti con testicolo superstite ipoplasico; gli effetti collaterali a lungo termine delle terapie hanno ricevuto grande attenzione negli ultimi anni (secondi tumori, malattie cardiovascolari e renali, disturbi uditivi, sindrome metabolica e disfunzioni gonadiche)⁹⁴⁻⁹⁶; il monitoraggio e la prevenzione di queste specifiche complicanze a lungo termine dovrebbe essere parte della gestione del follow-up di questi pazienti.

Per definire gli standard dei programmi di follow-up per i pazienti con GCT, è fondamentale il ruolo delle istituzioni di riferimento per questi pazienti e dei gruppi cooperativi. IGG ha recentemente stabilito un Working Group per definire un consenso sulla strategia di follow-up di questi pazienti.

ADDENDUM

TUMORI NON GERMINALI

I tumori non germinali costituiscono circa il 5% di tutte le neoplasie testicolari e comprendono una grande varietà di quadri neoplastici, in relazione al tessuto di origine. Il tumore a cellule di Leydig, spesso produce ormoni della sfera sessuale e può essere responsabile di fenomeni di pseudopubertà precoce nell'infanzia e di ginecomastia nell'adulto; meno del 10% metastatizza, ma di solito è impossibile distinguere su base istologica le forme benigne da quelle maligne.

Le *altre neoplasie dello stroma gonadico* sono rappresentate dai tumori delle cellule di Sertoli, della granulosa e della teca, variamente combinati fra di loro; essi producono ormoni steroidei che possono causare femminilizzazione con atrofia degli organi genitali maschili e, nel 10% dei casi, assumono un decorso clinico maligno, con metastatizzazione a distanza.

I tumori non epiteliali osservabili con maggior frequenza a livello testicolare sono i linfomi maligni che possono essere primitivi - in questo caso si tratta, di regola, di linfomi non Hodgkin - oppure espressione di localizzazioni secondarie della malattia sistemica. Spesso bilaterali, presentano un quadro istopatologico che può creare confusioni con il seminoma e il carcinoma embrionale, per cui la diagnosi corretta può essere raggiunta solo attraverso un esame istologico accurato.

Diagnosi e trattamento

I tumori non germinali si manifestano con una tumefazione intratesticolare apprezzabile molto spesso solo con l'ecografia. La diagnosi è intraoperatoria e non sempre è necessario eseguire una orchifunicolectomia radicale. La organ-sparing surgery è stata di recente proposta nella terapia delle neoformazioni del testicolo, tuttavia ancora non esiste un consenso sulle sue indicazioni.

Pertanto, è indicata una stadiazione completa anche per i tumori di natura incerta fra benigna e maligna: ecografia testicolare bilaterale, AFP e b-HCG e profilo ormonale: LH, FSH, 17-betaestradiolo e testosterone plasmatico; utile anche può risultare lo spermioγραμμα per valutare lo stato di fertilità del paziente.

Per quanto riguarda i linfomi, dopo l'orchietomia e gli esami di stadiazione, il trattamento sarà quello impiegato nelle forme extralinfonodali. Negli altri casi, la linfadenectomia retroperitoneale rappresenta l'opzione terapeutica principale, da adottare sicuramente nelle forme con istologia maligna o in presenza di adenopatie sospette, mentre la sua utilità pro-

filattica nei casi a basso potenziale di malignità con staging clinico negativo è tuttora oggetto di discussione.

Bibliografia essenziale

- Colecchia M, Nistal M, Gonzalez-Peramato P, Carmignani L, Salvioni R, Nicolai N, Regadera J. Leydig cell tumor and hyperplasia: a review. *Annal Quant Cytol Histol*, 29: 139-147, 2007.
- Carmignani L, Colombo R, Gadda F, Galasso G, Lania A, Palou J, Algaba F, Villavicencio H, Colpi GM, Decobelli O, Salvioni R, Pizzocaro G, Rigatti P, Rocco F. Conservative surgical therapy for leydig cell tumor. *J Urol*, 178: 507-511, 2007.
- Di Tonno F, Tavolini IM, Belmonte P, Bertoldin R, Cossaro E, Curti P, D'Inca G, Fandella A, Guaitoli P, Guazzieri S, Mazzariol C. Lessons from 52 patients with leydig cell tumor of the testis: the GUONE (North-Eastern Uro-Oncological Group, Italy) experience. *Urol Int*, 82: 152- 157, 2009.
- Featherstone JM, Fernando HS, Theaker JM, Simmonds PD, Hayes MC, Mead GM. Sex cord stromal testicular tumors: a clinical series--uniformly stage I disease. *J Urol*, 181: 2090-2096, 2009.
- Verma N, Lazarchick J, Gudena V, Turner J, Chaudhary UB. Testicular lymphoma: an update for clinicians. *Am J Med Sci*, 336: 336-341, 2008

Bibliografia

1. Collette L, Sylvester RJ, Stenning SP, Fossa SD, Mead GM, de Wit R, de Mulder PH, Neymark N, Lallemand E, Kaye SB: Impact of the treating institution on survival of patients with "poor-prognosis" metastatic nonseminoma. European Organization for Research and Treatment of Cancer Genitourinary Tract Cancer Collaborative Group and the Medical Research Council Testicular Cancer Working Party. *J Natl Cancer Inst*, 91: 839-846, 1999.
2. van Dijk MR, Steyerberg EW, Habbema JD: Survival of non-seminomatous germ cell cancer patients according to the IGCC classification: An update based on meta-analysis. *Eur J Cancer*, 42: 820-826, 2006.
3. Albers P, Albrecht W, Algaba F, Bokemeyer C, Cohn-Cedermark G, Horwich A, Klepp O, Laguna MP, Pizzocaro G: Guidelines on testicular cancer. *Eur Urol*, 48: 885-894, 2005.
4. Schmoll HJ, Souchon R, Krega S, Albers P, Beyer J, Kollmannsberger C, Fossa SD, Skakkebaek NE, de Wit R, Fizazi K, Droz JP, Pizzocaro G, Daugaard G, de Mulder PHM, Horwich A, Oliver T, Huddart R, Rosti G, Paz Ares L, Pont O, Hartmann JT, Aass N, Algaba F, Bamberg M, Bodrogi I, Bokemeyer C, Classen J, Clemm S, Culine S, de Wit M, Derigs HG, Dieckmann KP, Flasshove M, Garcia del Muro X, Gerl A, Germa-Lluch JR, Hartmann M, Heidenreich A, Hoeltl W, Joffe J, Jones W, Kaiser G, Klepp O, Kliesch S, Kisbenedek L, Koehrmann KU, Kuczyk M, Laguna MP, Leiva O, Loy V, Mason MD, Mead GM, Mueller RP, Nicolai N, Oosterhof GON, Pottke T, Rick O, Schmidberger H, Sedlmayer F, Siegert W, Studer U, Tjulandin S, von der Maase H, Walz P, Weinknecht S, Weissbach L, Winter E, Wittekind C: European consensus on diagnosis and treatment of germ cell cancer: a report of the European Germ Cell Cancer Consensus Group (EGCCCG). *Ann Oncol*, 15: 1377-1399, 2004.
5. Gori S, Porrozzì S, Roila F, Gatta G, De Giorgi U, Marangolo M: Germ cell tumours of the testis. *Crit Rev Oncol Hematol*, 53: 141-164, 2005.
6. National Comprehensive Cancer Network (NCCN) Clinical Practice Guidelines in Oncology. Testicular Cancer Version. http://www.nccn.org/professionals/physician_gls/PDF/testicular.pdf
7. National Cancer Institute - PDQ. Testicular Cancer <http://www.cancer.gov/cancertopics/pdq/treatment/testicular/healthprofessional/>
8. Parkin DM, Whelan SL, Ferlay J, Teppo L, Thomas DB: Cancer incidence in five continents, vol. VIII. IARC Scientific Publications No. 155. Lyon: International Agency for Research on Cancer, 2002.
9. Huyghe E, Matsuda T, Thonneau P: Increasing incidence of testicular cancer worldwide: a review. *J Urol*, 170: 5-11, 2003.
10. Heidenreich A, Weissbach L, Höltl W, Albers P, Kliesch S, Köhrmann KU, Dieckmann KP: Organ sparing surgery for malignant germ cell tumor of the testis. *J Urol*, 166: 2161-2165, 2001.
11. Pizzocaro G, Nicolai N, Salvioni R, Piva L, Faustini M, Zanoni F, Milani A: Comparison between clinical and pathological staging in low stage nonseminomatous germ cell testicular tumors. *J Urol*, 148: 76, 1992.
12. May M, Helke C, Nitzke T, Seehafer M, Vogler H, Hoschke B: Diagnostic value of tumour marker regression models in stage 1 marker-positive testicular cancer. *Urol Int*, 73: 329-336, 2004.
13. Donohue JP, Foster RS: Retroperitoneal lymphadenectomy in staging and treatment. The development of nervesparing techniques. *Urol Clin North Am*, 25: 461, 1998.
14. Leibovitch L, Foster RS, Kopecky KK, Donohue JP: Improved accuracy of computerized tomography based clinical staging in low stage nonseminomatous germ cell tumor using size criteria of retroperitoneal lymph nodes. *J Urol*, 154: 1759-1763, 1995.
15. Magelssen H, Haugen TB, von Düring V, Melve KK, Sandstad B, Fossa SD: Twenty years experience with semen cryopreservation in testicular cancer patients: who needs it? *Eur Urol*, 48: 779-785, 2005.
16. American Joint Committee on Cancer (AJCC). AJCC Cancer Staging Manual 6th Edition. Springer-Verlag, New York, 2002.
17. International Germ Cell Consensus Classification. A prognostic factor-based staging system for metastatic germ cell cancers. International Germ Cell Cancer Collaborative Group. *J Clin Oncol*, 15: 594-603, 1997.
18. Rajpert-De Meyts E, Giwercman A, Skakkebaek NE: Carcinoma in Situ of the Testis. A Precursor of Testicular Germ Cell Cancer: Biological and Clinical Aspects. In Vogelzang NJ, Scardino PT, Shipley WU, Coffey DS, editors. *Comprehensive Textbook of Genitourinary Oncology*. Second Edition, Baltimore, Lippincott Williams and Wilkins. 2000, pp 897-908.
19. Høe-Hansen CE, Rajpert-De Meyts E, Daugaard G, Skakkebaek NE: Carcinoma in situ testis, the progenitor of testicular germ cell tumours: a clinical review. *Ann. Oncol*, 16: 863-868, 2005.

20. Giwercman A, Cantell L, Marks A: Placental-like alkaline phosphatase as a marker of carcinoma-in-situ of the testis. Comparison with monoclonal antibodies M2A and 43-9F. *APMIS*, 99: 586-594, 1991.
21. Giwercman A, Müller J, Skakkebaek NE: Prevalence of carcinoma in situ and other histopathological abnormalities in testes from 399 men who died suddenly and unexpectedly. *J Urol*, 145: 77-80, 1991.
22. 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*, 171: 158-160, 2004.
23. Giwercman A, Bruun E, Frimodt-Moller C, Skakkebaek NE: Prevalence of carcinoma in situ and other histopathological abnormalities in testes of men with a history of cryptorchidism. *J Urol*, 142: 998-1002, 1989.
24. Harland SJ, Cook PA, Fossa SD, Horwich A, Mead GM, Parkinson MC, Roberts JT, Stenning SP: Intratubular germ cell neoplasia of contralateral testis in testicular cancer: defining high risk group. *J Urol*, 160: 1353-1357, 1998.
25. Taberner J, Paz-Ares L, Salazar R, Lianes P, Guerra J, Borrás J, Villavicencio H, Leiva O, Cortés-Funes H: Incidence of contralateral germ cell testicular tumors in South Europe: report of the experience at 2 Spanish university hospitals and review of the literature. *J Urol*, 171: 164-167, 2004.
26. Tavolini IM, Bettella A, Boscolo Berto R, Bassi P, Longo R, Menegazzo M, Garolla A, Foresta C: Immunostaining for placental alkaline phosphatase on fine-needle aspiration specimen to detect noninvasive testicular cancer: a prospective evaluation in cryptorchid men. *BJU Intern*, 97: 950-954, 2006.
27. Skakkebaek NE, Berthelsen JG, Müller J: Carcinoma in situ of the undescended testis. *Urol Clin North Am*, 9: 377-385, 1982.
28. Warde P, Specht L, Horwich A, Oliver T, Panzarella T, Gospodarowicz M, von der Maase: Prognostic factors for relapse in stage I seminoma managed by surveillance: a pooled analysis. *J Clin Oncol*, 20: 4448-4452, 2002.
29. Aparicio J, Germà JR, Garcia del Muro X, Maroto P, Arranz JA, Saenz A, Barnadas A, Dorca J, Guma J, Olmos D, Bastus R, Carles J, Almenar D, Sanchez M, Paz-Ares L, Satrustegui JJ, Mellado B, Bail A, Lopez-Brea M, Sanchez A: Risk-adaptive management for patients with clinical stage I seminoma: the second Spanish Germ Cell Cancer Cooperative Group Study *J Clin Oncol*, 23: 8717-8723, 2005.
30. Travis LB, Curtis RE, Storm H, Hall P, Holowaty E, Van Leeuwen FE, Kohler BA, Pukkala E, Lynch CF, Andersson M, Bergfeldt K, Clarke EA, Wiklund T, Stoter G, Gospodarowicz M, Sturgeon J, Fraumeni JF Jr, Boice JD Jr: Risk of second malignant neoplasm among long-term survivors of testicular cancer *J Natl Cancer Inst*, 89: 1429-1439, 1997.
31. Huddart RA, Norman A, Shahidi M, Horwich A, Coward D, Nicholls J, Dearnaley DP: Cardiovascular disease as a long-term complication of treatment for testicular cancer, *J Clin Oncol*, 21: 1513-1523, 2003.
32. Zagars GK, Ballo MT, Lee AK, Strom SS: Mortality after cure of testicular seminoma *J Clin Oncol*, 22: 640-647, 2004.
33. van den Belt-Dusebout AW, Nuver J, de Wit R, Gietema JA, ten Bokkel Huinink WW, Rodrigus PT, Schimmel EC, Aleman BM, van Leeuwen FE: Long-term risk of cardiovascular disease in 5-year survivor of testicular cancer *J Clin Oncol*, 24: 467-475, 2006.
34. Taylor MB, Carrington BM, Livsey JE, Logue JP: The effect of radiotherapy changes on sites of relapse in stage I testicular seminoma *Clin Radiol*, 56: 116-119, 2001.
35. Fossa SD, Horwich A, Russell JM, Roberts JT, Cullen MH, Hodson NJ, Jones WG, Yosef H, Duchesne GM, Owen JR, Grosch EJ, Chetiyawardana AD, Reed NS, Widmer B, Stenning SP: Optimal planning target volume for stage I testicular seminoma: a Medical Research Council randomized trial. *J Clin Oncol*, 17: 1146-1154, 1999.
36. Jones WG, Fossa SD, Mead GM, Roberts JT, Sokal M, Horwich A, Stenning SP: Randomized trial of 30 versus 20 Gy in the adjuvant treatment of stage I testicular seminoma: a report on Medical Research Council Trial TE18, European Organisation of Research and Treatment of Cancer Trial 30942 (ISRCTN18525328). *J Clin Oncol*, 25: 1200-1208, 2005.
37. Oliver RT, Mason MD, Mead GM, von der Maase H, Rustin GJ, Joffe JK, de Wit R, Aass N, Graham JD, Coleman R, Kirk SJ, Stenning SP; MRC TE19 collaborators and the EORTC 30982 collaborators: Radiotherapy versus single-dose carboplatin in adjuvant treatment stage I seminoma: a randomized trial. *Lancet*, 366: 293-300, 2005.
38. Classen J, Schmidberger H, Meisner C, Souchon R, Sautter-Bihl ML, Sauer R, Weinknecht S, Köhrmann KU, Bamberg M: Radiotherapy for stages IIA/B testicular seminoma: final report of a prospective multicenter clinical trial. *J Clin Oncol*, 21: 1101-1106, 2003.
39. Chung PW, Gospodarowicz MK, Panzarella T, Jewett MA, Sturgeon JF, Tew-George B, Bayley AJ, Catton CN, Milosevic MF, Moore M, Warde PR: Stage II testicular seminoma: patterns of recurrence and outcome of treatment. *Eur Urol*, 45: 754-760, 2004.

40. Krege S, Souchon R, Schmoll HJ: Interdisciplinary consensus on diagnosis and treatment of testicular germ cell tumours: result of an updated conference on evidence-based medicine. *Eur Urol*, 40: 373-391, 2001.
41. Domont J, Laplanche A, de Crevoisier R, Theodore, P, Wibault, K, Fizazi: A risk-adapted strategy of radiotherapy and cisplatin-based chemotherapy in stage II seminoma: results of a 20-year experience. *Proc Am Soc Clin Oncol*, 2005; 4571 (abstr)
42. Albers P, Siener R, Kliesch S, Weissbach L, Krege S, Sparwasser C, Schulze H, Heidenreich A, de Riese W, Loy V, Bierhoff E, Wittekind C, Fimmers R, Hartmann M: Risk factors for relapse in clinical stage nonseminomatous testicular germ cell tumors: results of the German Testicular Cancer Study Group trial. *J Clin Oncol*, 21: 1505-1512, 2003.
43. Madej G, Pawinski A: Risk-related adjuvant chemotherapy for stage I non-seminoma of the testis. *Clin Oncol*, 3: 270-272, 1991.
44. Freedman LS, Parkinson MC, Jones WC, Oliver RT, Peckham MJ, Read G, Newlands ES, Williams CJ: Histopathology in the prediction of relapse of patients with stage I testicular teratoma treated by orchiectomy alone. *Lancet*, 2: 294-298, 1987.
45. Read G, Stenning SP, Cullen MH, Parkinson MC, Horwich A, Kaye SB, Cook PA: Medical Research Council prospective study of surveillance for stage I testicular teratoma. Medical Research Council Testicular Tumors Working Party. *J Clin Oncol*, 10: 1762, 1992.
46. Nicolai N, Miceli R, Artusi R, Piva L, Pizzocaro G: A simple model for predicting nodal metastasis in patients with clinical stage I nonseminomatous germ cell testicular tumors undergoing retroperitoneal lymph node dissection. *J Urol*, 171: 172-176, 2004.
47. Pont J, Holtl W, Kosak D, Machacek E, Kienzer H, Julcher H, Honetz N: Risk-adapted treatment choice in stage I nonseminomatous testicular germ cell cancer by regarding vascular invasion in the primary tumor: a prospective trial. *J Clin Oncol*, 8: 16-19, 1990.
48. Cullen MH, Stenning SP, Parkinson MC, Fossa SD, Kaye SB, Horwich AH, Harland SJ, Williams MV, Jakes R: Short-course adjuvant chemotherapy in high-risk stage I nonseminomatous germ cell tumors of the testis: a Medical Research Council report. *J Clin Oncol*, 14: 1106, 1996.
49. Nicolai N, Pizzocaro G: A surveillance study of clinical stage I nonseminomatous germ cell tumors of the testis: 10-year follow-up. *J Urol*, 154: 1045, 1995.
50. Langstroer P, Rosen MA, Griebing TL, Thrasher B: Ejaculatory function in stage T1 nonseminomatous germ cell tumors: retroperitoneal lymph node dissection versus surveillance-a decision analysis. *J Urol*, 168: 1396-1401, 2002.
51. Donohue JP, Thornhill JA, Foster RS, Rowland RG, Bihrlé R: Retroperitoneal lymphadenectomy for clinical stage A testis cancer (1965 to 1989): modifications of technique and impact on ejaculation. *J Urol*, 149: 237, 1993.
52. Travis LB, Fosså SD, Schonfeld SJ, McMaster ML, Lynch CF, Storm H, Hall P, Holowaty E, Andersen A, Pukkala E, Andersson M, Kaijser M, Gospodarowicz M, Joensuu T, Cohen RJ, Boice JD Jr, Dores GM, Gilbert ES: Second Cancers Among 40,576 Testicular Cancer Patients: Focus on Long-term Survivors. *J Natl Cancer Inst*, 97: 1354-1365, 2005.
53. Culine S, Theodore C, Terrier-Lacombe MJ, Droz JP: Primary chemotherapy in patients with nonseminomatous germ cell tumors of the testis and biological disease only after orchiectomy. *J Urol*, 155: 1296-1298, 1996.
54. Davis BE, Herr HW, Fair WR, Bosl GJ: The management of patients with nonseminomatous germ cell tumors of the testis with serologic disease only after orchiectomy. *J Urol*, 152: 111-113, 1994.
55. Weissbach L, Bussar-Maatz R, Flechtner H, Pichlmeier U, Hartmann M, Keller L: RPLND or primary chemotherapy in clinical stage IIA/B nonseminomatous germ cell tumors? Results of a prospective multicenter trial including quality of life assessment. *Eur Urol*, 37: 582-594, 2000.
56. Neyer M, Peschel R, Akkad T, Springer-Stöhr B, Berger A, Bartsch G, Steiner H: Long-term results of laparoscopic retroperitoneal lymph-node dissection for clinical stage I non seminomatous germ-cell testicular cancer. *J Endourol*, 21: 180-183, 2007.
57. Pizzocaro G, Monfardini S: No adjuvant chemotherapy in selected patients with pathologic stage II nonseminomatous germ cell tumors of the testis. *J Urol*, 131: 677-680, 1984.
58. Williams SD, Stablein DM, Einhorn LH, Muggia FM, Weiss RB, Donohue JP, Paulson DF, Brunner KW, Jacobs EM, Spaulding JT: Immediate adjuvant chemotherapy versus observation with treatment at relapse in pathological stage II testicular cancer patients. *N Engl J Med*, 317: 1433-1438, 1987.

59. Weissbach L, Hartlapp JH: Adjuvant chemotherapy of metastatic stage II nonseminomatous testis tumor. *J Urol*, 146: 1295-1298, 1991.
60. Kondagunta GV, Sheinfeld J, Mazumdar M, Mariani TV, Bajorin D, Bacik J, Bosl GJ, Motzer RJ: Relapse-free and overall survival in patients with pathologic stage II nonseminomatous germ cell cancer treated with etoposide and cisplatin adjuvant chemotherapy. *J Clin Oncol*, 22: 464-467, 2004.
61. Gregory C, Peckham MJ: Results of radiotherapy for stage II testicular seminoma. *Radiother Oncol*, 6: 285-292, 1986.
62. Willan BD, McGowan DG: Seminoma of the testis: a 22-year experience with radiation therapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 11: 1769-1775, 1985.
63. de Wit R, Roberts JT, Wilkinson PM, de Mulder PH, Mead GM, Fossa SD, Cook P, de Pijck L, Stenning S, Collette L: Equivalence of three or four cycles of bleomycin, etoposide, and cisplatin chemotherapy and of a 3- or 5-day schedule in good-prognosis germ cell cancer: a randomized study of the European Organization for Research and Treatment of Cancer Genitourinary Tract Cancer Cooperative Group and the Medical Research Council. *J Clin Oncol*, 19: 1629-1640, 2001.
64. Fossa SD, de Wit R, Roberts JT, Wilkinson PM, de Mulder PH, Mead GM, Cook P, de Pijck L, Stenning S, Aaronson NK, Bottomley A, Collette L: Quality of life in good prognosis patients with metastatic germ cell cancer: a prospective study of the European Organization for Research and Treatment of Cancer Genitourinary Group/Medical Research Council Testicular Cancer Study Group (30941/TE20). *J Clin Oncol*, 21: 1107-1118, 2003.
65. Smith TJ, Khatcheressian J, Lyman GH, Ozer H, Armitage JO, Balducci L, Bennett CL, Cantor SB, Crawford J, Cross SJ, Demetri G, Desch CE, Pizzo PA, Schiffer CA, Schwartzberg L, Somerfield MR, Somlo G, Wade JC, Wade JL, Winn RJ, Wozniak AJ, Wolff AC: 2006 update of recommendations for the use of white blood cell growth factors: an evidence-based clinical practice guideline. *J Clin Oncol*, 24: 3187-3205, 2006.
66. De Santis M, Becherer A, Bokemeyer C, Stoiber F, Oechsle K, Sellner F, Lang A, Kletter K, Dohmen BM, Dittrich C, Pont J: 2-18fluoro-deoxy-D-glucose positron emission tomography is a reliable predictor for viable tumor in postchemotherapy seminoma: an update of the prospective multicentric SEMPET trial. *J Clin Oncol*, 22: 1034-1039, 2004.
67. De Giorgi U, Pupi A, Fiorentini G, Rosti G, Marangolo M: FDG-PET in the management of germ cell tumor. *Ann Oncol*, 16(Suppl 4): iv90-iv94, 2005.
68. Lewis DA, Tann M, Kesler K, McCool A, Foster RS, Einhorn LH: Positron Emission Tomography Scans in Postchemotherapy Seminoma Patients With Residual Masses: A Retrospective Review From Indiana University Hospital. *J Clin Oncol*, 24: e54 - e55, 2006.
69. Hendry WF, A'Hern RP, Hetherington JW, Peckham MJ, Dearnaley DP, Horwich A: Para-aortic lymphadenectomy after chemotherapy for metastatic non-seminomatous germ cell tumors: prognostic value and therapeutic benefit. *Br J Urol*, 71: 208-213, 1993.
70. Tekgul S, Özen HA, Celebi I, Ozgu I, Ergen A, Demircin M, Remzi D: Postchemotherapeutic surgery for metastatic testicular germ cell tumors: results of extended primary chemotherapy and limited surgery. *Urology*, 43: 349-354, 1994.
71. Fizazi K, Tjulandin S, Salvioni R, Germà-Lluch JR, Bouzy J, Ragan D, Bokemeyer C, Gerl A, Fléchon A, de Bono JS, Stenning S, Horwich A, Pont J, Albers P, De Giorgi U, Bower M, Bulanov A, Pizzocaro G, Aparicio J, Nichols CR, Théodore C, Hartmann JT, Schmoll HJ, Kaye SB, Culine S, Droz JP, Mahé C: Viable malignant cells after primary chemotherapy for disseminated nonseminomatous germ cell tumors: prognostic factors and role of postsurgery chemotherapy-results from an international study group. *J Clin Oncol*, 19: 2647-2657, 2001.
72. Fizazi K, Oldenburg J, Dunant A, Chen I, Salvioni R, Hartmann JT, De Santis M, Daugaard G, Flechon A, De Giorgi U, Tjulandin S, Schmoll HJ, Bouzy J, Fossa SD, Fromont G: Assessing prognosis and optimizing treatment in patients with post-chemotherapy viable non-seminomatous germ-cell tumors (NSGCT): results of the sCR2 International study. *Ann Oncol*, (in press)
73. Loehrer PJ, Gonin R, Nichols CR, Weathers T, Einhorn LH: Vinblastine plus ifosfamide plus cisplatin as initial salvage therapy in recurrent germ cell tumor. *J Clin Oncol* 16: 2500-2504, 1998.
74. Beyer J, Rick O, Siegert W, Bokemeyer C: Salvage chemotherapy in relapsed germ cell tumor. *Word J Urol*, 19: 90-93, 2001.
75. Kondagunta GV, Motzer RJ: Chemotherapy for advanced germ cell tumors. *J Clin Oncol*, 24: 5493-5502, 2006.
76. Fossa SD, Stenning SP, Gerl A, Horwich A, Clark PI, Wilkinson PM, Jones WG, Williams MV, Oliver RT, Newlands ES, Mead GM, Cullen MH, Kaye SB, Rustin GJ, Cook PA: Prognostic factors in patients progressing after cisplatin-based chemotherapy for malignant non-seminomatous germ cell tumours. *Br J Cancer*, 80: 1392-1399, 1999.

77. De Giorgi U, Rosti G, Papiani G, Marangolo M: The status of high-dose chemotherapy with hematopoietic stem cell transplantation in germ cell tumor patients. *Haematologica*, 87: 95-104, 2002.
78. Rosti G, De Giorgi U, Salvioni R, Papiani G, Sebastiani L, Argnani M, Monti G, Ferrante P, Pizzocaro G, Marangolo M: Salvage high-dose chemotherapy in patients with germ cell tumors: an Italian experience with 84 patients. *Cancer*, 95: 309-315, 2002.
79. Pico JL, Rosti G, Kramar A, Wandt H, Koza V, Salvioni R, Theodore C, Lelli G, Siegert W, Horwich A, Marangolo M, Linkesch W, Pizzocaro G, Schmoll HJ, Bouzy J, Droz JP, Biron P: A randomised trial of high-dose chemotherapy in the salvage treatment of patients failing first-line platinum chemotherapy for advanced germ cell tumours. *Ann Oncol*, 16:1152-1159, 2005.
80. Einhorn LH, Williams SD, Chamness A, Brames MJ, Perkins SM, Abonour R: High-Dose Chemotherapy and Stem-Cell Rescue for Metastatic Germ-Cell Tumors. *N Engl J Med*, 357: 340-348, 2007.
81. Lorch A, Kollmannsberger C, Hartmann JT, Metzner B, Schmidt-Wolf IG, Berdel WE, Weissinger F, Schleicher J, Egerer G, Haas A, Schirren R, Beyer J, Bokemeyer C, Rick O: Single versus sequential high-dose chemotherapy in patients with relapsed or refractory germ cell tumors: a prospective randomized multicenter trial of the German Testicular Cancer Study Group. *J Clin Oncol*, 25: 2778-2784, 2007.
82. Vaena DA, Abonour R, Einhorn LH: Long-term survival after high-dose salvage chemotherapy for germ cell malignancies with adverse prognostic variables. *J Clin Oncol*, 21: 4100-4104, 2003.
83. Beyer J, Kramar A, Mandanas R, Linkesch W, Greinix A, Droz JP, Pico JL, Diehl A, Bokemeyer C, Schmoll HJ, Nichols CR, Einhorn LH, Siegert W: High-dose chemotherapy as salvage treatment in germ cell tumors: a multivariate analysis of prognostic variables. *J Clin Oncol*, 14: 2638-2645, 1996.
84. De Giorgi U, Rosti G, Salvioni R, Papiani G, Ballardini M, Pizzocaro G, Marangolo M: Long-term outcome of salvage high-dose chemotherapy in patients with germ cell tumor with poor prognostic features. *Urol Oncol* 2009 (in press)
85. De Giorgi U, Demirel T, Wandt H, Taverna C, Siegert W, Bornhauser M, Kozak T, Papiani G, Ballardini M, Rosti G: Second-line high-dose chemotherapy in patients with mediastinal and retroperitoneal primary non-seminomatous germ cell tumors: the EBMT experience. *Ann Oncol*, 16: 146-151, 2005.
86. Banna GL, De Giorgi U, Ferrari B, Castagna L, Alloisio M, Marangolo M, Rosti G, Santoro A: Is high-dose chemotherapy after primary chemotherapy a therapeutic option for patients with primary mediastinal nonseminomatous germ cell tumor? *Biol Blood Marrow Transplant*, 12: 1085-1091, 2006.
87. Nicolai N, Necchi A, Gianni L, Piva L, BIASONI D, Torelli T, Stagni S, Milani A, Pizzocaro G, Salvioni R. Long-term results of a combination of paclitaxel, cisplatin and gemcitabine for salvage therapy in male germ-cell tumours. *BJU Intl* 2009 Feb 23.
88. Hinton S, Catalano P, Einhorn LH, Loehrer PJ Sr, Kuzel T, Vaughn D, Wilding G: Phase II study of paclitaxel plus gemcitabine in refractory germ cell tumors (E9897): a trial of the Eastern Cooperative Oncology Group. *J Clin Oncol*, 20: 1859-1863, 2002.
89. De Giorgi U, Rosti G, Aieta M, Testore F, Burattini G, Naglieri E, Lo Re G, Zumaglini F, Marangolo M: Phase II study of oxaliplatin and gemcitabine salvage chemotherapy in patients with cisplatin-refractory nonseminomatous germ cell tumor. *Eur Urol*, 50: 1032-1038, 2006.
90. Kollmannsberger C, Beyer J, Liersch R, Schoeffski P, Metzner B, Hartmann JT, Rick O, Stengele K, Hohloch K, Spott C, Kanz L, Bokemeyer C: Combination chemotherapy with gemcitabine plus oxaliplatin in patients with intensively pretreated or refractory germ cell cancer: a study of the German Testicular Cancer Study Group. *J Clin Oncol*, 22: 108-114, 2004.
91. De Giorgi U, Rosti G, Papiani G, Aieta M, Fochessati F, Paoluzzi L, Valduga F, Marangolo M: Weekly gemcitabine, paclitaxel, oxaliplatin combination chemotherapy in patients with Cisplatin-refractory germ cell tumor: preliminary experience. *Am J Clin Oncol*, 27: 457-460, 2004.
92. Albers P, Ganz A, Hanning E, Miersch WD, Muller SC: Salvage surgery of chemorefractory germ cell tumors with elevated tumor markers. *J Urol*, 164: 381-384, 2000.
93. De Giorgi U, Tana S, Rosti G: Follow-up strategy of germ cell tumour patients. *Ann Oncol*, 17: 529-530, 2006.
94. Fizazi K, Chen I, Logothetis CJ: Germ-cell tumor survivors: the price for cure. *Ann Oncol* 13:187-189, 2002.
95. Huddart RA, Norman A, Moynihan C, Horwich A, Parker C, Nicholls E, Dearnaley DP: Fertility, gonadal and sexual function in survivors of testicular cancer. *Br J Cancer*, 93: 200-207, 2005.
96. Sagstuen H, Aass N, Fosså SD, Dahl O, Klepp O, Wist EA, Wilsgaard T, Bremnes RM: Blood pressure and body mass index in long-term survivors of testicular cancer. *J Clin Oncol*, 23: 4980-4990, 2005

Capitolo 4

NEOPLASIA DELLA VESCICA INFILTRANTE E METASTATICA

V. Pagliarulo

Introduzione

Al momento della diagnosi, solo un terzo di tutti i pazienti con tumore uroteliale della vescica ha una malattia muscolo infiltrante o metastatica, mentre i restanti si presentano con una malattia confinata al connettivo sottoepiteliale. Sebbene la storia naturale delle neoplasie vescicali sia caratterizzata da frequenti recidive dopo resezioni transuretrali (TUR), con o senza l'associazione di terapia endocavitaria, la maggior parte dei pazienti (67-92 %) con tumore muscolo infiltrante non ha una storia di neoplasia "superficiale" della vescica e si presenta in stadio avanzato già al primo contatto con l'urologo (Kay and Lange, 1982; Hopkins, 1983; Vaidya, 2001; Messing, 2001). Ne deriva che tutte le TUR, le citologie urinarie, le cistoscopie non ridurranno in modo significativo la mortalità dei pazienti affetti da tumore vescicale nel corso dei prossimi anni.

Virtualmente tutti i pazienti che muoiono a causa di un tumore vescicale lo fanno a causa degli effetti prodotti dalle metastasi sistemiche; la stragrande maggioranza di questi pazienti ha una malattia muscolo infiltrante (stadio T2) diagnosticata precedentemente o contemporaneamente alla comparsa delle metastasi stesse (Jewett, 1946; Freeman, 1995).

In questo capitolo si definiscono le linee guida relative alla gestione dei pazienti affetti da tumore vescicale muscolo infiltrante e metastatico.

Diagnosi e stadiazione

L'imaging gioca un ruolo centrale nella stadiazione dei tumori vescicali e nella valutazione della risposta ad un trattamento. La corretta definizione dello stadio della malattia è importante per predire la prognosi e per orientarsi verso la scelta terapeutica più adeguata. L'imaging ci dà informazioni sulla estensione locale del tumore nel contesto della vescica, degli organi ad essa adiacenti, dei linfonodi retroperitoneali e degli organi più distanti.

RADIOGRAFIA DEL TORACE

Tutti i pazienti devono essere sottoposti ad una radiografia del torace per la ricerca di localizzazioni polmonari e mediastiniche. Solo i casi sospetti per metastasi devono essere indagati con metodiche più sensibili, come la tomografia computerizzata (TC). Infatti, in fase di stadiazione non vi sono dati a supporto di un uso sistematico della TC a livello del torace.

ULTRASONOGRAFIA

E' una tecnologia economica che in fase di stadiazione ha un ruolo confinato alla definizione dello stato delle alte vie urinarie. Può essere integrata alla TC per la definizione di sospette ripetizioni epatiche o in altre sedi.

UROGRAFIA

In corso di stadiazione di un tumore vescicale infiltrante, l'urografia ha perso il suo ruolo, in quanto sostituita dagli esami tomografici che danno informazioni su tutte le vie urinarie e consentono ricostruzioni multiplanari con livelli di definizione altissimi.

TC, RMN E PET

La tomografia computerizzata (TC) e la risonanza magnetica nucleare (RMN) sono le tecniche di imaging assiale attualmente di riferimento per la stadiazione dei tumori vescicali, e sono ampiamente disponibili sul territorio nazionale. La TC è meglio tollerata in quanto meno associata a fenomeni di claustrofobia (Shellak, 2003); la RMN richiede pazienti complianti e tempi di esecuzione più lenti, e non è applicabile a soggetti portatori di clip metalliche e pacemaker.

Non vi sono studi di confronto diretto tra le due tecniche diagnostiche. La tecnologia multidetettore ha migliorato la performance della TC; complessivamente, l'accuratezza di quest'ultima nella definizione della estensione perivescicale ed ai linfonodi varia dall' 83 al 93% e dal 73% al 92%, rispettivamente (Kim JK, 2004). Vi è evidenza che la RMN sia superiore ad esami TC di vecchia generazione (2a) nella definizione della estensione della malattia nella vescica e negli organi adiacenti (Barentsz, 1996); nella definizione della estensione locale di malattia l'accuratezza diagnostica della RMN varia dal 73 al 96% (Tekes, 2005). Sebbene TC e RMN tradizionale siano entrambe incapaci di riconoscere metastasi in linfonodi di dimensioni normali, la RMN accoppiata all'iniezione di molecole paramagnetiche di ossido di ferro (USPIO) promette di migliorare notevolmente il riconoscimento di linfonodi metastatici (Deserno, 2004). Infine, le due tecniche sono equivalenti nella diagnosi di localizzazioni a distanza, sebbene si riconosca alla RMN una maggiore sensibilità nella definizione delle metastasi ossee (Barentsz, 1996).

Una recente resezione tumorale può rendere difficile la distinzione tra tessuto tumorale, edema e fibrosi. In previsione di una TUR e/o di una chirurgia, laddove possibile, TC e RMN dovrebbero essere eseguiti prima della stessa (Kim B, 2004).

Il ruolo della Tomografia ad Emissione di Positroni (PET) è in fase di definizione. La PET con 2-deossi-2 [F] fluoro-D-glucosio (FDG) in combinazione con la TC (FDG-PET/CT) non ha dimostrato nessun vantaggio rispetto alla sola TC nella stadiazione linfonodale di pazienti sottoposti a cistectomia radicale (Swimmen, 2009). La discordanza dei dati di letteratura dovrebbe scoraggiare gli urologi a richiedere questo esame, al di fuori di protocolli sperimentali.

SCINTIGRAFIA OSSEA TOTAL BODY

Alcuni studi hanno valutato l'utilità della scintigrafia ossea (SO) come strumento per la stadiazione dei pazienti con tumore infiltrante della vescica. Dai risultati si evince che una SO preoperatoria non è necessaria nei casi di tumore vescicale organo confinato (clinicamente), mentre può avere un ruolo per modificare l'approccio terapeutico in quei pazienti che lamentano segni e sintomi suggestivi di un coinvolgimento osseo (Braendengen, 1996). La SO ha una specificità inferiore alla RMN, quindi, ogni reperto scintigrafico sospetto va comunque confermato mediante esecuzione della RMN stessa (Davey, 1985).

RACCOMANDAZIONI

- Per la stadiazione di un tumore vescicale muscolo infiltrante, tutti i pazienti devono essere sottoposti a radiografia del torace in due proiezioni. Le lesioni sospette vanno confermate mediante TC.
- Per la stadiazione di un tumore vescicale muscolo infiltrante, tutti i pazienti devono essere sottoposti ad esame tomografico assiale (TC o RMN) dell'addome.

- In previsione di un trattamento radicale, l'esame dovrebbe essere condotto prima di qualunque manovra chirurgica.
- La RMN è di poco superiore alla TC per la definizione dello stadio locale e perivescicale di malattia.
- La SO va eseguita solo nei pazienti con segni e sintomi di interessamento osseo. Le lesioni sospette vanno confermate mediante RMN.

Bibliografia

- Barentsz JO, Jager GJ, Witjes JA, et al. Primary staging of urinary bladder carcinoma: The role of MRI and a comparison with CT. *Eur Radiol* 1996;6:129-33.
- Braendengen M, Winderen M, Fossa SD: Clinical significance of routine pre-cystectomy bone scans in patients with muscle-invasive bladder cancer. *Br J Urol* 1996;77:36-40.
- Davey P, Merrick MV, Duncan W, Redpath AT: Bladder cancer: The value of routine bone scintigraphy. *Clin Radiol* 1985;36:77-79.
- Deserno WM, Harisinghani MG, Taupitz M, et al. Urinary bladder cancer: preoperative nodal staging with ferumoxtran-10-enhanced MR imaging. *Radiology* 2004;233:449-56.
- Freeman JA, Esrig DE, Stein JP, et al. Radical cystectomy for high risk patients with superficial bladder cancer in the era of orthotopic urinary reconstruction. *Cancer*. 1995;76:833-839.
- Hopkins SC, Ford KS, Soloway MS. Invasive bladder cancer: support for screening. *J Urol*. 1983;130:61-64.
- Jewett HJ, Strong GH. Infiltrating carcinoma of the bladder: relation of depth of penetration of the bladder wall to incidence of local extension and metastases. *J Urol*. 1946;55:366-372.
- Kaye KW, Lange PH. Mode of presentation of invasive bladder cancer: reassessment of the problem. *J Urol*. 1982;128:31-33.
- Kim B, Semelka RC, Ascher SM, et al. Bladder tumor staging: Comparison of contrast-enhanced CT, T1- and T2-weighted MR imaging, dynamic gadolinium-enhanced imaging, and late gadolinium-enhanced imaging. *Radiology* 1994;193:239-45.
- Kim JK, Park SY, Ahn HJ, et al. Bladder cancer: Analysis of multi-detector row helical CT enhancement pattern and accuracy in tumor detection and perivesical staging. *Radiology* 2004;231:725-31.
- Messing EM. De novo muscle invasive bladder cancer: is there a change in trend [editorial comment]? *J Urol*. 2001;165:50.
- Shellak F. Reference manual for magnetic resonance safety: 2003 ed Salt Lake City (UT): Amyrsis, Inc; 2003.
- Swimmen et al. FDG-PET/CT for the Preoperative Lymph Node Staging of Invasive Bladder Cancer. *Eur Urol*, 2009 epub.
- Tekes A, Kamel I, Imam K, et al. Dynamic MRI of bladder cancer: Evaluation of staging accuracy. *AJR* 2005;184: 121-7.
- Vaidya A, Soloway M, Hawke C, et al. De novo muscle invasive bladder cancer: is there a change in trend? *J Urol*. 2001; 165:47-50; discussion, 50.

Opzioni terapeutiche

La cistectomia radicale è il trattamento di scelta in molti paesi, ma a tutt'oggi non vi sono trials clinici randomizzati in grado di promuovere la superiorità di una scelta terapeutica rispetto ad un'altra, o in grado di stabilire raccomandazioni con livelli di evidenza 1. La scelta del trattamento deve comunque essere modulata in rapporto a: performance, status, stadio e grado della malattia, fattori di comorbidità.

Timing del trattamento

La preparazione ad un trattamento radicale, la stadiazione della malattia, le visite urologiche per una seconda opinione, problemi personali e le attese dipendenti dal sistema sanitario sono tutti fattori che possono allungare l'intervallo di tempo tra la diagnosi ed il trattamento di un tumore. L'effetto di una lunga attesa non è facilmente quantificabile, tuttavia, una stima accurata è stata fatta nel caso di pazienti da sottoporre a cistectomia radicale per tumore vescicale muscolo infiltrante. Un intervallo ≥ 3 mesi tra la diagnosi (TUR) e la cistectomia ha un effetto negativo sulla sopravvivenza (Sanchez-Ortiz, 2003; Hautmann, 1998; Chang, 2003); al contrario, questo effetto è annullato se l'attesa è contenuta entro i 3 mesi (Sanchez-Ortiz, 2003). Poiché la ripercussione sulla sopravvivenza è evidente anche in altre neoplasie maligne, alcuni Paesi (Regno Unito, per es.) hanno adottato delle norme in base alle quali tutte le patologie tumorali sono considerate prioritarie, per cui l'attesa preoperatoria non deve superare il limite dei 2 mesi.

Centri di riferimento

La disponibilità di dati provenienti da database nazionali, su ampie popolazioni di pazienti, ha reso possibile l'analisi di svariati fattori in grado di interferire con il decorso clinico di pazienti trattati per tumore vescicale infiltrante (cistectomia). Tra questi sono presi in considerazione le casistiche cliniche e l'esperienza dei chirurghi, l'impact factor e la reputazione dei centri specializzati (Schrag, 2005; Konety, 2005 and 2006; Barbieri, 2007; Elting, 2005). Dati retrospettivi sembrano confermare la relazione inversa tra il numero di chirurgie (attribuite ad un ospedale o ad un chirurgo), morbidità e mortalità intervento-correlate. Sfortunatamente, 30 anni dopo il riconoscimento della relazione tra volume e risultati della chirurgia, abbiamo fatto pochi progressi per approfondire gli elementi alla base di questa relazione (Luft, 1979). Tutt'ora in Italia non esistono leggi e/o decreti regionali per l'accreditamento di eccellenza a centri specializzati nella diagnosi e cura del tumore vescicale.

RADIOTERAPIA

È noto da alcuni decenni che il tumore uroteliale della vescica è radiosensibile, tanto da giustificare già nel 1975 la pubblicazione del primo lavoro sull'uso della radioterapia esterna (RTE) in pazienti affetti da tumore muscolo infiltrante della vescica (Goffinet, 1975). A distanza di diversi anni non è facile trarre conclusioni dalla notevole mole di dati che si sono prodotti e che sono molto eterogenei tra loro. Nonostante la RTE sia tutt'ora il migliore approccio conservativo al tumore vescicale muscolo infiltrante, un'analisi della letteratura dimostra che, complessivamente, le percentuali di cura sono piuttosto deludenti, cioè del 30-50% (Goodman 1981; Yu, 1985; Duncan, 1986; Jenkins, 1988; Blandy, 1988; Greven, 1990; Davidson, 1990; Jahnsen, 1991; Gospodarowicz, 1991; Smaaland, 1991; Mameghan, 1992; Fossa 1993; Pollack, 1994; Moonen, 1998; Borgaonkar, 2002). Quando somministrata da sola, oltre il 50% dei pazienti che raggiunge una risposta completa sviluppa comunque metastasi a distanza; inoltre, solo il 30% dei pazienti che inizialmente ottiene una risposta completa sopravvive per oltre 5 anni (Goodman 1981; Yu, 1985; Duncan, 1986; Jenkins, 1988; Blandy, 1988; Greven, 1990; Davidson, 1990; Jahnsen, 1991; Gospodarowicz, 1991; Smaaland, 1991; Mameghan, 1992; Fossa 1993; Pollack, 1994; Moonen, 1998; Borgaonkar, 2002). I fattori che hanno contribuito a questi risultati sono l'incapacità di definire con precisione la stadiazione della malattia e la tendenza a trattare più spesso pazienti a prognosi peggiore (anziani e con patologie associate importanti). Sebbene la cistectomia di salvataggio sia contemplata in alcuni casi, solo un 20% di questi pazienti effettivamente si sottopongono alla stessa.

Pertanto, sebbene nessuno studio definitivo di fase III abbia confrontato direttamente la RTE da sola con la chirurgia radicale, analizzando la mole dei risultati clinici delle due tecniche è giusto riconoscere alla chirurgia outcome migliori, soprattutto in termini di sopravvivenza globale (Choueiri, 2008). In conclusione, al di fuori di indicazioni palliative, la sola RTE è stata abbandonata, grazie anche ai risultati più favorevoli degli approcci multimodali, in cui la RTE viene combinata alla chirurgia radicale e/o alla chemioterapia.

RADIOTERAPIA PREOPERATORIA

Whitmore ha per primo dimostrato che la RTE preoperatoria può causare una sottostadiazione del tumore vescicale, tale da associarsi ad un guadagno clinico (Whitmore, 1980). Lo studio più rappresentativo è indubbiamente quello condotto presso il MD Anderson Cancer Center, Houston. Su 338 pazienti T2-T4, per effetto della RTE, si ottiene un downstaging patologico nel 65% dei casi, con T0 nel 42% dei casi; la sopravvivenza globale a 5 anni è del 44% (Pollack, 1994). Infine, una meta analisi di 3 trials clinici randomizzati di confronto tra RTE neoadiuvante + cistectomia e sola radioterapia RTE ha dimostrato la superiorità della terapia combinata (livello di evidenza 1) (Shelley, 2001). Questi risultati dimostrano che la combinazione tra cistectomia radicale e RTE può essere efficace, laddove vengano applicati criteri molto selettivi nella scelta dei pazienti. Va comunque detto che, allo stato attuale, la maggior parte dei radioterapisti oncologi sembrano aver abbandonato approcci di sola radioterapia a favore di varie combinazioni di chemio-radioterapia.

RADIOTERAPIA E CHEMIOTERAPIA

Lavori preclinici hanno dimostrato che il singolo agente chemioterapico più comunemente utilizzato (e probabilmente più efficace), cioè il cisplatino, può incrementare l'effetto citotossico delle radiazioni, anche in cellule ipossiche (Brown, 1985). Poiché il cisplatino si rinvie-

ne nei tessuti e nell'urina anche diversi giorni dopo la sua somministrazione, alcune schemi terapeutici di chemioterapia neoadiuvante equivalgono ad una somministrazione concomitante di chemio e radio-terapia (Schieler, 1995).

Questa combinazione da 30 anni è la strategia di base per la preservazione della vescica. Sebbene i trials clinici randomizzati non siano stati in grado di dimostrarne la superiorità rispetto alla sola radioterapia, tutti gli studi di confronto, anche con coorti storiche, con tutti i limiti metodologici, suggeriscono migliori risposte e sopravvivenze a lungo termine. Sono soprattutto la scuola tedesca (Francoforte) e quella del Massachusetts General Hospital di Boston ad aver settato gli standard della chemio-radioterapia nel corso degli ultimi 15-20 anni riportando ottimi risultati e creando i presupposti per i trials clinici del Radiation Therapy Oncology Group (RTOG) attualmente in corso. In sintesi, la risposta completa si attesta attorno al 70% e la sopravvivenza globale a 2-5 anni varia dal 35-79% (Rödel, 2002; Zietman, 1993; Shipley, 1987; Tester, 1993; Coppin, 1996; Chauvet, 1996; Gogna, 2006; Hagan, 2003).

CHEMIOTERAPIA NEOADIUVANTE E RADIOTERAPIA

A partire dagli anni '80, i primi protocolli prevedevano l'uso di un solo agente, generalmente cisplatino, metotrexate o 5-fluorouracile producendo dei risultati deludenti (Raghavan, 1985; Herr, 1983; Shearer, 1988). Questi insuccessi hanno shiftato l'attenzione verso l'uso di più chemioterapici, generalmente varie combinazioni di cisplatino con metotrexate, vinblastina o paclitaxel. Sebbene i singoli trials clinici non abbiano mai dato risultati significativi a favore della chemioterapia neoadiuvante (International Collaboration of Trialists, 1999; Sengelov, 2002), le meta analisi eseguite in seguito, su migliaia di pazienti, hanno dimostrato che, rispetto alla sola RTE, associando la chemioterapia neoadiuvante si ottengono vantaggi in termini di sopravvivenza globale e cancro specifica, nonché controllo locale della malattia (Advanced Bladder Cancer Overview Collaboration, 2005; Advanced Bladder Cancer Meta-analysis Collaboration, 2003).

Pertanto, nonostante non vi sono grosse evidenze a favore di una modalità terapeutica rispetto ad un'altra, il paradigma per il trattamento radiante del tumore muscolo infiltrante della vescica è virato dalla sola RT alla sua combinazione con la polichemioterapia neoadiuvante basata sul cisplatino; è interessante osservare come a tale conclusione si sia arrivati soprattutto sulla scorta dei risultati ottenuti dalla combinazione di chemioterapia neoadiuvante e cistectomia radicale.

Infine, l'unico trial randomizzato di fase III che ha testato l'uso di chemioterapia neoadiuvante e successiva chemio-radioterapia, ha dimostrato che tale approccio non offre nessun vantaggio rispetto alla sola chemio-radioterapia. (Shipley, 1998).

In conclusione, nel corso degli ultimi anni, vi è stato un certo interesse nell'utilizzo di approcci meno invasivi (organ-sparing) che utilizzano combinazioni di chemioterapia e radioterapia, ed eventuale cistectomia di salvataggio. Il confronto degli studi è molto difficile poiché sono spesso contemplate tecniche chirurgiche diverse, radioterapia preoperatoria, chemioterapia neoadiuvante, concomitante ed adiuvante. (Stein, 2001; Madersbacher, 2003). La filosofia di Shipley e colleghi è ragionevole; essa focalizza l'uso di chemio-radioterapia per migliorare il controllo locale della malattia fino al raggiungimento di risultati vicini a quelli della chirurgia radicale, a condizione di dover aggiungere chemioterapia sistemica (neoadiuvante o classica adiuvante) per ridurre il fallimento da malattia metastatica (Shipley, 1987; Kaufman 2009). Quindi, il miglior candidato per un approccio di questo tipo, è il paziente affetto da un tumore vescicale a cellule di transizione, monofocale, di dimensioni ≤ 5 cm, stadio clinico T2-T3a, non associato a carcinoma in situ, senza evidenza clinica di metastasi linfonodali, senza idronefrosi, con una buona funzione vescicale pretrattamento (James, 2005). Inoltre, il paziente deve attenersi ad una sorveglianza molto attenta della vescica per tutta la vita, ed essere preparato alla possibilità di una

chirurgia radicale in caso di ripresa di malattia. Non è da trascurare che uno degli aspetti cruciali dell'efficacia della radioterapia è l'associazione della stessa ad una TUR molto estesa. Una TUR subottimale può compromettere la cura, come evidenziato da un'analisi multivariata in cui l'abilità di eseguire una TUR completa o meno era il solo fattore prognostico indipendente in grado di garantire una lunga sopravvivenza in pazienti sottoposti a terapia combinata (Rödel, 2002). A queste condizioni, la RT moderna si avvicina ai risultati della chirurgia radicale, fino ad ottenere risposte complete del 60-85%, sopravvivenze a 5-anni del 55%, e preservazione della vescica nel 40-45% dei sopravvissuti (International, 1999).

RACCOMANDAZIONI

- La radioterapia preoperatoria non è raccomandata, poiché non conferisce vantaggi clinici.
- La radioterapia, come scelta primaria di trattamento, deve essere eseguita utilizzando una tecnica di tipo conformazionale.
- Nei pazienti idonei, la radioterapia conformazionale è più efficace quando associata a chemioterapia neoadiuvante basata sul platino.
- La cistectomia di salvataggio è una opzione per quei pazienti che recidivano dopo radioterapia e sono idonei ad una chirurgia.

CHIRURGIA

La cistectomia radicale è considerato il trattamento di scelta in Europa e Stati Uniti d'America per i pazienti affetti da carcinoma vescicale infiltrante ed organo confinato. Tale chirurgia prevede la rimozione degli organi pelvici anteriori nell'uomo (vescica, prostata e vescicole seminali), mentre nella donna prevede la rimozione di vescica, utero, ovaie e parzialmente la vagina (Richie, 1992, Stein, 2001); a tale procedura si associa generalmente una linfadenectomia pelvica. Infine, la cistectomia radicale comporta una interruzione delle vie urinarie che deve essere seguita da una derivazione delle stesse, secondo modalità chirurgiche diverse. Secondo i risultati a lungo termine dell'esperienza della USC, la mortalità perioperatoria è del 3%, mentre le complicanze precoci (entro 3 mesi dalla chirurgia) sono del 28% (Stein, 2006). Il principale fattore che influisce sulla morbilità precoce è il tipo di derivazione urinaria applicata alla cistectomia radicale.

A seconda delle casistiche, nei pazienti N0, la cistectomia radicale così descritta garantisce le seguenti sopravvivenze a 5 anni: 60-75% per i pT2, 20-49% per i T3-T4 (Skinner, 1984; Wishnow, 1993; Waehre, 1992; Ghoneim, 1997; Giuliani, 1985; Madersbacher, 2003). Altri studi hanno evidenziato una sopravvivenza a 10 anni cancro-specifica e globale rispettivamente del 27.7% e 20.9% in pazienti con linfonodi positivi (Gschwend, 2002). Nella maggior parte delle casistiche provenienti da centri accademici, allorché si verifici una recidiva, questa è raramente localizzata nella sede della chirurgia; da ciò deriva la necessità di identificare i pazienti a rischio per tale evenienza, e di trattarli al momento della cistectomia, cioè quando queste localizzazioni sono ancora microscopiche.

CISTECTOMIA RADICALE PER TUMORE NON MUSCOLO INFILTRANTE

Uno degli argomenti più controversi è quello della scelta terapeutica in caso di tumori non muscolo infiltranti ad alto rischio. Molti pazienti sono adeguatamente trattati con TUR asso-

ciata a terapia endovesicale, generalmente BCG. D'altro canto, alcuni di questi pazienti necessitano di un trattamento meno conservativo, a causa dei rischi correlati alla aggressività di alcune neoplasie uroteliali e al rischio di sottostadiazione sia della chirurgia che delle tecniche di imaging. Premesso che secondo alcuni Autori l'opzione della cistectomia vada quantomeno discussa in tutti i casi di T1 (Stein, 2008), vi sono indubbiamente delle caratteristiche clinico-patologiche che orientano meglio la decisione.

Carinoma in situ. Masood ha esaminato il ruolo prognostico del Cis in pazienti con neoplasia T1 ad alto grado e sottoposti a cistectomia, dimostrando che la presenza del Cis si associa nel 55% dei casi a tumore > T1, mentre questo succede solo nel 6% dei pazienti senza Cis (Masood, 2004). Solsona ha, inoltre, dimostrato che pazienti affetti da T1 con Cis e sottoposti a cistectomia sono maggiormente a rischio di progressione. Questo dato è stato confermato anche da altri (Solsona, 2004, Orsola, 2005).

Microstadiazione. Sebbene si tratti di un argomento piuttosto controverso, in quanto poco riproducibile, diversi Autori hanno dimostrato che la cosiddetta microstadiazione, cioè la ricerca di una invasione tumorale a carico della muscolaris mucosa è associata a prognosi peggiore (Orsola, 2005; Holmang, 1997; Smits, 1998; Cheng, 1999).

Fallimento del BCG. Anche se il BCG rappresenta il trattamento più efficace per i tumori non muscolo infiltranti ad alto rischio, una popolazione ampia di pazienti non risponderà al trattamento. Sebbene nuove associazioni terapeutiche siano in fase di sperimentazione, al fine di migliorare i tassi di recidiva e progressione ed evitare un trattamento radicale, allo stato attuale il trattamento di scelta per i pazienti che non rispondono al BCG rimane la cistectomia radicale. Una delle cause di fallimento della terapia può essere l'understaging. In media, questo si verifica nel 34% dei pazienti che poi si sottopongono a cistectomia radicale, di cui addirittura il 14% si presenta con metastasi linfonodali (Stein, 2001). In questa categoria di pazienti è anche fondamentale il timing della chirurgia. Basti pensare che i pazienti che si sottopongono a cistectomia radicale entro i 2 anni dalla prima TUR, hanno una prognosi decisamente migliore rispetto a quelli in cui l'intervento viene ritardato oltre questo lasso di tempo (Herr, 2001; Mahmud, 2006).

Altro. Ulteriori indicazioni relative ad un trattamento chirurgico radicale sono perlopiù rappresentate da patologie non gestibili con terapie conservative, come nel caso di tumori vescicali di grado G1-2, non muscolo infiltranti, ma molto estesi, e quindi non trattabili con la sola TUR.

CISTECTOMIA NERVE SPARING E PROSTATE SPARING

In urologia oncologica un trend degli ultimi anni è quello di minimizzare la morbilità associata ad un intervento chirurgico attraverso tecniche di risparmio anatomico. Un numero sempre crescente di Autori si è spinto in tal senso per eseguire sia tecniche di risparmio dei nervi del plesso prostatico, sia tecniche di cistectomia radicale modificata, con risparmio della prostata, dei vasa deferens e vescicole seminali, previa resezione di adenoma prostatico per ridurre il rischio di disturbi ostruttivi postoperatori. Sebbene le casistiche siano molto esigue, una revisione dei dati disponibili dimostra che, in termini di risultati funzionali, non vi sono grandi vantaggi sul recupero della continenza diurna e notturna; sicuramente consistente è il vantaggio sulla sfera sessuale. A quale costo? Al costo di un fallimento della radicalità oncologica del 10-15% maggiore rispetto ai pazienti che si sottopongono alla cistectomia radicale classica. Senza dimenticare che, nel caso di una chirurgia prostate-sparing, vi è un rischio del 6% di tumore prostatico, oltre al rischio potenziale di malattia uroteliale dell'uretra prostatica (Hautmann, 2005). In conclusione, sebbene un tale approccio possa migliorare la propensione di un uomo giovane alla cistectomia radicale, i risultati pubblicati non sono a supporto della cistectomia prostate-sparing.

LINFADENECTOMIA

Nessun trial prospettico randomizzato ha mai confrontato i risultati clinici di pazienti sottoposti a cistectomia radicale con linfadenectomia pelvica, rispetto alla sola cistectomia. Quindi, per quel che concerne il ruolo prognostico e/o terapeutico delle linfadenectomia non è possibile esprimersi in termini di livelli di evidenza 1. Ciononostante, una serie cospicua di studi finalizzati, ma non tutti, ha suggerito che una dissezione linfonodale accurata può migliorare la sopravvivenza e che alcuni pazienti possono guarire, anche se affetti da piccole metastasi linfonodali (Herr, 2001, 2002; Vieweg, 1999; Poulsen, 1998; Steven, 2007). Anche in termini di estensione della dissezione linfonodale, secondo alcuni Autori quando questa è confinata alla biforcazione aortica è in grado di migliorare la sopravvivenza dei pazienti con malattia organo confinata (Poulsen, 1998). In uno studio prospettico multicentrico in cui il numero di linfonodi rimossi era di 43.1 ± 16.1 , l'incidenza delle metastasi linfonodali era del 27.9. Dei pazienti con metastasi pelviche il 31% aveva anche positività linfonodali in sedi più alte (Leissner, 2004). Ciò dimostra che la rimozione dei linfonodi aortici e sovra aortici, quindi la rimozione di un maggior numero di linfonodi, aumenta l'incidenza di metastasi linfonodali. Se una dissezione estesa migliora anche la sopravvivenza rimane molto controverso. Almeno in parte, non si può escludere che questo sia da attribuire ad una migrazione di stadio, cioè all'assegnazione dei pazienti sottoposti a linfadenectomia a categorie di rischio corrette, per effetto dell'analisi di un numero maggiore di linfonodi (Feinstein, 1984). Infatti, l'utilizzo di indagini molecolari per la ricerca di metastasi occulte produce lo stesso effetto, anche su un numero esiguo di linfonodi (Kurahashi, 2006).

Piuttosto, questi studi enfatizzano la necessità di una linfadenectomia meticolosa ai fini prognostici. La prognosi si esprime soprattutto sotto forma di percentuale di linfonodi positivi, tanto che una positività $< 20\%$ ha una prognosi nettamente migliore rispetto ad una positività $> 20\%$. Secondo un ampio studio retrospettivo, la sopravvivenza a 10 anni è rispettivamente del 47 % e del 17% (Stein, 2003). Non vi è nessun consenso circa il numero minimo di linfonodi da rimuovere. Uno studio ha dimostrato che, tra i pazienti con metastasi linfonodali, la rimozione di un numero minimo di 9 linfonodi è associata ad un guadagno significativo in termini di sopravvivenza a 5 anni: 39% rispetto a 16% (quando vengono rimossi meno di 9 linfonodi) (Herr, 2002). Inoltre, uno studio multicentrico focalizzato sulla standardizzazione della tecnica chirurgica, raccomanda che una media di 10-14 linfonodi dovrebbero essere rimossi ed esaminati durante questa chirurgia (Herr, 2004).

Inoltre, è fondamentale eseguire una linfadenectomia bilaterale poiché non sono infrequenti metastasi linfonodali controlaterali alla sede del tumore vescicale primitivo (Herr, 2001; Leissner, 2004). Al contrario, non vi è nessuna evidenza che una linfadenectomia estesa sia causa di maggiori complicanze rispetto ad una linfadenectomia limitata (Herr, 2002; Poulsen, 1998; Steven, 2007; Vieweg, 1999). Infine, la dissezione linfonodale in pacchetti separati piuttosto che la rimozione "en-bloc" di tutti i linfonodi di ciascun lato rende l'analisi anatomico patologica più facile e sembra associarsi alla rimozione di un maggior numero di linfonodi (Stein, 2007; Bochner, 2001).

URETRECTOMIA

E' del 10% il rischio di recidiva di carcinoma uroteliale a carico dell'uretra anteriore in pazienti sottoposti a cistectomia radicale e derivazione urinaria alla cute. Questo rischio è anche più alto nei pazienti affetti da malattia multifocale (Freeman, 1994). La percentuale scende al 3.1% nei pazienti sottoposti a radioterapia (4.7% se si includono le recidive a carico del-

l'uretra prostatica) (Cresswell, 2001), e al 2.9% nei pazienti che alla cistectomia radicale associano una derivazione ortotopica (Freeman, 1996). Sebbene questi dati lascino supporre un ruolo protettivo garantito dal passaggio di urina, rimane da chiarire quale sia il meccanismo che protegge soggetti sottoposti a derivazioni ortotopiche e/o radioterapia.

Uno studio ha specificamente cercato di definire il ruolo dell'esame istologico estemporaneo su campione congelato del margine uretrale in pazienti sottoposti a cistectomia radicale e derivazione urinaria ortotopica, dimostrando che esso è in grado di predire accuratamente una recidiva uretrale. Non vi è nessuna evidenza di recidiva uretrale a 10 anni di follow-up medio nei pazienti con esame estemporaneo negativo. Infine, biopsie dell'uretra prostatica eseguite prima della chirurgia sembrano essere meno accurate nel predire le recidive uretrali (Lebret, 1998).

ESAME ANATOMO-PATOLOGICO DEL CAMPIONE OPERATORIO

L'esame anatomopatologico della vescica è facilitato dal riempimento della stessa con formalina, quando il campione è ancora fresco dopo essere stato rimosso. In caso contrario, il tumore può essere difficile da localizzare e l'interpretazione istologica può essere inficiata dalla comparsa di alterazioni da lesioni autolitiche (Parkinson, 1991).

LA DERIVAZIONE DELLE VIE URINARIE

In base alle caratteristiche anatomiche, sono attualmente possibili tre tipi di derivazioni urinarie:

- Derivazioni addominali alla cute, quali uretero-cutaneostomia, condotto ileale o colico e varie forme di pouches cutanee continenti,
- Derivazioni uretrali che comprendono diverse forme di pouches gastrointestinali in continuità con l'uretra come la derivazione ortotopica continente (neovescica, sostituzione vescicale ortotopica),
- Derivazioni rettosigmoidee, come l'uretero (ileo) rettostomia.

Diversi tipi di segmenti intestinali possono essere utilizzati per la ricostruzione del tratto urinario, come stomaco, ileo, colon e appendice (Stenzl, 1999). Diversi studi hanno esaminato certi aspetti della qualità di vita malattia correlata, quali l'attività sessuale, la continenza urinaria e l'immagine corporea in differenti coorti di pazienti, a seconda della diversione urinaria. I pazienti sottoposti a derivazione urinaria continente devono imparare a convivere con la propria neovescica abituandosi a gestirla in maniera adeguata. Controindicazioni assolute a forme più complesse di derivazione urinaria sono malattie neurologiche e psichiatriche, limitate aspettative di vita, alterate funzioni renale ed epatica, margini chirurgici positivi. Controindicazioni relative sono terapia radiante ad alte dosi preoperatoria, stenosi serrata dell'uretra e incontinenza da deficit sfinterico severo (Tanrikut, 2004; Hautmann, 2006).

Uretero-cutaneostomia. L'abboccamento dell'uretere direttamente alla parete addominale è la forma più semplice di derivazione urinaria. Essa è considerata una procedura di salvataggio e dunque è indicata nei pazienti più anziani e in quelli che necessitano di una derivazione sopravescicale (Deliveliotis, 2005; Kilciler, 2006). Altri studi hanno dimostrato che in pazienti selezionati e più giovani sono possibili tutte le altre forme di derivazione urinaria, compresa la vescica ortotopica (Figueroa, 1998). Tecnicamente è possibile o derivare un solo uretere alla cute dopo anastomosi termino-terminale tra i due ureteri (transuretero-ureterocutaneostomia) o derivare entrambi gli ureteri alla cute. A causa del piccolo diametro dell'uretere, le stomie ureterali vanno più facilmente incontro a stenosi (Deliveliotis, 2005).

Condotto ileale. Il condotto ileale è una buona soluzione per una derivazione urinaria a lungo termine. Ciononostante, più del 48% dei pazienti sviluppano complicanze precoci comprese infezio-

ni del tratto urinario, pielonefriti, deiscenza e stenosi dell'anastomosi uretero-ileale (Nieuwenhuijzen, 2008). Studi con un follow-up a lungo termine hanno evidenziato complicanze dello stoma in più del 24% dei casi e modificazioni funzionali e morfologiche dell'alto tratto urinario in oltre il 30% dei casi (Madersbacher, 2003; Wood, 2004; Neal, 1985). In uno studio condotto su 131 pazienti, con un follow-up medio di 5 anni, il tasso di complicanze aumentava con il passar del tempo, dal 45% a 5 anni al 94% a 15 anni (Madersbacher, 2003).

Derivazioni urinarie cutanee continenti. Un reservoir intestinale detubularizzato a bassa pressione può garantire una derivazione urinaria cutanea continente per autocateterizzazione. A tale scopo possono essere utilizzati pouches gastrici, ileocecali e sigmoidi (Benson, 1999; Gerharz, 2001; Jonsson, 2001). Sebbene la maggior parte dei reservoirs garantiscano una continenza diurna e notturna prossima al 93% (Wiesner, 2006), uno studio retrospettivo su 800 pazienti ha riportato una incidenza di stenosi nel 23.5% dei pazienti con stoma appendicolare e nel 15% dei pazienti con nipple ileale (Wiesner, 2006; Thoeny, 2002).

Derivazione ureterocolica. Le indicazioni a questo tipo di derivazione sono molto limitate a causa della elevata incidenza di infezioni delle alte vie urinarie e dell'alto rischio di sviluppare a lungo termine cancro del colon (Azimuddin, 1999; Gerharz, 2003). Alvo diarroico e incontinenza da urgenza sono effetti locali aggiuntivi di questo tipo di derivazione. Per evitare i suddetti problemi, è possibile interporre un segmento di ileo tra uretere e retto o sigma al fine di aumentare la capacità ed evitare una diretta comunicazione tra urotelio e mucosa colonica, ossia tra urine e feci (Kalble, 1995).

Neovescica ortotopica. Il confezionamento di una vescica ortotopica e sua anastomizzazione all'uretra è ora pratica comune sia negli uomini che nelle donne. Studi recenti hanno dimostrato l'efficacia ed il successo a lungo termine di questa procedura. In molti centri, quando fattibile, essa è la derivazione di scelta per i pazienti sottoposti a cistectomia (Hautmann, 2006; Stein, 2006). Il segmento maggiormente utilizzato a tale scopo è l'ileo terminale, mentre c'è meno esperienza con il colon ascendente, compresi il ceco e il sigma (Hautmann, 2007). La morbidity precoce e tardiva si attesta al 22% dei pazienti che si sottopone a questo tipo di derivazione urinaria (Stein, 2004; Abol-Enein, 2001). Come riportato in due studi su 1054 ed oltre 1300 pazienti, le complicanze a lungo termine più frequenti sono incontinenza diurna e notturna (8-10% e 20-30%, rispettivamente), stenosi dell'anastomosi ureterointestinale (3-18%), ritenzione urinaria (4-12%), alterazioni metaboliche e deficit della vitamina B12 (Stein, 2003; Hautmann, 2006). Infine, da un punto di vista oncologico, uno studio recente ha confrontato l'incidenza di recidive locali in pazienti sottoposti a neovescica e a condotto ileale. Nessuna differenza statisticamente significativa è stata riscontrata in termini di sopravvivenza cancro-correlata (Yossepowitch, 2003), dimostrando che la scelta della neovescica, sia negli uomini che nelle donne, non compromette i risultati oncologici della cistectomia.

QUALITÀ DI VITA

Lo studio della qualità di vita malattia-correlata (HRQL) prende in considerazione le funzioni fisiche, emotive e sociali. Numerosi questionari, come FACT (Functional Assessment of Cancer Therapy)-G (1), EORTC QLQ-C30 (Cella, 1993) e SF (Short Form)-36 (Ware, 1992 e 1995) sono stati validati per valutare la HRQL in pazienti affetti da neoplasia vescicale. Un test psicometrico, come il FACT-BL, dovrebbe essere usato per valutare la morbidity cancro correlata. Sfortunatamente, la maggior parte degli studi non mette in correlazione l'HRQL e le complicanze direttamente correlate alla cistectomia, come l'incontinenza e l'impotenza. Inoltre, importan-

ti variabili, come l'età del paziente, lo stato mentale, il sesso, sono raramente prese in considerazione in questi studi. A causa della variabile tolleranza dei pazienti ai sintomi, risulta difficile determinare l'impatto dei problemi secondari alla cistectomia sulla qualità di vita dei pazienti.

Resta aperto il dibattito circa la derivazione urinaria che meno modifichi la qualità di vita (WHO, 2007). Alcuni studi non hanno evidenziato alcuna differenza (Mansson, 2002; Wright, 2007). Studi più recenti considerano più favorevole la derivazione ortotopica (van der Veen, 1999; Dutta, 2002; Okada, 1997; Gerharz, 1997; Hart, 1999; Hara, 2002; Hardt, 2000; Hobisch, 2001). I parametri che caratterizzano la HRQL rappresentano un fattore prognostico indipendente della sopravvivenza globale (Roychowdhury, 2003). In genere, i pazienti portatori di derivazione continente ottengono migliori risultati in termini di immagine corporea, attività sociale e funzioni fisiche rispetto alle derivazioni non continenti (Hardt, 2000).

Nelle forme tumorali incurabili o metastatiche, l'HRQL è ridotta a causa dei concomitanti disturbi della minzione, sanguinamento e disturbi della vita sociale e sessuale (Fossa, 1989).

CHEMIOTERAPIA PERIOPERATORIA

Trattandosi di una patologia discretamente chemiosensibile, l'uso di chemioterapia perioperatoria è stato preso in considerazione al fine di ridurre il rischio di recidiva e migliorare il decorso clinico del tumore vescicale infiltrante. Molti trials clinici hanno valutato l'efficacia sia della strategia neoadiuvante che di quella adiuvante, ma a causa dei limiti inerenti il disegno e l'esecuzione dei trials, nonché i criteri di arruolamento, i risultati spesso sono stati non conclusivi. In ragione di questi limiti alcune meta analisi hanno cercato di meglio definire il ruolo della chemioterapia perioperatoria nei pazienti con tumore vescicale infiltrante.

Chemioterapia neoadiuvante. Potenzialmente, somministrare la chemioterapia prima dell'intervento può offrire diversi vantaggi. Anzitutto, evita i problemi correlati alla convalescenza post operatoria e le possibili complicanze che possono compromettere una chemioterapia adiuvante (Donat, 2009). In secondo luogo, la chemioterapia neoadiuvante consente di verificare in-vivo la chemio sensibilità di un paziente, e fornire informazioni prognostiche (Rosenberg, 2005). In terzo luogo, può talora produrre una sottostadiazione del tumore, quindi, facilitare una chirurgia o rendere operabili tumori che in partenza non lo sono. Infatti, la chirurgia è particolarmente di aiuto a quei pazienti che rispondono bene alla chemioterapia prima dell'intervento (Herr, 2001).

Soprattutto, vi sono evidenze di livello 1 che dimostrano un vantaggio in termini clinici. I risultati di due ampi trials randomizzati e di una meta analisi su 3005 soggetti hanno dimostrato un importante guadagno in termini di sopravvivenza nel 30-40% dei pazienti che avevano riportato risposte complete alla terapia neoadiuvante basata sul cisplatino, in combinazione con 2 o più farmaci citostatici (International Collaboration of Trialists, 1999; Grossman, 2003; Anonymous, 2005). Quest'ultima, infatti, rappresenta lo "standard of care" nella gestione dei pazienti con tumore vescicale muscolo infiltrante. L'associazione di cisplatino e gemcitabina è meno tossica, pur garantendo risultati clinici simili allo schema MVAC, ma non è mai stata validata in un trial prospettico nel setting neoadiuvante (van der Maase, 2005). Inoltre, una recente analisi retrospettiva di pazienti con tumore vescicale muscolo infiltrante sottoposti a regime neoadiuvante di cisplatino e gemcitabina ha riportato risultati sovrapponibili a quelli di una coorte storica trattata nelle stesse condizioni con MVAC (Dash, 2008).

Chemioterapia adiuvante. Il vantaggio più importante dell'uso di chemioterapia nel postoperatorio è la disponibilità di criteri anatomico patologici che consentano la selezione dei pazienti maggiormente a rischio di recidiva, e di escludere quelli a basso rischio.

Un tema comune ai trials clinici prospettici condotti su pazienti con malattia muscolo infiltrante e/o localmente avanzata (N+) è rappresentato dai limiti nel disegno degli stessi, troppo spesso

sottodimensionati, eterogenei nei criteri di inclusione e nei trattamenti somministrati, e con risultati non significativi (Studer, 1994; Skinner, 1991; Freiha, 1996; Stockle, 1992). Sebbene una meta analisi su 491 pazienti (90% di tutti i pazienti randomizzati nei vari trials di chemioterapia basata sul cisplatino) abbia dimostrato una riduzione del rischio di morte del 25% a favore della chemioterapia (ABC Metaanalysis Collaboration, 2005), questo studio porta con sé tutti i limiti insiti nei trials di cui si compone.

RACCOMANDAZIONI

- La cistectomia radicale è il trattamento di scelta in casi selezionati di malattia non muscolo infiltrante ed in tutti i casi di malattia muscolo infiltrante, in pazienti idonei.
- In corso di cistectomia con intento curativo la linfadenectomia deve essere eseguita sempre e bilateralmente. I linfonodi vanno rimossi in gruppi separati piuttosto che en-bloc. Un maggior numero di linfonodi rimossi garantisce maggiori informazioni sulla stadiazione.
- Tecniche di cistectomia radicale con risparmio anatomico possono essere prese in considerazione solo in casi molto ben selezionati. Questi pazienti vanno informati del rischio oncologico più elevato.
- Prima della cistectomia, il paziente deve essere adeguatamente informato sul tipo di derivazione urinaria. Le diverse opzioni e la decisione finale sono affidate ad un accordo tra paziente e chirurgo.
- Nel caso di derivazioni urinarie con interposizione di intestino, l'utilizzo di ileo terminale o colon è da preferire poiché gravato da minori complicanze a breve e lungo termine. La scelta del segmento intestinale, invece, non influisce sui risultati oncologici. Il trattamento è sempre raccomandato a centri specializzati.
- Una derivazione urinaria ortotopica è indicata in caso di esame estemporaneo negativo delle biopsie uretrali. Questi pazienti vanno avvisati della possibilità di recidive uretrali a lungo termine e della necessità di un lungo monitoraggio.
- La chemioterapia neoadiuvante basata sul platino deve sempre essere presa in considerazione nei pazienti idonei, poiché migliora la sopravvivenza.
- L'uso di chemioterapia adiuvante non ha sostegno nella letteratura scientifica.

Bibliografia

- Abol-Enein H, Ghoneim M.A. Functional results of orthotopic ileal neobladder with serous-lined extramural ureteral reimplantation: experience with 450 patients. *J Urol* 2001;165(5):1427-32.
- Advanced Bladder Cancer (ABC) Metaanalysis Collaboration. Adjuvant chemotherapy in invasive bladder cancer: a systematic review and meta-analysis of individual patient data. *Eur Urol* 2005; 48: 189-99.
- Advanced Bladder Cancer Meta-analysis Collaboration (2003) Neoadjuvant chemotherapy in invasive bladder cancer: a systematic review and meta-analysis. *Lancet* 361: 1927-1934.
- Advanced Bladder Cancer Overview Collaboration. Neoadjuvant chemotherapy for invasive bladder cancer. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2005, Issue 2. Art. No.: CD005246. doi:10.1002/14651858.CD005246.
- Anonymous. Neoadjuvant chemotherapy for invasive bladder cancer. *Cochrane Database Syst Rev* 2005; (2): CD005246.
- Azimuddin K, Khubchandani IT, Stasik JJ, Rosen L, Riether RD. Neoplasia after ureterosigmoidostomy. *Dis Colon Rectum* 1999;42(12):1632-8.
- Barbieri CE, Lee B, Cookson MS, Bingham J, Clark PE, Smith JA Jr, Chang SS. Association of procedure volume with radical cystectomy outcomes in a nationwide database. *J Urol*. 2007 Oct;178(4 Pt 1):1418-21
- Benson MC, Olsson CA. Continent urinary diversion. *Urol Clin North Am* 1999;26(1):125-47.
- Blandy JP et al. (1988) Radical radiotherapy and salvage cystectomy for T2/3 cancer of the bladder. *Prog Clin Biol Res* 260: 447-451
- Bochner BH, Herr HW, Reuter VE. Impact of separate versus en bloc pelvic lymph node dissection on the number of lymph nodes retrieved in cystectomy specimens. *J Urol*. 2001; 166(6):2295-6.
- Borgaonkar S et al. (2002) Radical radiotherapy and salvage cystectomy as the primary management of transitional cell carcinoma of the bladder: results following the introduction of a CT planning technique. *Clin Oncol (R Coll Radiol)* 14: 141-147
- Brown JM (1985) Sensitizers and protectors in radiotherapy. *Cancer* 55: 2222-2228.
- Cella DF, Tulsky DS, Gray G, Sarafian B, Linn E, Bonomi A, Silberman M, Yellen SB, Winicour P, Brannon J et al. The Functional Assessment of Cancer Therapy scale: development and validation of the general measure. *J Clin Oncol* 1993;11(3):570-9.
- Chang SS, Hassan M, Cookson MS, Wells N, Smith JA Jr. Delaying radical cystectomy for muscle invasive bladder cancer results in worse pathological stage. *J Urol* 2003; 170: 1085-7.
- Chauvet B et al. (1996) Concurrent cisplatin and radiotherapy for patients with muscle invasive bladder cancer who are not candidates for radical cystectomy. *J Urol* 156: 1258-1262.
- Cheng L, Neumann RM, Weaver AL, Spotts BE, Bostwick DG. Predicting cancer progression in patient with T1 bladder carcinoma. *J Clin Oncol* 1999; 17: 3182-7.
- Choueiri TK, and Raghavan D. Chemotherapy for muscle-invasive bladder cancer treated with definitive radiotherapy: persisting uncertainties. *Nat Clin Pract Oncol* 2008; 5 (8): 444-454.
- Coppin CM et al. (1996) Improved local control of invasive bladder cancer by concurrent cisplatin and preoperative or definitive radiation. The National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group. *J Clin Oncol* 14: 2901-2907.
- Cresswell J, Roberts JT, Neal DE. Urethral recurrence after radical radiotherapy for bladder cancer. *J Urol*. 2001 Apr;165(4):1135-7.
- Dash A, Pettus JA 4th, Herr HW, Bochner BH, Dalbagni G, Donat SM, Russo P, Boyle MG, Milowsky MI, Bajorin DF. A role for neoadjuvant gemcitabine plus cisplatin in muscle-invasive urothelial carcinoma of the bladder: a retrospective experience. *Cancer*. 2008 Nov 1;113(9):2471-7.
- Davidson SE et al. (1990) Assessment of factors influencing the outcome of radiotherapy for bladder cancer. *Br J Urol* 66: 288-293
- Deliveliotis C, Papatsoris A, Chrisofos M, Dellis A, Liakouras C, Skolarikos A. Urinary diversion in highrisk elderly patients: modified cutaneous ureterostomy or ileal conduit?. *Urology* 2005;66(2): 299-304.
- Donat SM, Shabsigh A, Savage C et al. Potential impact of postoperative early complications on the timing of adjuvant chemotherapy in patients undergoing radical cystectomy: a high-volume tertiary cancer center experience. *Eur Urol* 2008 (Epub ahead of print).
- Duncan W and Quilty PM (1986) The results of a series of 963 patients with transitional cell carcinoma of the urinary bladder primarily treated by radical megavoltage X-ray therapy. *Radiother Oncol* 7: 299-310

Dutta SC, Chang SC, Coffey CS, Smith JA Jr, Jack G, Cookson MS. Health related quality of life assessment after radical cystectomy: comparison of ileal conduit with continent orthotopic neobladder. *J Urol* 2002;168(1):164-7.

Elting LS, Pettaway C, Bekele BN, Grossman HB, Cooksley C, Avritscher EB et al: Correlation between annual volume of cystectomy, professional staffing, and outcomes: a statewide, population-based study. *Cancer* 2005; 104: 975.

Feinstein AR, Sosin DM, and Wells CK. The Will Rogers phenomenon. Stage migration and new diagnostic techniques as a source of misleading statistics for survival in cancer. *NEJM* 1984; 312:1604-1608.

Figueroa AJ, Stein JP, Dickinson M, Skinner EC, Thangathurai D, Mikhail MS, Boyd SD, Lieskovsky G, Skinner DG. Radical cystectomy for elderly patients with bladder carcinoma: an updated experience with 404 patients. *Cancer* 1998;83(1):141-7.

Fossa SD et al. (1993) Bladder cancer definitive radiation therapy of muscle-invasive bladder cancer: a retrospective analysis of 317 patients. *Cancer* 72: 3036-3043

Fossa SD, Aaronson N, Calais da Silva F, Denis L, Newling D, Hosbach G, Kaalhus O. Quality of life in patients with muscle-infiltrating bladder cancer and hormone-resistant prostatic cancer. *Eur Urol* 1989;16(5):335-9.

Freeman JA, Esrig D, Stein JP, Skinner DG. Management of the patient with bladder cancer. Urethral recurrence. *Urol Clin North Am.* 1994 Nov;21(4):645-51.

Freeman JA, Tarter TA, Esrig D, Stein JP, Elmajian DA, Chen SC, Groshen S, Lieskovsky G, Skinner DG. Urethral recurrence in patients with orthotopic ileal neobladders. *J Urol.* 1996 Nov;156(5):1615-9.

Freiha F, Reese J, Torti FM. A randomized trial of radical cystectomy versus radical cystectomy plus cisplatin, vinblastine and methotrexate chemotherapy for muscle invasive bladder cancer. *J Urol* 1996; 155: 495-9.

Gerharz EW, Kohl UN, Melekos MD, Bonfig R, Weingartner K, Riedmiller H. Ten years' experience with the submucosally embedded in situ appendix in continent cutaneous diversion. *Eur Urol* 2001;40(6):625-31.

Gerharz EW, Turner WH, Kalbe T, Woodhouse CR. Metabolic and functional consequences of urinary reconstruction with bowel. *BJU Int* 2003;91(2):143-9.

Gerharz EW, Weingartner K, Dopatka T, Kohl UN, Basler HD, Riedmiller HN. Quality of life after cystectomy and urinary diversion: results of a retrospective interdisciplinary study. *J Urol* 1997;158(3 Pt 1):778-85.

Ghoneim MA, et-Mekresh MM, el-Baz MA, et al: Radical cystectomy for carcinoma of the bladder: Critical evaluation of the results in 1,026 cases. *J Urol* 1997;158:393-399.

Giuliani L, Giberti C, Martorana G, et al: Results of radical cystectomy for primary bladder cancer. Retrospective study of more than 200 cases. *Urology* 1985;26:243-248.

Gogna NK et al. (2006) Efficacy and tolerability of concurrent weekly low dose cisplatin during radiation treatment of localised muscle invasive bladder transitional cell carcinoma: a report of two sequential phase II studies from the Trans Tasman Radiation Oncology Group. *Radiother Oncol* 81: 9-17.

Goodman GB et al. (1981) Conservation of bladder function in patients with invasive bladder cancer treated by definitive irradiation and selective cystectomy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 7: 569-573

Gospodarowicz MK et al. (1991) Bladder cancer: long-term follow-up results of patients treated with radical radiation. *Clin Oncol (R Coll Radiol)* 3: 155-161

Greven KM et al. (1990) Prognostic factors in patients with bladder carcinoma treated with definitive irradiation. *Cancer* 65: 908-912

Grossman HB, Natale RB, Tangen CM et al. Neoadjuvant chemotherapy plus cystectomy compared with cystectomy alone for locally advanced bladder cancer. *N Engl J Med* 2003; 349: 859-66.

Gschwend JE, Dahm P, Fair W.R. Disease specific survival as endpoint of outcome for bladder cancer patients following radical cystectomy. *Eur Urol* 2002;41(4):440-8.

Hagan MP et al. (2003) RTOG 97-06: initial report of a phase I-II trial of selective bladder conservation using TURBT, twice-daily accelerated irradiation sensitized with cisplatin, and adjuvant MCV combination chemotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 57: 665-672.

Hara I, Miyake H, Hara S, Gotoh A, Nakamura I, Okada H, Arakawa S, Kamidono S. Health-related quality of life after radical cystectomy for bladder cancer: a comparison of ileal conduit and orthotopic bladder replacement. *BJU Int* 2002;89(1):10-13.

Hardt J, Filipas D, Hohenfellner R, Egle UT. Quality of life in patients with bladder carcinoma after cystectomy: first results of a prospective study. *Qual Life Res* 2000;9(1):1-12.

Hart S, Skinner EC, Meyerowitz BE, Boyd S, Lieskovsky G, Skinner DG. Quality of life after radical cystectomy for bladder cancer in patients with an ileal conduit, cutaneous or urethral kock pouch. *J Urol* 1999;162(1):77-81.

Hautmann RE, Abol-Enein H, Hafez K, Haro I, Mansson W, Mills RD, Montie JD, Sagalowsky AI, Stein JP, Stenzl A, Studer UE, Volkmer BG. Urinary diversion. *Urology* 2007;69(1 Suppl):17-49.

Hautmann RE, Gschwend JE, de Petriconi RC, Kron M, Volkmer BG. Cystectomy for transitional cell carcinoma of the bladder: results of a surgery only series in the neobladder era. *J Urol*. 2006 Aug;176(2):486-92.

Hautmann RE, Paiss T. Does the option of the ileal neobladder stimulate patient and physician decision toward earlier cystectomy? *J Urol* 1998; 159: 1845-50

Hautmann RE, Stein JP. Neobladder with prostatic capsule and seminal-sparing cystectomy for bladder cancer: a step in the wrong direction. *Urol Clin North Am*. 2005 May;32(2):177-85.

Hautmann RE, Volkmer BG, Schumacher MC, Gschwend JE, Studer UE. Long-term results of standard procedures in urology: the ileal neobladder. *World J Urol* 2006;24(3):305-14.

Herr H, Lee C, Chang S, Lerner S. Bladder Cancer Collaborative Group. Standardization of radical cystectomy and pelvic lymph node dissection for bladder cancer: a collaborative group report. *J Urol* 2004;171: 1823-8.

Herr HW et al. (1983) Planned preoperative cisplatin and radiation therapy for locally advanced bladder cancer. *Cancer* 52: 2205-2208.

Herr HW, Bochner BH, Dalbagni G, Donat SM, Reuter VE, Bajorin DF. Impact of the number of lymph nodes retrieved on outcome in patients with muscle invasive bladder cancer. *J Urol* 2002;167:1295-8.

Herr HW, Donat SM, Bajorin DF. Postchemotherapy surgery in patients with unresectable or regionally metastatic bladder cancer. *J Urol* 2001; 165: 811-4.

Herr HW, Donat SM. Outcome of patients with grossly node positive bladder cancer after pelvic lymph node dissection and radical cystectomy. *J Urol* 2001;165:62-4.

Herr HW, Sogani PC. Does early cystectomy improve the survival of patients with high risk superficial bladder tumors? *J Urol*. 2001 Oct;166(4):1296-9.

Hobisch A, Tosun K, Kinzl J, Kemmler G, Bartsch G, Holtl L, Stenzl A. Life after cystectomy and orthotopic neobladder versus ileal conduit urinary diversion. *Semin Urol Oncol* 2001;19(1):18-23.

Hollenbeck BK, Miller DC, Taub D, Dunn RL, Khuri SF, Henderson WG et al: Identifying risk factors for potentially avoidable complications following radical cystectomy. *J Urol* 2005; 174: 1231.

Holmang S, Hedelin H, Anderstrom C, Holmberg E, Johansson SL. The importance of the depth of invasion in stage T1 bladder carcinoma: a prospective cohort study. *J Urol* 1997; 157: 800-3.

International Collaboration of Trialists (1999) Neoadjuvant cisplatin, methotrexate, and vinblastine chemotherapy for muscle-invasive bladder cancer: a randomised controlled trial. *Lancet* 354: 533-540.

International Collaboration of Trialists. Neoadjuvant cisplatin methotrexate and vinblastine chemotherapy for muscleinvasive bladder cancer: a randomised controlled trial. *International collaboration of trialists. Lancet* 1999; 354: 533-40.

Jahnsen S et al. (1991) Bladder carcinoma-a 20-year review of radical irradiation therapy. *Radiother Oncol* 22: 111-117

James N and Hussain SA (2005) Management of muscle invasive bladder cancer-British approaches to organ conservation. *Semin Radiat Oncol* 15: 19-27.

Jenkins BJ et al. (1988) Reappraisal of the role of radical radiotherapy and salvage cystectomy in the treatment of invasive (T2/T3) bladder cancer. *Br J Urol* 62: 343-346

Jonsson O, Olofsson G, Lindholm E, Tornqvist H. Long-time experience with the Kock ileal reservoir for continent urinary diversion. *Eur Urol* 2001;40(6):632-40.

Kalble T, Busse K, Amelung F, Waldherr R, Berger MR, Edler L, Riedmiller H. Tumor induction and prophylaxis following different forms of intestinal urinary diversion in a rat model. *Urol Res* 1995;23(6):365-70.

Kaufman DS, Winter KA, Shipley WU, Heney NM, Wallace HJ 3rd, Toonkel LM, Zietman AL, Tanguay S, Sandler HM. Phase I-II RTOG study (99-06) of patients with muscle-invasive bladder cancer undergoing transurethral surgery, paclitaxel, cisplatin, and twice-daily radiotherapy followed by selective bladder preservation or radical cystectomy and adjuvant chemotherapy. *Urology*. 2009 Apr;73(4):833-7. Epub 2008 Dec 18.

Kilciler M, Bedir S, Erdemir F, Zeybek N, Erten K, Ozgok Y. Comparison of ileal conduit and transureteroureterostomy with ureterocutaneostomy urinary diversion. *Urol Int* 2006;77(3):245-50.

Konety BR, Allareddy V, Modak S and Smith B: Mortality after major surgery for urologic cancers in specialized urology hospitals: are they any better? *J Clin Oncol* 2006; 24: 2006.

Konety BR, Dhawan V, Allareddy V and Joslyn SA: Impact of hospital and surgeon volume on in-hospital mortality from radical cystectomy: data from the health care utilization project. *J Urol* 2005; 173: 1695.

Kurahashi T, Hara I, Oka N, Kamidono S, Eto H, and Miyake H. Detection of Micrometastases in Pelvic Lymph Nodes in Patients Undergoing Radical Cystectomy for Focally Invasive Bladder Cancer by Real-time Reverse Transcriptase-PCR for Cytokeratin19 and Uroplakin II. *Clin Cancer Res* 2005;11(10): 3773-3777.

Lebret T, Hervé JM, Barré P, Gaudez F, Lugagne PM, Barbagelatta M, Botto H. Urethral recurrence of transitional cell carcinoma of the bladder. Predictive value of preoperative latero-montanal biopsies and urethral frozen sections during prostatocystectomy. *Eur Urol*. 1998;33(2):170-4.

Leissner J, Ghoneim MA, Abol-Enein H, Thuroff JW, Franzaring L, Fisch M, et al. Extended radical lymphadenectomy in patients with urothelial bladder cancer: results of a prospective multicenter study. *J Urol* 2004;171:139-44.

Luft HS, Bunker JP and Enthoven AC: Should operations be regionalized? The empirical relation between surgical volume and mortality. *N Engl J Med* 1979; 301: 1364.

Madersbacher S, Hochreiter W, Burkhard F et al. Radical cystectomy for bladder cancer today - a homogeneous series without neoadjuvant therapy. *J Clin Oncol* 2003; 21: 690-6.

Madersbacher S, Schmidt J, Eberle JM, Thoery HC, Burkhard F, Hochreiter W, Studer UE. Long-term outcome of ileal conduit diversion. *J Urol* 2003;169(3):985-90.

Mahmud SM, Fong B, Fahmy N, Tanguay S, Aprikian AG. Effect of preoperative delay on survival in patients with bladder cancer undergoing cystectomy in Quebec: a population based study. *J Urol*. 2006 Jan;175(1):78-83.

Mameghan H et al. (1992) The management of invasive transitional cell carcinoma of the bladder: results of definitive and preoperative radiation therapy in 390 patients treated at the Prince of Wales Hospital, Sydney, Australia. *Cancer* 69: 2771-2778

Mansson A, Davidsson T, Hunt S, Mansson W. The quality of life in men after radical cystectomy with a continent cutaneous diversion or orthotopic bladder substitution: is there a difference?. *BJU Int* 2002;90(4):386-90.

Masood S, Sriprasad S, Palmer JH et al. T1G3 bladder cancer - indications for early cystectomy. *Int Urol Nephrol* 2004; 36: 41-4.

Moonen L et al. (1998) Muscle-invasive bladder cancer treated with external beam radiotherapy: pre-treatment prognostic factors and the predictive value of cystoscopic re-evaluation during treatment. *Radiother Oncol* 49: 149-155

Neal DE. Complications of ileal conduit diversion in adults with cancer followed up for at least five years. *Br Med J (Clin Res Ed)* 1985;290(6483):1695-7.

Nieuwenhuijzen JA, de Vries RR, Bex A, van der Poel HG, Meinhardt W, Antonini N, Horenblas S. Urinary diversions after cystectomy: the association of clinical factors, complications and functional results of four different diversions. *Eur Urol*, 2008;53(4):834-44.

Okada Y, Oishi K, Shichiri Y, Kakehi Y, Hamaguchi A, Tomoyoshi T, Yoshida O. Quality of life survey of urinary diversion patients: comparison of continent urinary diversion versus ileal conduit. *Int J Urol* 1997;4(1):26-31.

Orsola A, Trias I, Raventos CX et al. Initial high-grade T1 urothelial cell carcinoma: feasibility and prognostic significance of lamina propria invasion microstaging (T1a/b/c) in BCG-treated and BCG-Non-treated patients. *Eur Urol* 2005; 48: 231-8.

Parkinson M, et al. Gross examination of bladder specimens. *J Clin Pathol* 1991; 44(11): 890-5.

Pollack A et al. (1994) Muscle-invasive bladder cancer treated with external beam radiotherapy: prognostic factors. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 30: 267-277

Pollack A et al. (1994) Preoperative radiotherapy for muscle-invasive bladder carcinoma: long term follow-up and prognostic factors for 338 patients. *Cancer* 74: 2819-2827

Poulsen AL, Horn T, Steven K. Radical cystectomy: extending the limits of pelvic lymph node dissection improves survival for patients with bladder cancer confined to the bladder wall. *J Urol* 1998;160(6 Pt 1):2015-9.

Raghavan D et al. (1985) Initial intravenous cisplatin therapy: improved management for invasive high risk bladder cancer? *J Urol* 133: 399-402.

Richie JP. Surgery for invasive bladder cancer. *Hematol Oncol Clin North Am* 1992;6:129-45.

Rödel C et al. (2002) Combined-modality treatment and selective organ preservation in invasive bladder cancer: long-term results. *J Clin Oncol* 20: 3061-3071.

Rosenberg JE, Carroll PR, Small EJ. Update on chemotherapy for advanced bladder cancer. *J Urol* 2005; 174 : 14-20 9.

Roychowdhury DF, Hayden A, Liepa AM. Health-related quality-of-life parameters as independent prognostic factors in advanced or metastatic bladder cancer. *J Clin Oncol* 2003;21(4):673-8.

Sanchez-Ortiz RF, Huang W, Mick R, Van Arsdalen KN, Wein AJ, Malkowicz SB. An interval longer than 12 weeks between the diagnosis of muscle invasion and cystectomy is associated with worse outcome in bladder carcinoma. *J Urol* 2003; 169: 110-5.

Schierl R et al. (1995) Long-term platinum excretion in patients treated with cisplatin. *Cancer Chemother Pharmacol* 36: 75-78.

Schrag D, Mitra N, Xu F, Rabbani F, Bach PB, Herr H et al: Cystectomy for muscle-invasive bladder cancer: patterns and outcomes of care in the Medicare population. *Urology* 2005; 65: 1118.

Sengelov L et al. (2002) Neoadjuvant chemotherapy with cisplatin and methotrexate in patients with muscle-invasive bladder tumours. *Acta Oncol* 41: 447-456.

Shearer RJ et al. (1988) Adjuvant chemotherapy in T3 carcinoma of the bladder-a prospective trial: preliminary report. *Br J Urol* 62: 558-564.

Shelley MD, Barber J, Wilt T, Mason, MD. Surgery versus radiotherapy for muscle invasive bladder cancer (Cochrane review). In: *The Cochrane Library*, Issue 4, 2001. Chichester, UK: John Wiley and Sons Ltd.

Shipley WU et al. (1987) Treatment of invasive bladder cancer by cisplatin and radiation in patients unsuited for surgery. *JAMA* 258: 931-935.

Shipley WU et al. (1998) Phase III trial of neoadjuvant chemotherapy in patients with invasive bladder cancer treated with selective bladder preservation by combined radiation therapy and chemotherapy: initial results of Radiation Therapy Oncology Group 89-03. *J Clin Oncol* 16: 3576-3583.

Skinner DG, Daniels JR, Russell CA et al. The role of adjuvant chemotherapy following cystectomy for invasive bladder cancer: a prospective comparative trial. *J Urol* 1991; 145: 459-64.

Skinner DG, Lieskovsky G: Contemporary cystectomy with pelvic node dissection compared to preoperative radiation therapy plus cystectomy in management of invasive bladder cancer. *J Urol* 1984;131:1069-1072.

Smaaland R et al. (1991) Radical radiation treatment of invasive and locally advanced bladder carcinoma in elderly patients. *Br J Urol* 67: 61-69.

Smits G, Schaafsma E, Kiemeny L, Caris C, Debruyne F, Witjes JA. Microstaging of pT1 transitional cell carcinoma of the bladder: identification of subgroups with distinct risks of progression. *Urology* 1998; 52: 1009-13.

Solsona E, Iborra I, Rubio J, Casanova J, Almenar S. The optimum timing of radical cystectomy for patients with recurrent high-risk superficial bladder tumour. *BJU Int* 2004; 94 : 1258-62.

Stein J., Dunn MD, Quek ML, Miranda G, Skinner DG. The orthotopic T pouch ileal neobladder: experience with 209 patients. *J Urol* 2004;172(2):584-7.

Stein JP, Lieskovsky G, Cote R, et al: Radical cystectomy in the treatment of invasive bladder cancer: Long-term results in 1,054 patients. *J Clin Oncol* 2001;19:666-675.

Stein JP, Penson DF, Cai J, Miranda G, Skinner EC, Dunn MA, Groshen S, Lieskovsky G, Skinner DG. Radical cystectomy with extended lymphadenectomy: evaluating separate package versus en bloc submission for node positive bladder cancer. *J Urol*. 2007; 177(3):876-81.

Stein JP, Penson DF. Invasive T1 bladder cancer: indications and rationale for radical cystectomy. *BJU Int*. 2008; 102(3):270-5.

Stein JP, Skinner DG. Radical cystectomy for invasive bladder cancer: long-term results of a standard procedure. *World J Urol* 2006;24(3):296-304.

Stein JP, Skinner DG. Results with radical cystectomy for treating bladder cancer: a 'reference standard' for high-grade, invasive bladder cancer. *BJU Int* 2003;92(1):12-7.

Stenzl A. Bladder substitution. *Curr Opin Urol* 1999;9(3):241-5.

Steven K and Poulsen AL. Radical Cystectomy and Extended Pelvic Lymphadenectomy: Survival of Patients With Lymph Node Metastasis Above the Bifurcation of the Common Iliac Vessels Treated With Surgery Only. *J Urol*. 2007; 178: 1218-1224.

Stockle M, Meyenburg W, Welk S et al. Advanced bladder cancer (stages pT3b, pT4a, pN1 and pN2): improved survival after radical cystectomy and 3 adjuvant cycles of chemotherapy. Results of a controlled prospective study. *J Urol* 1992; 148: 302-6.

Studer U, Bacchi M, Biederman C et al. Adjuvant cisplatin chemotherapy following cystectomy for bladder cancer: results of a prospective randomized trial. *J Urol* 1994; 152: 81-4.

Tanrikut C, McDougal WS. Acid-base and electrolyte disorders after urinary diversion. *World J Urol* 2004;22(3):168-71.

Tester W et al. (1993) Combined modality program with possible organ preservation for invasive bladder carcinoma: results of RTOG protocol 85-12. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 25: 783-790.

Thoeny HC, Sonnenschein MJ, Madersbacher S, Vock P, Studer U.E. Is ileal orthotopic bladder substitution with an afferent tubular segment detrimental to the upper urinary tract in the long term? *J Urol* 2002;168(5):2030-4.

van der Veen JH, van Andel G, Kurth KH. Quality-of-life assessment in bladder cancer. *World J Urol* 1999;17(4):219-24.

Vieweg J, Gschwend JE, Herr HW, Fair WR. Pelvic lymph node dissection can be curative in patients with node positive bladder cancer. *J Urol* 1999;161:449-54.

von der Maase H, Sengelov L, Roberts JT et al. Long-term survival results of a randomized trial comparing gemcitabine plus cisplatin, with methotrexate, vinblastine, doxorubicin, plus cisplatin in patients with bladder cancer. *J Clin Oncol* 2005; 23: 4602-8.

Waehre H, Ous S, Klevmark B, et al: A bladder cancer multi-institutional experience with total cystectomy for muscle-invasive bladder cancer. *Cancer* 1993;72:3044-3051.

Ware JE Jr, Keller SD, Gandek B, Brazier JE, Sullivan M. Evaluating translations of health status questionnaires. Methods from the IQOLA project. International Quality of Life Assessment. *Int J Technol Assess Health Care* 1995;11(3):525-51.

Ware JE Jr, Sherbourne CD. The MOS 36-item short-form health survey (SF-36). I. Conceptual framework and item selection. *Med Care* 1992;30(6):473-83.

Whitmore WF (1980) Integrated irradiation and cystectomy for bladder cancer. *Br J Urol* 52: 1-9.

Wiesner C, Bonfig R, Stein R, Gerharz EW, Pahernik S, Riedmiller H, Thuroff J.W. Continent cutaneous urinary diversion: long-term follow-up of more than 800 patients with ileocecal reservoirs. *World J Urol* 2006;24(3):315-8.

Wiesner C, Stein R, Pahernik S, Hahn K, Melchior SW, Thuroff JW. Long-term followup of the intussuscepted ileal nipple and the in situ, submucosally embedded appendix as continence mechanisms of continent urinary diversion with the cutaneous ileocecal pouch (Mainz pouch I). *J Urol* 2006;176(1):155-9.

Wishnow KI, Levinson AK, Johnson DE, et al: Stage B (P2/3A/NO) transitional cell carcinoma of bladder highly curable by radical cystectomy. *Urology* 1992;39:12-16.

Wood DN, Allen SE, Hussain M, Greenwell TJ, Shah P.J. Stomal complications of ileal conduits are significantly higher when formed in women with intractable urinary incontinence. *J Urol* 2004;172: 2300-3.

World Health Organization (WHO) Consensus Conference on Bladder Cancer, Hautmann RE, Abol-Enein H, Hafez K, Haro I, Mansson W, Mills RD, Montie JD, Sagalowsky AI, Stein JP, Stenzl A, Studer UE, Volkmer BG. Urinary diversion. *Urology* 2007;69(1 Suppl):17-49.

Wright JL, Porter MP. Quality-of-life assessment in patients with bladder cancer. *Nat Clin Pract Urol* 2007;4(3):147-54.

Yossepowitch O, Dalbagni G, Golijanin D, Donat SM, Bochner BH, Herr HW, Fair WR, Russo P. Orthotopic urinary diversion after cystectomy for bladder cancer: implications for cancer control and patterns of disease recurrence. *J Urol* 2003;169(1):177-81.

Yu WS et al. (1985) Bladder carcinoma: experience with radical and preoperative radiotherapy in 421 patients. *Cancer* 56: 1293-1299.

Zietman AL et al. (1993) The combination of cisplatin based chemotherapy and radiation in the treatment of muscle-invasive transitional cell cancer of the bladder. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 27: 161-170.

Tumore vescicale metastatico e Chemioterapia

La prima localizzazione extravesicale del cancro vescicale è tipicamente ai linfonodi pelvici, ma per via linfatica od ematica sono spesso raggiunte altre sedi, più frequentemente ossa e polmoni, ma anche fegato e cervello. La prognosi è infausta e le terapie eccezionalmente sono curative. La sopravvivenza mediana continua a non superare i 12-14 mesi.

Rispetto ad altre neoplasie solide maligne, il tumore a cellule transizionali è notevolmente chemiosensibile, anche in fase avanzata ed in presenza di metastasi a distanza. Diversi studi clinici di fase II e III di polichemioterapia hanno riportato delle risposte anche > 50%, sebbene per la maggior parte solo parziali.

PRIMA LINEA

Singolo agente

Tra i farmaci più datati, cisplatino e metotrexate sono quelli che, se somministrati da soli, hanno dimostrato una buona efficacia contro il tumore uroteliale metastatico, fino al raggiungimento del 30% di risposte obiettive. Doxorubicina, 5-fluorouracile, vinblastina, ifosfamide e mitomicina C, hanno invece prodotto risultati inferiori, con risposte pari al 13-21% (Shiple, 2004; Merrin, 1978). Il carboplatino è il composto al platino più frequentemente testato dopo il cisplatino, in quanto meno nefrotossico, ma se somministrato da solo, dà risposte deludenti (Trump, 1990). A metà degli anni '90, alcuni studi hanno riportato risultati interessanti nel carcinoma uroteliale metastatico, utilizzando farmaci allora più nuovi, quali i taxani (paclitaxel e docetaxel) e la gemcitabina. In particolare il paclitaxel sembra avere la migliore attività come singolo agente nel trattamento del carcinoma vescicale avanzato con risposte cliniche, in studi di fase II, nel 42% dei pazienti e, addirittura, risposte complete nel 27% dei casi (Roth, 1994); risultati simili si sono ottenuti con il docetaxel: risposte cliniche nel 38% dei casi (de Wit, 1998). Anche la gemcitabina ha riportato buoni risultati nel trattamento del carcinoma metastatico, anche come agente di

seconda linea: risposte cliniche nel 23-29% e complete nel 4-13% dei pazienti (Moore, 1997; Stadler, 1998).

Polichemioterapia

Lo schema terapeutico M-VAC (metotrexate, vinblastina, doxorubicin, cisplatino) ha rappresentato il trattamento di riferimento fino alla fine degli anni '90. Questa combinazione ha frequentemente dato ottimi risultati con risposte cliniche in oltre il 70% dei casi, di cui, risposte complete nel 35% dei pazienti, e sopravvivenze globali di 10-16 mesi a seconda delle casistiche, ma con tossicità elevate, talora mortali (Sternberg, 1985, 1989; Tannok, 1989; Boutan-Laroze, 1991; Igawa, 1994).

Diversi trials clinici hanno confermato la superiorità dello schema M-VAC rispetto ad altre combinazioni, come per esempio CMV (metotrexate, vinblastina, cisplatino) (Harker, 1985), e il CISCA (cisplatino, ciclofosamide, doxorubicina) (Loehrer, 1992; Logothetis, 1990). Infine, l' EORTC (European Organization for Research and Treatment of Cancer) ha provato a potenziare l'effetto del M-VAC, utilizzando formulazioni ad alto dosaggio, in associazione al granulocyte-colony stimulating factor (G-CSF). Sfortunatamente, il regime potenziato non ha dato i risultati sperati (Sternberg, 2001).

Negli ultimi anni, ha riscosso notevole consenso l'impiego dell'associazione tra cisplatino e gemcitabina per il trattamento del tumore uroteliale metastatico. Tre studi di fase II hanno esplorato questa combinazione riportando risultati sovrapponibili a quelli ottenuti con lo schema M-VAC (Von der Maase, 1999; Kaufman, 2000; Moore, 1999), aprendo così la strada ad un trial clinico randomizzato di fase III, a cui hanno partecipato oltre 400 pazienti, che ha dimostrato l'equivalenza dei due schemi terapeutici in termini di efficacia clinica, attribuendo però alla combinazione gemcitabina + cisplatino una ridotta tossicità (neutropenia e mucositi) e maggiore tollerabilità (Von der Maase, 2000). A seguito di questi risultati è piuttosto unanime tra gli oncologi il consenso nel considerare la combinazione gemcitabina + cisplatino lo "standard of care" per i pazienti con tumore vescicale metastatico.

SECONDA LINEA

La disponibilità di una ampia varietà di farmaci per il trattamento del carcinoma uroteliale avanzato consente, almeno nei pazienti idonei, un trattamento di seconda linea. Tuttavia, l'utilizzo dei classici farmaci visti sin'ora ha portato a risposte che complessivamente non superano il 20% dei casi. Più interessanti si mostrano i farmaci di nuova generazione, quale il Pemetrexed, agente citotossico impiegato nei tumori polmonari e nei mesoteliomi, la cui efficacia è stata valutata in seconda linea nei tumori vescicali in un trial di fase II che ha riportato risposte nel 28% dei casi con un buon profilo di tossicità ed una sopravvivenza media di 9.6 mesi (Sweeney, 2006). Un altro agente molto interessante è la Vinflunina, che è stata già testata come terapia di seconda linea riportando risposte nel 18% dei casi e sopravvivenza media di 6.6 mesi (Culine, 2006). Va peraltro tenuto presente, al di là dell'attività di alcuni nuovi farmaci, che la somministrazione di una seconda linea di chemioterapia nei pazienti con carcinoma della vescica metastatico, è sempre molto difficile in quanto il loro performance status è tale da far frequentemente considerare l'ulteriore chemioterapia solo un accanimento terapeutico.

CATEGORIE PECULIARI DI PAZIENTI

Pazienti M0

Pazienti con ripresa locale di malattia o con malattia primitiva inoperabile, in assenza di metastasi, rappresentano una categoria a prognosi più favorevole rispetto ai pazienti che hanno già sviluppato metastasi a distanza (Bellmunt, 2002). Sono pazienti che beneficiano particolarmente dei regimi basati sul platino, fino ad ottenere sopravvivenze globali a 5 anni del 10-30% (Von der Maase, 2000); in ogni caso, quasi tutti i pazienti recidiveranno e moriranno di tumore vescicale. Nei pazienti responders alla chemioterapia è possibile prendere in considerazione la opportunità di una terapia locale (chirurgia o radioterapia), poiché alcuni studi evidenziano la tendenza di questi pazienti a recidivare localmente piuttosto che a distanza (Herr, 2001; Sweeney, 2003; Fossa, 1996; Dimopoulos, 1994). La chirurgia può essere presa in considerazione quando la risposta alla terapia sistemica è tale da consentire una adeguata resezione. In questi casi, la sopravvivenza media a 5 anni può superare il 30% (Herr, 2001). Sebbene non vi siano studi comparativi, i dati del Memorial Sloan Kettering, New York, dimostrano che tra i pazienti responders si comportano decisamente meglio quelli che optano per una cistectomia post-chemioterapia (Sweeney, 2003). Limitati sono i dati relativi a pazienti che optano per una radioterapia dopo aver ottenuto risposte complete con la chemioterapia sistemica.

Pazienti non complianti al platino

Di tutti i pazienti con tumore vescicale metastatico, almeno un terzo non è candidabile a trattamenti che prevedono il cisplatino. L'età media di questi pazienti si aggira sui 70 anni, ed oltre ai problemi età correlati (vedi in seguito), alcuni pazienti possono avere insufficienza renale correlata alla patologia stessa, mentre patologie respiratorie e cardiovascolari sono spesso associate al fumo, che è il principale fattore di rischio nello sviluppo del tumore uroteliale. Infine, pazienti con un performance status basso (ECOG PS > 1) sono pessimi candidati al cisplatino (Lorusso, 2005). Quindi, in questa categoria di pazienti, è stato preso in considerazione il carboplatino che è meno nefrotossico e meglio tollerato. In aggiunta al carboplatino sono stati spesso impiegati anche i taxani che non hanno escrezione renale. Dai pochi studi condotti, generalmente su piccole popolazioni di pazienti, risulta che la combinazione carboplatino e gemcitabina produce delle risposte nel 36-42% dei casi (9% complete), risultato simile a quello che si ottiene con il trattamento con paclitaxel o docetaxel, ma con minore tossicità (Linardou, 2004; Dimopoulos, 1998; Vaughn, 2002; Yang, 2000, Dogliotti, 2007). In conclusione, in questa categoria di pazienti, ci sono delle valide alternative al cisplatino, come conferma un recente studio di fase II di chemioterapia sequenziale con adriamicina-gemcitabina e paclitaxel-carboplatino, in pazienti con modesta insufficienza renale (clearance della creatinina 30-60 ml/min). Tali pazienti, infatti, tollerano bene lo schema terapeutico a fronte di risposte cliniche nel 56% dei casi (Galsky, 2007).

Pazienti anziani

L'uso di cisplatino può essere problematico per pazienti anziani che hanno insufficienza renale età correlata ed altre comorbidità che precludono una adeguata idratazione. Per queste ragioni i pazienti anziani sono in minima parte inclusi nei trials clinici come quelli visti sin'ora e le informazioni riguardo ai risultati clinici e alla tollerabilità degli schemi terapeutici sono limitate (Raghavan, 2004). Pazienti di età > 70 anni, quando sottoposti a trattamenti con platino, vanno più frequentemente incontro a neutropenia (grado 3/4) e tossicità renale rispetto ai pazienti più giovani; pazienti con PS < 2 e Emoglobina \geq 10g/dL hanno sopravvivenza media di 13.9 mesi,

rispetto ai 5 mesi dei pazienti con PS \geq 2 e Emoglobina $<$ 10g/dL (Bamias, 2005). Un farmaco che si dimostra molto ben tollerato, pur garantendo risposte cliniche nel 45.5% dei pazienti over 70, è la gemcitabina in monoterapia (Castagneto, 2004). In conclusione, laddove le condizioni cliniche lo permettono, ai pazienti anziani vanno proposti gli stessi regimi terapeutici dei pazienti più giovani; negli altri casi la gemcitabina da sola è una opzione da prendere in considerazione.

RACCOMANDAZIONI

- Nei pazienti idonei, il trattamento di prima linea deve essere una polichemioterapia contenente il cisplatino.
- Il carboplatino in associazione, o altri agenti da soli, sono indicati in pazienti non idonei al cisplatino.
- Il trattamento di seconda linea prevede l'uso di singoli agenti, ma solo se il performance status è buono.

Bibliografia

- Bamias A, Efstathiou E, Mouloupoulos L A et al. The outcome of elderly patients with advanced urothelial carcinoma after platinum-based combination chemotherapy. *Ann Oncol* 2005; 16: 307-313.
- Bellmunt J, Albanell J, Paz-Ares L et al. Pretreatment prognostic factors for survival in patients with advanced urothelial tumors treated in a phase I/II trial with paclitaxel, cisplatin, and gemcitabine. *Cancer* 2002; 95: 751-757.
- Boutan-Laroze A, Mahjoubi M, Droz JP et al. MVAC (methotrexate, vinblastine, doxorubicin, and cisplatin) for advanced carcinoma of the bladder. *Eur J Cancer* 1991; 27: 1690-1694.
- Castagneto B, Zai S, Marengo D et al. Single-agent gemcitabine in previously untreated elderly patients with advanced bladder carcinoma: response to treatment and correlation with the comprehensive geriatric assessment. *Oncology* 2004; 67: 27-32.
- Culine S, Theodore C, De Santis M et al. A phase II study of vinflunine in bladder cancer patients progressing after first-line platinum-containing regimen. *Br J Cancer* 2006; 94: 1395-1401.
- de Wit R, Kruit WH, Stoter G et al. Docetaxel (Taxotere): an active agent in metastatic urothelial cancer: results of a phase II study in non-chemotherapy pretreated patients. *Br J Cancer* 1998; 78: 1342-1345.
- Dimopoulos MA, Deliveliotis C, Mouloupoulos LA et al. Treatment of patients with metastatic urothelial carcinoma and impaired renal function with single-agent docetaxel. *Urology* 1998; 52: 56-60.
- Dimopoulos MA, Finn L, Logothetis CJ. Patterns of failure and survival of patients with metastatic urothelial tumors relapsing after cis-platinum-based chemotherapy. *J Urol* 1994; 151: 598-600.
- Dogliotti L, Carteni G., Siena S. et al. Gemcitabine plus Cisplatin versus Gemcitabine plus Carboplatin as first line chemotherapy in advanced transitional cell carcinoma of the urothelium: results of a randomized phase 2 trial. *Eur Urol*. 2007, 52, 134-141.
- Fossa SD, Sternberg C, Scher HI et al. Survival of patients with advanced urothelial cancer treated with cisplatin-based chemotherapy. *Br J Cancer* 1996; 74: 1655-1659.
- Galsky MD, Iasonos A, Mironov S, Scattergood J, Boyle MG, Bajorin DF. Phase II trial of dose-dense doxorubicin plus gemcitabine followed by paclitaxel plus carboplatin in patients with advanced urothelial carcinoma and impaired renal function. *Cancer*. 2007. 1;109(3):549-55.
- Harker WG, Meyers FJ, Freiha FS et al. Cisplatin, methotrexate, and vinblastine (CMV): an effective chemotherapy regimen for metastatic transitional cell carcinoma of the urinary tract-A Northern California Oncology Group Study. *J Clin Oncol* 1985; 3: 1463-1470.
- Herr HW, Donat SM, Bajorin DF. Post-chemotherapy surgery in patients with unresectable or regionally metastatic bladder cancer. *J Urol* 2001; 165: 811-814.
- Igawa M, Ohkichi T, Ueda M et al. Usefulness and limitations of methotrexate, vinblastine, doxorubicin, and cisplatin for the treatment of advanced urothelial cancer. *J Urol* 1994; 144: 662-665.
- Kaufman D, Raghavan D, Carducci M et al. Phase II trial of gemcitabine plus cisplatin in patients with metastatic urothelial cancer. *J Clin Oncol* 2000; 18: 1921-1927.
- Linardou H, Aravantinos G, Efstathiou E et al. Gemcitabine and carboplatin combination as first-line treatment in elderly and unfit for cisplatin-based chemotherapy patients with advanced bladder carcinoma. A phase II study of the Hellenic Co-operative Oncology Group. *Urology* 2004; 64: 479-484.
- Loehrer Sr PJ, Einhorn LH, Elson PJ et al. A randomized comparison of cisplatin alone or in combination with methotrexate, vinblastine, cisplatin and doxorubicin in patients with metastatic urothelial carcinoma: a cooperative group study. *J Clin Oncol* 1992; 10: 1066-1073.
- Logothetis CJ, Dexeus FH, Finn I et al. A retrospective randomized trial comparing MVAC and CISCA chemotherapy for patients with metastatic urothelial tumors. *J Clin Oncol* 1990; 8: 1050-1055.
- Lorusso V, Crucitta E, Silvestris N et al. Randomised, open-label, phase II trial of paclitaxel, gemcitabine and cisplatin versus gemcitabine and cisplatin as first-line chemotherapy in advanced transitional cell carcinoma of the urothelium. *Oncol Rep* 2005; 13: 283-287.
- Merrin C. Treatment of advanced bladder cancer with cis-diamminedichloroplatinum II: a pilot study. *J Urol* 1978; 119: 493-498.
- Moore MJ, Tannock I, Ernst S et al. Gemcitabine: a promising new agent in the treatment of advanced urothelial cancer. *J Clin Oncol* 1997; 15: 3441-3445.

Moore MJ, Winquist EW, Murray N, et al. Gemcitabine plus cisplatin, an active regimen in advanced urothelial cancer: a phase II trial of the National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group. *J Clin Oncol* 1999; 17: 2876-81.

Raghavan D, Skinner E. Genitourinary cancer in the elderly. *Semin Oncol* 2004; 31: 249-263.

Roth B, Dreicer R, Einhorn LH et al. Significant activity of paclitaxel in advanced transitional-cell carcinoma of the urothelium: a phase II trial of the Eastern Cooperative Oncology Group. *J Clin Oncol* 1994; 12: 2264-2270.

Shipley WU, Kaufman DS, McDougal WS et al. Cancers of the genitourinary system. In DeVita VT, Hellman S, Rosenberg SA (eds), *Cancer: Practice and Principles in Oncology*. 7th edn. Philadelphia, PA: Lippincott and Williams 2004.

Stadler WM, Kuzel T, Roth B et al. Phase II study of single-agent gemcitabine in previously untreated patients with metastatic urothelial cancer. *J Clin Oncol* 1997; 15: 3394-3398.

Sternberg CN, de Mulder PHM, Schornagel JH et al. Randomized phase III trial of the high-dose-intensity methotrexate, vinblastine, doxorubicin, and cisplatin (MVAC) chemotherapy and recombinant human granulocyte colony-stimulating factor versus classic MVAC in advanced urothelial tract tumors: European Organization for Research and Treatment of Cancer Protocol No. 30924. *J Clin Oncol* 2001; 19: 2638-2646.

Sternberg CN, Yagoda A, Scher H et al. Methotrexate, vinblastine, doxorubicin, and cisplatin for advanced transitional cell carcinoma of the urothelium: efficacy and patterns of response and relapse. *Cancer* 1989; 64: 2448-2458.

Sternberg CN, Yagoda A, Scher H et al. Preliminary results of MVAC (methotrexate, vinblastine, doxorubicin, and cisplatin) for advanced transitional cell carcinoma of the urothelium. *J Urol* 1985; 133: 403-407.

Sweeney CJ, Roth BJ, Kabbinnar FF et al. Phase II study of pemetrexed for second-line treatment of transitional cell carcinoma of the urothelium. *J Clin Oncol* 2006; 24: 3451-3457.

Sweeney P, Millikan R, Donat M et al. Is there a therapeutic role for postchemotherapy retroperitoneal lymph node dissection in metastatic transitional cell carcinoma of the bladder? *J Urol* 2003; 169: 2113-2117.

Tannok I, Gospodarawicz M, Connolly J, Jewett M. MVAC (methotrexate, vinblastine, doxorubicin, and cisplatin) chemotherapy for transitional cell carcinoma: the Princess Margaret Hospital experience. *J Urol* 1989; 142: 289-292.

Trump DL, Elson P, Madajewicz S et al. Randomized phase II evaluation of carboplatin and CHIP in advanced transitional cell carcinoma of the urothelium. The Eastern Cooperative Oncology Group. *J Urol* 1990; 144: 1119-1122.

Vaughn D, Manola J, Dreicer R et al. Phase II study of paclitaxel in patients with advanced carcinoma of the urothelium and renal dysfunction (E2896). *Cancer* 2002; 95: 1022-1027.

Von der Maase H, Andersen L, Crino L et al. Weekly gemcitabine and cisplatin combination therapy in patients with transitional cell carcinoma of the urothelium: a phase II clinical trial. *Ann Oncol* 1999; 10: 1461-1465.

Von der Maase H, Hansen SW, Roberts JT et al. Gemcitabine and cisplatin versus methotrexate, vinblastine, doxorubicin and cisplatin in advanced or metastatic bladder cancer: results of a large, randomized, multinational, multicenter, phase III study. *J Clin Oncol* 2000; 17: 3068-3077.

Yang MH, Yen CC, Chang YH et al. Single-agent paclitaxel as a first-line therapy in advanced urothelial carcinomas: its efficacy and safety in patients even with pretreatment renal insufficiency. *Jpn J Clin Oncol* 2000; 310: 547-552.

Capitolo 5

CALCOLOSI DELL'URETERE

C. Scoffone, C. M. Cracco

Fattori da considerare nella scelta dell'approccio clinico-terapeutico al paziente con calcolosi uretrale

1. PRESENTAZIONE CLINICA

- a. paziente paucisintomatico (colica reno-ureterale unica o ricorrente ben dominata dalla terapia medica), senza evidenza di situazioni cliniche complicanti: infezione urinaria, insufficienza o peggioramento della funzione renale, idronefrosi e/o spandimento perirenale all'ecografia;
- b. paziente sintomatico con evidenza di fattori clinici complicanti: coliche reno-ureterali recidivanti e sintomatologia neurovegetativa non dominabili dalla terapia medica, febbre con o senza brivido (con leucocitosi neutrofila e PCR aumentata), macroematuria, idroureteronefrosi severa e/o falda perirenale all'ecografia, insufficienza renale.

2. TIPOLOGIA DEL PAZIENTE

- a. adulto
- b. donna gravida
- c. bambino

3. SEDE DEL CALCOLO URETERALE

- a. uretere prossimale (sopra l'articolazione sacroiliaca).
- b. uretere medio (a livello dell'articolazione sacroiliaca).
- c. uretere distale (sotto l'articolazione sacroiliaca).

4. DIMENSIONI DEL CALCOLO URETERALE

- a. <10 mm (<5 mm per osservazione e terapia medica).
- b. >10 mm.

5. COMPOSIZIONE DEL CALCOLO URETERALE

- a. cistina e brushite (i più resistenti alla litotrissia).
- b. acido urico (potenziamento del risultato con terapia medica).
- c. altro.

Per la valutazione di sede e dimensioni del calcolo (peraltro i principali fattori predittivi di un'eventuale espulsione spontanea) la diagnostica per immagini prevede l'indagine ecografica e la TC, senza mezzo di contrasto (nei bambini con o senza sedazione, livello IV) o con mezzo di contrasto. La radiografia diretta renovescicale non è più considerata utile (anche se viene quasi sempre eseguita) (livello III). L'ecografia è l'unica diagnostica per immagini ammessa in gravidanza (livello Ia).

Opzioni terapeutiche per il paziente con calcolosi uretrale

- A1. Osservazione.
- A2. Terapia medica espulsiva.

- B1. Litotrissia extracorporea (ESWL).
- B2. Ureterosopia retrograda (URS) con litotrissia endoscopica.

- C1. Ureterosopia percutanea anterograda.
- C2. Chirurgia laparoscopica.
- C3. Chirurgia a cielo aperto.

ANALISI DELLE VARIE OPZIONI TERAPEUTICHE

LIVELLI DI EVIDENZA

Ia: evidenza ottenuta da meta-analisi di studi randomizzati.

Ib: evidenza ottenuta da almeno uno studio randomizzato.

IIa: evidenza ottenuta da almeno uno studio controllato ben redatto non randomizzato.

IIb: evidenza ottenuta da almeno uno studio controllato sperimentale di altro tipo e ben redatto.

III: evidenza ottenuta da studi non sperimentali ben redatti (studi comparativi, studi di correlazione e case report).

IV: evidenza ottenuta da report di commissioni di esperti, o da opinioni o esperienze cliniche di esperti qualificati.

A1. OSSERVAZIONE

Proponibile per qualsiasi tipologia di paziente (in particolare nel paziente pediatrico e nella donna in gravidanza) e per qualsiasi sede del calcolo, in assenza di fattori complicanti (livello Ia):

- **opzione di prima scelta** per calcoli ureterali <5 mm (espulsione spontanea nel 68% dei casi)
- **da considerare** per calcoli di diametro compreso tra 5-10 mm (espulsione spontanea nel 47% dei casi).
- Rivalutazione clinica ematochimica ed ecografica periodica, per valutare la posizione del calcolo, la presenza di idronefrosi e la comparsa di infezione (livello IV).
- Nelle donne gravide, nelle quali i calcoli sintomatici sono presenti nell'80-90% nel secondo e terzo trimestre e l'espulsione spontanea è più probabile (70-80%, **livello Ia**) riposo, idratazione graduale e analgesia sono il trattamento di prima linea (**livello IV**).
- Nei bambini sono d'obbligo l'urocoltura (**livello IIa**) e l'esclusione di difetti metabolici (presenti in più del 50% dei casi, **livello IIa**) o di malformazioni anatomiche dell'apparato urinario come il reflusso vescico-ureterale, l'ostruzione del giunto pielo-ureterale o la vescica neurologica (circa 30% dei casi, **livello IV**). Anche nei bambini l'espulsione spontanea è più probabile che nell'adulto (**livello IV**).
- Il trattamento attivo è indicato nel caso di mancata espulsione del calcolo, ostruzione persistente o coliche subentranti (**livello IV**).

Non esistono in letteratura dati certi sul periodo di attesa prima di iniziare una qualsiasi terapia se non sulla assoluta necessità di instaurare una terapia consona nel caso di insorgenza di fattori complicanti.

A2. TERAPIA MEDICA ESPULSIVA

La terapia medica espulsiva viene eseguita per calcoli in qualsiasi sede. I pochi studi relativi all'impiego del calcio-antagonista riguardano principalmente l'uretere medio-prossimale, quelli relativi all'impiego di alfa-litici riguardano qualsiasi sede dell'uretere. Il tempo di attesa per l'espulsione del calcolo nel paziente in terapia medica è di 6-15 gg.

- **opzione** per calcolo ureterale <5 mm (anche post-ESWL)
- **da prendere in considerazione** per calcoli tra 5 e 10 mm (anche post-ESWL) (miglior tasso di espulsione, tempo di espulsione ridotto, minor fabbisogno di analgesici)
- con il calcio-antagonista nifedipina: +9% di espulsione spontanea
- con l'alfa-litico (tamsulosina): +14-29% di espulsione spontanea
- possibile migliore efficacia dalla combinazione alfa-litico e cortocosteroidi
- per pazienti adulti paucisintomatici
- per qualsiasi sede del calcolo,
- in assenza di fattori complicanti (**livello Ia**).

- Rivalutazione clinica ematochimica ed ecografica periodica, per valutare la posizione del calcolo, la presenza di idronefrosi e la comparsa di infezione (livello IV).
- Informare il paziente degli effetti collaterali dei farmaci e del loro uso off-label (livello IV).
- Impiego della tamsulosina per migliorare la tolleranza al doppio J (riduzione dolore e sintomatologia urinaria) (livello Ib).
- Da dimostrare l'equivalenza di altri alfa-litici tipo doxazosina, alfuzosina, terazosina.

B1. TRATTAMENTO CON LITOTRISSIA EXTRACORPOREA (ESWL)

E' da considerarsi un trattamento:

- **di seconda scelta** dopo il fallimento di osservazione/terapia medica espulsiva, in assenza di complicanze;
 - **di prima scelta** per calcoli ureterali paucisintomatici e non complicati >10 mm (livello Ia).
- No in donne gravide (livello IV).
 - Sì in pazienti adulti e pediatrici (nei bambini è preferibile alla ureterosopia perché considerata meno invasiva, livello III).
 - Nei bambini la ESWL con litotrixxia elettroidraulica è più efficace, ma quella elettromagnetica è più sicura in termini di complicanze (livello III).
 - No se coagulopatie non trattabili o terapia anticoagulante in atto (livello IV).
 - Precauzione se pace-maker (cardiologo, livello IV).
 - Verosimili più procedure (livello IV).
 - Per calcoli di cistina e acido urico deve esserci il puntamento ecografico (non solo quello radiologico) (livello IV).
 - Alcuni calcoli di cistina possono essere poco responsivi al trattamento ESWL (livello III-IV).
 - No stenting di routine pre-trattamento, se il calcolo è < 2 cm (livello III).

Stone-free rates in base alla sede del calcolo con un singolo trattamento:

- uretere prossimale 82% (90% se <10 mm, 68% se >10 mm),
- uretere medio 73% (84% se <10 mm, 76% se >10 mm),
- uretere distale 74% (86% se <10 mm, 74% se >10 mm).

Complicanze:

- sepsi (3-5%)
- infezione urinaria (4-6%)
- steinstrasse (4-8%)
- stenosi ureterale (0-2%)
- lesione ureterale (1-2%)
- raramente morte e perdita del rene

B2. URETEROSCOPIA (URS) RETROGRADA

E' da considerarsi un trattamento:

- **di seconda scelta** dopo il fallimento di osservazione/terapia medica espulsiva o dopo ESWL
- **di prima scelta** per calcoli ureterali >10 mm (livello Ia)

- Migliori risultati nel trattamento dei calcoli dell'uretere distale.
- Proponibile il trattamento nella stessa seduta per i calcoli ureterali bilaterali.
- No stenting post operatorio se non complicata (livello 1a).
- Possibili procedure multiple (comunque inferiori rispetto ad ESWL), specie se la via escretrice è poco compiacente e si ritiene più prudente il semplice stenting, in previsione di successiva ureterosopia operativa.
- Proponibile in gravidanza (livello 1b), con l'impiego di laser a olmio come sorgente di energia per la litotrissia (livello 1b).
- Proponibile nei bambini, anche se non come prima scelta (osservazione, ESWL), con l'impiego di laser a olmio come sorgente di energia per la litotrissia meglio holmium:YAG laser (livello III).
- Proponibile nei pazienti obesi gravi o che non possano interrompere la terapia anticoagulante (no litotrissia elettroidraulica, livello IV).
- La disponibilità di strumenti semirigidi di piccolo calibro (4.5-7 Ch) e di strumenti flessibili ha migliorato notevolmente i risultati dell'ureterosopia, diminuendone contestualmente le complicanze.

Stone-free rates in base alla sede del calcolo con un singolo trattamento:

- uretere prossimale 81% (80% se <10 mm, 79% se >10 mm), 57% nel bambino
- uretere medio 86% (91% se <10 mm, 78% se >10 mm), 80% nel bambino
- uretere distale 94% (97% se <10 mm, 93% se >10 mm), 92% nel bambino

Complicanze

- sepsi (2-4%)
- infezione urinaria (2-4%)
- stenosi ureterale (0-4%)
- lesione ureterale (3-6%)
- raramente morte e perdita del rene

C1. TRATTAMENTO CON URETEROSCOPIA ANTEROGRADA (aURS, con accesso percutaneo)

Opzione terapeutica **di prima scelta proponibile in casi particolari** (fallimento dell'approccio retrogrado per calcolo voluminoso impattato, stenosi ureterale invalicabile a valle del calcolo, calcolosi ureterale in pazienti con derivazione urinaria) (livello III).

C2. URETEROLITOTOMIA LAPAROSCOPICA

Opzione terapeutica **di seconda scelta (livello III)**,

- attuabile in centri di riferimento (per via transperitoneale o retroperitoneale)
- per casi particolari (per esempio, pazienti con calcoli voluminosi impattati o associati ad anomalie anatomiche)

C3. URETEROLITOTOMIA A CIELO APERTO

Opzione terapeutica di seconda scelta (livello III),

- in caso di fallimento o complicanze di altre tecniche,
- per casi particolari (per esempio, calcoli ureterali voluminosi, impattati o associati ad anomalie anatomiche).

Counseling con il paziente (livello IV)

La scelta del trattamento deve essere, come per qualsiasi patologia, valutata con il paziente, che dovrà essere edotto sulle varie opzioni per esprimere un corretto consenso informato:

- a. in base a quanto sopra elencato;
- b. in base allo strumentario disponibile presso un determinato centro;
- c. in base all'esperienza degli operatori presso un determinato centro.

L'indisponibilità di strumenti (o di expertise) non giustifica in alcun modo scelte terapeutiche non idonee.

Opzioni terapeutiche: applicazione nella pratica clinica

Come evidenziato nelle precedenti sezioni, i cui dati sono ricavati dall'analisi delle ampie casistiche disponibili in letteratura, le opzioni terapeutiche disponibili sono molteplici, sicure e notevolmente efficaci.

La scelta della terapia si basa su diversi fattori (che riguardano sia il calcolo sia il paziente) e dall'analisi di questi fattori si ricava la scelta terapeutica più appropriata.

Considerando la sede e il diametro del calcolo, le caratteristiche del paziente e la presentazione clinica è ragionevole quindi la proposta delle indicazioni terapeutiche che vengono schematicamente sintetizzate qui di seguito.

Paziente paucisintomatico (1a)

Paziente (3a/b/c, 4a)	Calcolo < 1 cm (3c, 4b)	Distale > 1 cm) (3b, 4b)	Medio > 1 cm (3a, 4b)	Prossimale > 1 cm
Adulto (2a) (ESWL/URS)	Osservazione Terapia espulsiva	URS (93%) ESWL (74%)	URS (78%) ESWL (76%)	URS (79%) ESWL (68%)
Gravida (2b)	Osservazione (JJ/nefrostomia/URS)	JJ/nefrostomia URS	JJ/nefrostomia URS	JJ/nefrostomia URS
Bambino (2c)	Osservazione (ESWL/URS)	URS (92%) ESWL (80%)	ESWL (82%) URS (80%)	ESWL (81%) URS (57%)

Tra parentesi vengono indicati il trattamento di seconda scelta o i risultati (stone-free rate) del trattamento.

Paziente con fattori complicanti (1b)

- a. drenaggio dell'alto apparato per via retrograda (JJ) o anterograda (nefrostomia) (metodi tra loro equivalenti, livello 1b), con colturale su urine in stasi a monte del calcolo (opzione anche per donne in gravidanza che hanno fallito l'espulsione spontanea del calcolo, e che non possono/vogliono sottoporsi ad ureterosopia, livello III);
- b. antibioticoterapia per via endovenosa ad ampio spettro (possibilmente mirata su esito dell'urocoltura);
- c. idratazione e terapia di supporto (antalgica, antiemetica, ecc.);
- d. trattamento della calcolosi ureterale rimandato in un secondo tempo (livello III);
- e. sull'esecuzione di ESWL o URS retrograda in urgenza non esiste alcun consenso (vengono praticate presso alcuni centri, a discrezione degli stessi, in casi selezionati).

Bibliografia

Queste linee guida sono state redatte sulla base delle "GUIDELINES FOR THE MANAGEMENT OF URETERAL CALCULI" pubblicate da EAU ed AUA nel 2007, integrandole con la bibliografia più recente sull'argomento (2007-2009).

1. Preminger GM, Assimos DG, Lingeman JE, Nakada SY, Pearle MS, Wolf JS Jr. Report on the management of staghorn calculi. <http://www.auanet.org/guidelines> Access date November 2008.
2. Tiselius HG, Ackermann D, Alken P, Buck C, Conort P, Gallucci M. Guidelines on urolithiasis. http://www.uroweb.org/nc/professional-resources/guidelines/online/?no_cache=1&view=archive Access date November 2008.
3. Seitz C, Liatsikos E, Porpiglia F. et al. Medical therapy to facilitate the passage of stones: what is the evidence? *Eur Urol* 2009; Epub ahead of print, PMID 19560860.
4. Wang CJ, Huang SW, Chang C. Effects of specific alpha-1A/1D blocker on lower urinary tract symptoms due to double-J stent: a prospectively randomized study. *Urol Res* 2009; 37(3):147-52.
5. Seitz C, Tanovic E, Kikic Z, et al. Impact of stone size, location, composition, impaction, and hydronephrosis on the efficacy of holmium:YAG-laser ureterolithotripsy. *Eur Urol* 2007; 52(6):1751-7.
6. Lechevallier E, Traxer O, Saussine C. Management of proximal ureteral stones. *Prog Urol* 2008; 18(12):977-80.
7. Lechevallier E, Saussine C, Traxer O. Ureterscopy for upper urinary tract stones. *Prog Urol* 2008; 18(12):912-6.
8. Youssef RF, El-Nahas AR, El-Assmy AM, et al. Shock wave lithotripsy versus semirigid ureteroscopy for proximal ureteral calculi (<20 mm): a compared matched-pair study. *Urology* 2009; 73(6):1184-7.
9. El-Nahas AR, El-Tabey NA, Eraky I, et al. Semirigid ureteroscopy for ureteral stones: a multivariate analysis of unfavourable results. *J Urol* 2009; 181(3):1158-62.
10. Jiang H, Wu Z, Ding Q. Ureterscopy and holmium:YAG laser lithotripsy as emergency treatment for acute renal failure caused by impacted ureteral calculi. *Urology* 2008; 72(3):504-7.
11. Dasgupta R, Hegarty N, Thomas K. Emergency shock wave lithotripsy for ureteric stones. *Curr Op Urol* 2009; 19(2):196-9.
12. Rinqdén I, Tiselius HG. Composition and clinically determined hardness of urinary tract stones. *Scand J Urol Nephrol* 2007; 41(4):316-23.
13. Turqut M, Unal I, Berber A, et al. The concentration of Zn, Mg and Mn in calcium oxalate monohydrate stones appears to interfere with their fragility in ESWL therapy. *Urol Res* 2008; 36(1):31-8.
14. Juan YS, Huang CH, Wang CJ, et al. Predictive role of renal resistance indices in the extracorporeal shock wave lithotripsy outcome of ureteral stones. *Scand J Urol Nephrol* 2008; 8:1-5.
15. Ng CF, Siu DY, Wong A, et al. Development of a scoring system from noncontrast computerized tomography measurements to improve the selection of upper ureteral stone for extracorporeal shock wave lithotripsy. *J Urol* 2009; 181(3):1151-7.
16. Graser A, Johnson TR, Bader M, et al. Dual energy CT characterization of urinary calculi: initial in vitro and clinical experience. *Invest Radiol* 2008; 43(2):112-9.
17. Basiri A, Simforoosh N, Ziaee A, et al. Retrograde, anterograde and laparoscopic approaches for the management of large, proximal ureteral stones: a randomized clinical trial. *J Endourol* 2008; 22(12):2677-80.
18. Lechevalier E, Traxer O, Saussine C. Open surgery for upper urinary tract stones. *Prog Urol* 2008; 18(12):952-4.
19. Saussine C, Lechevalier E, Traxer O. Urolithiasis and laparoscopy. Treatment of ureteral stones. *Prog Urol* 2008; 18(12):943-7.
20. Bove P, Micali S, Miano R. et al. Laparoscopic ureterolithotomy: a comparison between the transperitoneal and the retroperitoneal approach during the learning curve. *J Endourol* 2009; 23(6):953-7.
21. Kennish SJ, Bhatnagar P, Wah TH, et al. Is the KUB radiograph redundant for investigating acute ureteric colic in the non-contrast enhanced computed tomography era? *Clin Radiol* 2008; 63(10):1131-5.
22. Park SJ, Yi BH, Lee HK, et al. Evaluation of patients with suspected ureteral calculi using sonography as an initial diagnostic tool: how can we improve diagnostic accuracy? *J Ultrasound Med* 2008; 27(10):1441-50.

Capitolo 6

CALCOLOSI RENALE

F. Zattoni

1. Criteri di utilizzo

Le presenti linee guida (LG) sulla litiasi renale sono state costruite riprendendo gli algoritmi diagnostici e terapeutici già espressi dalle LG sull'urolitiasi dell'Associazione Europea di Urologia (EAU), aggiornate al 2008¹. Sono state per di più realizzate implementandole al caso e in relazione agli ulteriori aggiornamenti prodotti in letteratura nel periodo 2006-2009.

Queste LG, comunque, si vogliono differenziare da quelle di cui sopra, in quanto cercano di fare specificamente riferimento alla realtà italiana. Inoltre, si è messo in atto il tentativo di considerare la nefrolitiasi alla luce dei rischi connessi di CKD (acronimo di Chronic Kidney Disease, secondo la classificazione del Kidney Disease Outcomes Quality Initiative - KDOQI) e di osteopatia. Per di più, a differenza, per esempio, delle LG EAU si è ritenuto anche di suggerire delle raccomandazioni per il follow-up dei pazienti calcolotici.

C'è altresì da considerare come, per l'assenza di adeguati studi randomizzati di buona qualità, molte delle indicazioni espresse derivano necessariamente dalla opinione e/o dalla pratica di esperti.

A tale fine, cultori della materia italiani, urologi e nefrologi, sono stati consultati per la revisione del testo così come è stato licenziato.

L'analisi della letteratura è stata condotta utilizzando gli strumenti statistici indicati di seguito.

DEFINIZIONE DEI LIVELLI DI EVIDENZA (LE)²

- 1A: evidenza ottenuta da meta-analisi di trials randomizzati;
- 1B: evidenza ottenuta da almeno 1 trial randomizzato;
- 2A: evidenza ottenuta da uno studio caso-controllo ben disegnato, senza randomizzazione;
- 2B: evidenza ottenuta da almeno uno studio scientifico, diversamente disegnato;
- 3: evidenza ottenuta da studi non sperimentali ben disegnati, come case report, studi di correlazione e studi comparativi;
- 4: evidenza ottenuta da una commissione di esperti o da opinioni o esperienza clinica di autorità rispettabili.

GRADI DI RACCOMANDAZIONE (GR)²

- A: basato su studi clinici di buona qualità e consistenza che indicano specifiche raccomandazioni e che includono almeno uno studio randomizzato;
- B: basato su studi clinici ben condotti, ma non da trials randomizzati;
- C: raccomandato nonostante l'assenza di studi clinici direttamente applicabili di buona qualità.

In linea con le ultime LG EAU, vengono assegnati ai metodi diagnostici e terapeutici descritti e consigliati dei numeri di preferenza^{1,2,3,4} con il fine di indicare quale opzione sia la più appropriata o preferita, in accordo con la letteratura o con il consenso raggiunto¹. Nel caso in cui più procedure fossero considerate egualmente utili, sarà assegnato il medesimo numero di preferenza¹

Bibliografia

1. Tiselius HG, Alken P, Buck C, Gallucci M, Knoll T, Sarica K, Turk C. Guidelines on urolithiasis. European Association of Urology 2009; pp 1-116; update March 2008. http://www.uroweb.org/fileadmin/user_upload/Guidelines/18%20Urolithiasis.pdf.
2. Oxford Centre for Evidence-based Medicine Levels of Evidence (May 2001). Produced by Bob Phillips, Chris Ball, Dave Sackett, Doug Badenoch, Sharon Straus, Brian Haynes, Martin Dawes since November 1998

2. Introduzione

L'urolitiasi occupa un posto importante nella pratica clinica quotidiana. Mediamente, il rischio di formare un calcolo nel corso della vita di una persona varia dal 5 al 15%¹. La formazione ricorrente di calcoli urinari rappresenta un problema comune a tutti i tipi di calcoli e quindi costituisce una parte importante del trattamento medico dei pazienti con urolitiasi¹

Bibliografia

1. Krauschick, Andreas W. Metabolic evaluation and medical therapy for stone formation. *Curr Opin Urol* 1999; 9(4): 335-338.

3. Classificazione e fattori di rischio

In base alla composizione chimica del calcolo e alla gravità della malattia possono identificarsi differenti categorie di "stone formers" ("produttori di calcoli") identificati secondo le seguenti sigle (Tabella 1) (vedi capitolo 10): INF (calcoli infetti); UR (calcoli a base di acido urico); CY (calcoli di cistina); So (primo riscontro di calcolosi senza residui); Sres (primo riscontro di calcolosi con residui litiasici); Rmo (urolitiasi ricorrente senza calcoli e/o frammenti residui); Rm-res (urolitiasi ricorrente di gravità lieve con calcoli e/o frammenti residui); Rs (urolitiasi grave)¹⁻⁴. A prescindere dal decorso della malattia, alcuni pazienti necessitano di particolare attenzione a causa di fattori di rischio specifici, riassunti nella Tabella 2 (vedi anche capitolo 10).

Tabella 1. Categoria di produttori di calcoli ("stone formers")

Tipo di calcolo	Composizione del calcolo	Categoria
Calcoli non calcici	Calcoli da infezioni: fosfato ammonio magnesiaco, urato di ammonio	INF
	Acido urico, urato di sodio	UR
	Cistina	CY
Calcoli calcici	Urolitiasi di primo riscontro senza calcoli residui o frammenti	So
	Urolitiasi di primo riscontro con calcoli residui o frammenti	Sres
	Urolitiasi ricorrente con malattia di grado lieve senza calcoli residui o frammenti	Rmo
	Urolitiasi con malattia lieve con calcoli residui o frammenti	Rm-res
	Urolitiasi con malattia grave con o senza calcoli residui o frammenti o urolitiasi in pazienti con specifici fattori di rischio a prescindere di categorie altrimenti definite	Rs

Tabella 2. Fattori di rischio specifici per la formazione di calcoli

Esordio di malattia precoce <25 anni

Calcoli contenuti brucite

Familiarità positiva

Monorene funzionale

Malattie associate alla formazione di calcoli:

- iperparatiroidismo
 - acidosi tubulare renale (completa/parziale)
 - bypass digiuno-ileale
 - morbo di Crohn
 - resezione intestinale
 - stati di malassorbimento
 - sarcoidosi
-

Farmaci associati alla formazione di calcoli:

- supplementi di calcio
 - supplementi di vitamina D
 - acido ascorbico in megadosi (>4 g/die)
 - Sulfonamidi (a)
 - Triamterene (a)
 - Indinavir (a)
-

Alterazioni anatomiche associate alla formazione di calcoli:

- estasia tubulare ("rene a spugna midollare")
 - ostruzione del giunto pieloureterale
 - diverticolo caliceale/cisti caliceale
 - stenosi ureterale
 - reflusso vescico-ureterale
 - rene a ferro di cavallo
 - ureterocele
-

(a) calcoli non calcici

Bibliografia

1. Tiselius HG. Aetiological factors in stone formation. Ch 8. In: Davison AM, Cameron JS, Grunfeld J-P, Kerr DN, Ritz E, Winearls CG, eds. Oxford textbook of clinical nephrology. 3rd edn. Oxford: Oxford University Press, 2005, pp. 1201-1223.
2. Tiselius HG. Etiology and investigation of stone disease. Curriculum in Urology. Eur Urol 1998; 33: 1-7.
3. Tiselius HG. Epidemiology and medical management of stone disease. BJU Int 2003; 91(8): 758-67.
4. Tiselius HG, Ackermann D, Alken P, Buck C, Conort P, Gallucci M. Guidelines on urolithiasis. Eur Urol 2001; 40(4): 362-71.

4. Diagnostica strumentale e di laboratorio nel sospetto di una colica renale secondaria ad urolitiasi

I pazienti che presentano una colica renale secondaria a urolitiasi, solitamente lamentano un caratteristico dolore lombare, possibilmente associato a vomito e talora con febbricola. Possono avere una anamnesi positiva per urolitiasi. La diagnosi clinica dovrebbe essere supportata da una procedura diagnostica per immagini, appropriata¹⁻¹¹. La diagnostica per immagini è imperativa in pazienti con febbre o con un rene solo, o quando la diagnosi di calcolosi è dubbia (LE: 4; GR: C)¹².

Tabella 3. Modalità di diagnostica per immagini, nell'iter diagnostico di pazienti con dolore acuto al fianco¹⁻¹¹

Numero di preferenza	Esame	LE	GR
1	TC (meglio se spirale con ricostruzione 3D postprocessing) senza mezzo di contrasto	1	A
1	Urografia ev	Procedura standard	
2	Rx AB + ECO addome	2a	B

TC: Tomografia Computerizzata; Rx AB: Radiografia diretta dell'addome; ECO: ecografia.

La Tabella 4 riassume alcune considerazioni generali che devono essere valutate con riguardo all'impiego del mezzo di contrasto (m.d.c.)¹³⁻²⁰.

Tabella 4. Considerazioni generale riguardo l'uso del m. d. c.

Il m.d.c. non dovrebbe essere somministrato o dovrebbe essere evitato nelle seguenti circostanze:	LE	GR
pazienti con dimostrata allergia al m.d.c.	-	-
quando i valori plasmatici di creatinina sono >150 $\mu\text{mol/L}$	4	C
pazienti in terapia con metformina	3	B
ipertiroidismo non trattato	3	B
pazienti con mielomatosi	3	B

La Tabella 5 elenca le indagini di laboratorio raccomandate per un paziente con un episodio di colica renale secondaria a calcolosi¹².

Tabella 5. Analisi biochimiche raccomandate per un paziente con un episodio acuto di urolitiasi

Per tutti i pazienti	Sedimento urinario/dipstick test per la dimostrazione di globuli rossi e globuli bianchi. Il test per la batteriuria (nitriti) e l'urocoltura in caso di una reazione positiva. La creatinina sierica dovrebbe essere analizzata come misura della funzione renale.
Per i pazienti con febbre	Proteina C Reattiva (PCR) e formula leucocitaria.
Per i pazienti con vomito	Elettroliti sierici (Sodio e Potassio).
Utili informazioni opzionali	Appropriato pH(a); calcemia (b); tutte le altre indagini che potrebbero essere necessarie in caso di intervento.

(a) la conoscenza del pH potrebbe riflettere il tipo di calcolo prodotto dal paziente

(b) questa potrebbe essere la sola occasione nella quale i pazienti con ipercalcemia sono identificati

Bibliografia

1. Smith RC, Rosenfield AT, Choe KA, Essenmacher KR, Verga M, Glickman MG, Lange RC. Acute flank pain: comparison of non-contrast-enhanced CT and intravenous urography. *Radiol* 1995; 194(3): 789-94.
2. Smith RC, Verga M, McCarthy S, Rosenfield AT. Diagnosis of acute flank pain: value of unenhanced helical CT. *AMJ Am J Roentgenol* 1996; 166(1): 97-101.
3. Sudah M, Vanninen RL, Partanen K, Kainulainen S, Malinen A, Heino A, Ala-Opas M. Patients with acute flank pain: comparison of MRurography with unenhanced helical CT. *Radiol* 2002; 223(1): 98-105.
4. Homer JA, Davies-Payne DL, Peddinti BS. Randomized prospective comparison of non-contrast enhanced helical computed tomography and intravenous urography in the diagnosis of acute ureteric colic. *Australas Radiol* 2001; 45(3): 285-90.
5. Shokeir AA, Abdulmaaboud M. Prospective comparison of non-enhanced helical computerized tomography and Doppler ultrasonography for the diagnosis of renal colic. *J Urol* 2001; 165(4): 1082-4.
6. Miller OF, Rineer SK, Reichard SR, Buckley RG, Donovan MS, Graham IR, Goff WB, Kane CJ. Prospective comparison of unenhanced spiral computed tomography and intravenous urogram in the evaluation of acute flank pain. *Urology* 1998; 52(6): 982-7.
7. Dalrymple NC, Verga M, Anderson KR, Bove P, Covey AM, Rosenfield AT, Smith RC. The value of unenhanced helical computerized tomography in the management of acute flank pain. *J Urol* 1998; 159(3): 735-40.
8. Worster A, Preyra I, Weaver B, Haines T. The accuracy of noncontrast helical computed tomography versus intravenous pyelography in the diagnosis of suspected acute urolithiasis: a meta-analysis. *Ann Emerg Med* 2002; 40(3) :280-6.
9. Shine S. Urinary calculus: IVUvs CT renal stone? Acritically appraised topic. *Abdom Imaging* 2008; 33(1): 41-3.
10. Mindelzun RE, Jeffrey RB. Unenhanced helical CT evaluating acute abdominal pain: a little more cost, a lot more information. *Radiology* 1997; 205(1): 43-5.
11. Shinokara K. Editorial: Choosing imaging modality in 2003. *J Urol* 2003; 170(3): 803.
12. Tiselius HG, Alken P, Buck C, Gallucci M, Knoll T, Sarica K, Turk C. Guidelines on urolithiasis. *European Association of Urology* 2009; pp 1-116; update March 2008. http://www.uroweb.org/fileadmin/user_upload/Guidelines/18%20Urolithiasis.pdf.
13. Morcos SK, Thomsen HS, Webb JA; Contrast Media Safety Committee of the European Society of Urogenital Radiology. Prevention of generalized reactions to contrast media: a consensus report and guidelines. *Eur Radiol* 2001; 11(9): 1720-8.
14. Thomsen HS, Morcos SK. Contrast media and the kidney: European Society of Urogenital Radiology (ESUR) guidelines. *Br J Radiol* 2003; 76(908): 513-8.
15. Nawaz S, Cleveland T, Gaines PA, Chan P. Clinical risk associated with contrast angiography in metformine treated patients: a clinical review. *Clin Radiol* 1998;53(5):342-4.
16. McCartney MM, Gilbert FJ, Murchinson LE, Pearson D, McHardy K, Murray AD. Metformin and contrast media—a dangerous combination? *Clin Radiol* 1999; 54(1): 29-33.
17. Thompson NW, Thompson TJ, Love MH, Young MR. Drugs and intravenous contrast media. *BJU Int* 2000; 85(3): 219-21.
18. Cockcroft DW, Gault MH. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nephron* 1976; 16(1): 31-41.
19. ESURGuidelines on Contrast Media. European Society of Urogenital Radiology. [access date February 2009].
20. Tepel M, Van der Giet M, Schwarzfeld C, Laufer U, Liermann D, Zidek W. Prevention of radiographic-contrast-agent-induced reductions in renal function by acetylcysteine. *N Engl J Med* 2000; 343(3): 180-4.

5. Ricerca di fattori rischio per urolitiasi: analisi delle urine

Per la identificazione dei fattori di rischio metabolici della urolitiasi, un programma analitico per le differenti categorie di pazienti calcolotici è mostrata nella Tabella 6¹ (vedi anche capitolo 10). La raccolta delle urine va ripetuta quando necessario.

Tabella 6. Programma analitico per pazienti con urolitiasi

Categoria	Analisi del sangue (siero/plasma)	Analisi delle urine durante il follow-up	Prevenzione
INF	Creatinina	Urocoltura, pH	Si
UR	Creatinina, urato	Urato, pH	Si
CY	Creatinina	Cistina, pH	Si
So	Si (vedi Tab. 7)	Analisi urine limitata (solo campione urinario veloce estemporaneo)	No
Sres	Si (vedi Tab. 8)	Si (vedi Tab. 8)	Si
Rmo	Si (vedi Tab. 7)	Analisi urine limitata (solo campione urinario veloce estemporaneo)	No
Rm-res	Si (vedi Tab. 8)	Si (vedi Tab. 8)	Si
Rs	Si (vedi Tab. 8)	Si (vedi Tab. 8)	Si

La Tabella 7 riporta le analisi di laboratorio consigliate nei pazienti con urolitiasi non complicata¹.

Tabella 7. Analisi in pazienti con urolitiasi non complicata: campione ematico e urinario estemporaneo

Analisi del calcolo	Analisi del sangue	Analisi delle urine
In ogni paziente un calcolo dovrebbe essere analizzato con cristallografia a raggi X o con spettroscopia ad infrarossi. La "chimica bagnata" ("wet chemistry") è insufficiente.	Calcio; albumina (a); creatinina; urato (b).	Campione veloce del mattino o campione estemporaneo: - pH - leucociti/batteri - test della cistina in età pediatrica

- a) oppure analisi del calcio + albumina, per correggere le differenze nella concentrazione di calcio attribuibile dal legame con l'albumina, o analisi diretta del calcio (libero) ionizzato.
b) analisi opzionale

La Tabella 8 riporta le analisi delle urine raccomandate nei pazienti con urolitiasi complicata²⁻¹⁰

Tabella 8. Analisi in pazienti con urolitiasi complicata: raccolta delle urine. Raccolta delle urine durante un periodo di tempo definito (a)

Preferenza	Variabile urinaria
1	Calcio
1	Ossalato
1	Citrato
1	Creatinina
1	Volume
2	Urato (b)
2	Magnesio (c)
2	Fosfato (c, d)
2	Urea (c, d)
3	Sodio (b, d)
3	Potassio (b, d)

- a) Le urine delle 24 ore, le urine di 16 ore + 8 ore o un altro periodo di raccolta possono essere scelti per ottenere dati sulla normale secrezione. Un campione estemporaneo di urine può essere utilizzato con variabili correlate alla creatinina.
b) Poiché l'acido urico precipita in soluzione acida, l'urato deve essere analizzato in un campione che non deve essere acidificato, o deve essere alcalinizzato per sciogliere l'acido urico. Quando viene raccolto un campione di urine di 16 ore in una bottiglia con un conservante acido, le restanti 8 ore del periodo di 24 ore possono essere utilizzate per raccogliere le urine in una bottiglia con azide sodica per l'analisi dell'urato.
c) L'analisi di magnesio e fosfato è necessaria per calcolare la stima approssimativa della

sovrasaturazione con ossalato di calcio (CaOx) e fosfato di calcio (CaP), quale l'indice AP(CaOx) e l'indice AP (CaP). Le formule vengono riportate sotto.

- d) I dosaggi di urea, fosfato, sodio e potassio sono utili nel valutare le abitudini dietetiche del paziente.
- e) Dieta libera.

Sono possibili delle opzioni alternative per la raccolta delle urine, con alcuni esempi elencati nella Tabella 9¹¹⁻¹³.

Tabella 9. Metodi alternativi per la raccolta delle urine

Metodo alternativo (preferenza)	Intervalli di raccolta	Descrizione
1	Due raccolte delle 24 ore	Campione 1, raccolto in una bottiglia contenente 30 ml di 6 mol/L di acido idroclorico. Campione 2, raccolto in una bottiglia contenente 30 ml di 0,3 mol/L di azide sodica
2	Una raccolta delle 24 ore	Campione raccolto in una bottiglia contenente 30 ml di 6 mol/L di acido idroclorico
3	Una raccolta di 16 ore ed una raccolta di 8 ore	Campione 1 raccolto tra le 6 e le 22 in una bottiglia contenente 20 ml di 6 mol/L di acido idroclorico Campione 2 raccolto tra le 22 e le 6 in una bottiglia contenente 10 ml di 0,3 mol/L di azide sodica
4	Campione estemporaneo di urine	L'escrezione di ciascuna variabile urinaria è correlata al livello di creatinina

L'introito proteico dietetico approssimativo può essere calcolato dalla formula sottostante. L'introito atteso dovrebbe essere pari a 0,8-1 g/Kg di peso corporeo¹⁴.

Introito proteico (g) durante le 24 ore : (Urea[mmol/24h]*0,18)+13

La stima dell'attività ionica prodotta di ossalato di calcio (indice AP[CaOx]) e fosfato di calcio (indice AP[CaP]) può essere calcolata come segue¹⁵⁻²⁵:

Indice AP[CaOx] : 1,9 x Ca 0,84 x Ox x Cit-0,22 x Mg-0,12 x V-1,03

In questa formula, il volume urinario (V) viene espresso in litri e le variabili urinarie Ca (calcio), Ox (ossalato), Cit (citrato), Mg (magnesio) in mmol escrete durante il periodo di raccolta. Il fattore 1,9 è specifico per il periodo di 24 ore. Per un campione di 16 ore questo fattore è 2,3.

L'indice AP[CaOx] corrisponde a circa 108 x APCaOx (dove APCaOx è il prodotto dell'attività ionica dell'ossalato di calcio).

L'indice AP[CaP] per un campione di urine viene calcolato nel seguente modo:

$$\text{Indice AP[CaP]} : 2,7 \times 10^{-3} \times \text{Ca}^{1,07} \times \text{P}^{0,70} \times (\text{pH} - 4,5)^{6,8} \times \text{Cit}^{-0,20} \times \text{V}^{-1,31}$$

L'indice AP[CaP] corrisponde a circa 1015 x APCaP (dove APCaP è il prodotto di attività ionica del fosfato di calcio).

Bibliografia

1. Tiselius HG, Alken P, Buck C, Gallucci M, Knoll T, Sarica K, Turk C. Guidelines on urolithiasis. European Association of Urology 2009; pp 1-116; update March 2008. http://www.uroweb.org/fileadmin/user_upload/Guidelines/18%20Urolithiasis.pdf.
2. Berg C, Larsson L, Tiselius HG. The composition of four-hour urine samples from patients with calcium oxalate stone disease. *Br J Urol* 1987; 60(4): 301-6.
3. Tiselius HG. Solution chemistry of supersaturation. In: Coe FL, Favus MJ, Pak CYC, Parks HG, Preminger GM, eds. *Kidney Stones: Medical and Surgical Management*. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1996, pp. 33-64.
4. Bek-Jensen H, Tiselius HG. Evaluation of urine composition and calcium salt crystallization properties in standardized volume-adjusted 12-h night urine from normal subjects and calcium oxalate stone formers. *Urol Res* 1997; 25(5): 365-72.
5. Strohmaier WL, Hoelz K-J, Bichler KH. Spot urine samples for the metabolic evaluation of urolithiasis patients. *Eur Urol* 1997; 32(3): 294-300.
6. Tiselius HG. An improved method for the routine biochemical evaluation of patients with recurrent calcium oxalate stone disease. *Clin Chim Acta* 1982; 122(3): 409-18.
7. Tiselius HG. Asimplified estimate of the ion-activity product of calcium phosphate in urine. *Eur Urol* 1984; 10(3): 191-5.
8. Tiselius HG. Aspects on estimation of the risk of calcium oxalate crystallization in urine. *Urol Int* 1991; 47(4): 255-9.
9. Tiselius HG. Risk formulas in calcium oxalate urolithiasis. *World J Urol* 1997; 15(3): 176-85.
10. Tiselius HG. Metabolic evaluation of patients with stone disease. *Urol Int* 1997; 59(3): 131-41.
11. Hobarth K, Hofbauer J, Szabo N. Value of repeated analysis of 24-hour urine in recurrent calcium urolithiasis. *Urology* 1994; 44(1): 24-5; discussion 24-5.
12. Hess B, Hasler-Strub U, Ackermann D, Jaeger P. Metabolic evaluation of patients with recurrent idiopathic calcium nephrolithiasis. *Nephrol Dial Transplant* 1997; 12(7): 1362-8.
13. Straub M, Strohmaier WL, Berg W, Beck B, Hoppe B, Laube N, Lahme S, Schmidt M, Hesse A, Koehrmann KU. Diagnosis and metaphylaxis of stone disease. Consensus concept of the National Working Committee on Stone Disease for the upcoming German Urolithiasis Guideline. *World J Urol* 2005; 23(5): 309-23.
14. Mitch WE, Walser M. Nutritional therapy of the uremic patient. In: Brenner BM, Rector FCJr, eds. *The Kidney*. Vol II. 3rd edn. Philadelphia: WB Saunders, 1986: 1759-1790.
15. Eisenberger F, Bub P, Schmidt A. The fate of residual fragments after extracorporeal shock wave lithotripsy. *J Endourol* 1992; 6: 217-8.
16. Liedl B, Jocham D, Schuster C, Lunz C. Long-term results in ESWL-treated urinary stone patients. *Abstract. Urol Res* 1988; 16: 256.
17. Cicerello E, Merlo F, Gambaro G, Maccatrozzo L, Fandella A, Baggio B, Anselmo G. Effect of alkaline citrate therapy on clearance of residual renal stone fragments after extracorporeal shock wave lithotripsy in sterile calcium and infection nephrolithiasis patients. *J Urol* 1994; 151(1): 5-9.
18. Fine JK, Pak YC, Preminger GM. Effect of medical management and residual fragments on recurrent stone formation following shock wave lithotripsy. *J Urol* 1995; 153(1): 27-32.
19. Stroom SB, Yost A, Mascha E. Clinical implications of clinically insignificant stone fragments after extracorporeal shock wave lithotripsy. *J Urol* 1996; 155(4): 1186-90.
20. Zanetti G, Seveso M, Montanari E, Guarneri A, Del Nero A, Nespoli R, Trinchieri A. Renal stone fragments following shock wave lithotripsy. *J Urol* 1997; 158(2): 352-5.
21. Pacic D, Hanak T, Kumstat P, Turjanica M, Jelinek P, Kladensky J. Effectiveness of SWL for lower-pole caliceal nephrolithiasis: evaluation of 452 cases. *J Endourol* 1997; 11(5): 305-7.
22. Robertson WG. A risk factor model of stone formation. *Front Biosci* 2003; 8: 1330-8.
23. Hsu TH, Stroom SB. Metabolic abnormalities in patients with caliceal diverticular calculi. *J Urol* 1998; 160(5): 1640-2.
24. Daudon M, Hennequin C, Boujelben G, Lacour B, Jungers P. Serial crystalluria determination and the risk of recurrence in calcium stone formers. *Kidney Int* 2005; 67(5): 1934-43.
25. Tiselius HG, Bek-Jensen H, Fornander AM, Nilsson MA. Crystallization properties in urine from calcium oxalate stone formers. *J Urol* 1995; 154(3): 940-6.

6. Massa litiasica

La "massa litiasica" ("*stone burden*") può essere misurata in differenti modi. In letteratura il modo più comune è rappresentato dall'annotare i diametri massimi della concrezione calcolotica, cioè misurare la lunghezza del calcolo (radioopaco) con l'ausilio di una radiografia diretta dell'addome. Con l'ausilio della diagnostica per immagini è possibile conoscere non solo la lunghezza (l) ma anche la larghezza (w) del calcolo ottenendo una stima appropriata dell'area di superficie del calcolo (SA) basandosi sulla seguente formula¹:

$$SA : l \times w \times \pi \times 0,25$$

Si può quindi ottenere una stima anche del volume calcolotico (SV) impiegando la seguente ulteriore formula²:

$$SV : 0.6 \times SA \times 1.27$$

Con l'utilizzo sempre più frequente della tomografia computerizzata (TC), è possibile ottenere una stima ancora più attendibile dello SV, combinando le misure di lunghezza (l), larghezza (w) e profondità (d) nella seguente formula:

$$SV : l \times w \times d \times \pi \times 0,52$$

Bibliografia

1. Tiselius HG, Andersson A. Stone burden in an average Swedish population of stone formers requiring active stone removal: how can the stone size be estimated in the clinical routine?. Eur Urol 2003; 4(3): 275-81.
2. Ackermann D, Griffith DP, Dunthorn M, Newman RC, Finlayson B. Calculation of stone volume and urinary stone staging with computer assistance. J Endourol 1989; 3: 355-9.

7. Trattamento della colica renale

Le tabelle 10 e 11 descrivono rispettivamente l'approccio farmacologico raccomandato per sedare la "colica" renale¹⁻⁴ e alcune considerazioni in merito a tale trattamento⁵⁻⁶.

Tabella 10. Sedazione del dolore per pazienti con colica renale

Preferenza	Agente farmacologico	LE	GR
1	Diclofenac sodico	1b	A
1	Indometacina Ibuprofene	1b	A
2	Idrocloruro di idromorfina + atropina Metamizolo Pentazocina Tramadolo	4	C

Tabella 11. Raccomandazioni e considerazioni riguardo al trattamento del paziente con colica renale

Raccomandazioni	LE	GR
Il trattamento dovrebbe iniziare con FANS	1b	A
Il diclofenac sodico influenza la VFG in pazienti con una ridotta funzione renale, ma non in pazienti con una funzione renale normale	2a	B
Il diclofenac sodico è raccomandato come metodo per alleviare il dolore ricorrente dopo un episodio di colica ureterale	1b	A

FANS : farmaci antinfiammatori non steroidei

VFG : velocità di filtrazione glomerulare

Bibliografia

1. Holmlund D, Sjödin J-G. Treatment of ureteral colic with indomethacin. *J Urol* 1978; 120(6): 676-7.
2. Lundstam SO, Leissner KH, Wählander LA, Kral JG. Prostaglandin-synthetase inhibition of diclofenac sodium in the treatment of renal colic: comparison with use of a narcotic analgesic. *Lancet* 1982; 1(8281): 1096-7.
3. Lundstam SO, Wählander LA, Kral LG. Treatment of ureteral colic by prostaglandin-synthetase inhibition with diclofenac sodium. *Curr Ther Res* 1980; 28: 355-8.
4. Walden M, Lahtinen J, Elvander E. Analgesic effect and tolerance of ketoprofen and diclofenac in acute ureteral colic. *Scand J Urol Nephrol* 1993; 27(3): 323-5.
3. Laerum E, Ommundsen OE, Gronseth JE, Christiansen A, Fagertun HE. Oral diclofenac in the prophylactic treatment of recurrent renal colic. A double-blind comparison with placebo. *Eur Urol* 1995; 28(2): 108-11.
4. Lee A, Cooper MG, Craig JC, Knight JF, Keneally JP. Effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs on postoperative renal function in adults with normal renal function. *Cochrane Database Syst Rev* 2007; 18(2): CD002765.

8. Indicazioni per la rimozione di un calcolo renale

Dimensioni, sede e forma sono i fattori che influenzano maggiormente la decisione per un trattamento attivo della calcolosi renale.

L'espulsione spontanea del calcolo e la valutazione della funzione renale dovrebbero essere confermate con metodi appropriati. I calcoli espulsi dovrebbero essere analizzati.

L'espulsione spontanea avviene nell'80% dei casi per calcoli di diametro ≤ 4 mm. Aumentando le dimensioni, la probabilità di espulsione spontanea si riduce, raggiungendo valori variabili dal 10 al 53% per calcoli di dimensioni comprese tra 6-10 mm²⁻⁵.

La somministrazione di un alfa-litico facilita l'espulsione spontanea in caso di calcolosi dell'uretere distale (LE: 1b; GR: A)⁶⁻⁸.

Con calcoli di diametro ≥ 7 mm vi è l'indicazione al trattamento in quanto calcoli renali asintomatici sono comunque in grado di rendersi clinicamente evidenti⁹. Anche piccoli calcoli caliceali (≤ 7 mm) possono dare sintomatologia dolorosa e devono essere trattati con metodiche minimamente invasive. Se è presente un colletto caliceale stenotico è necessaria la sua dilatazione¹⁰⁻¹⁵.

Pazienti con calcolosi caliceale asintomatica di piccole dimensioni (< 5 mm) che preferiscano un approccio osservazionale dovrebbero essere seguiti annualmente al fine di valutarne l'accrescimento¹⁶.

La Tabella 12 elenca le principali indicazioni per la rimozione di un calcolo renale.

Tabella 12. Elenco delle indicazioni per la rimozione di un calcolo renale

Indicazioni per la rimozione del calcolo	LE	GR
Quando il diametro del calcolo è ≥ 7 mm, per la poco probabile espulsione spontanea	2	B
Quando non può essere ottenuta una adeguata risoluzione della colica	4	B
Quando l'ostruzione del calcolo si associa ad infezione*	4	B
Quando vi è rischio di pionefrosi o urosepsi*	4	B
In caso di monorene funzionale con ostruzione*	4	B
Quando l'ostruzione sia bilaterale*	4	B

*La derivazione urinaria preferibilmente con una nefrostomia percutanea o bypassando il calcolo con uno stent sono considerati requisiti minimi in questa categoria di pazienti (vedi capitolo 11). Possono essere considerati opzionali nei casi in cui venga effettuato direttamente un intervento disostruttivo con contestuale rimozione del calcolo e derivazione urinaria (LE: 4; GR: C).

Bibliografia

1. Tiselius HG, Alken P, Buck C, Gallucci M, Knoll T, Sarica K, Turk C. Guidelines on urolithiasis. European Association of Urology 2009; pp 1-116; update March 2008. http://www.uroweb.org/fileadmin/user_upload/Guidelines/18%20Urolithiasis.pdf.
2. Sandegard E. Prognosis of stone in the ureter. *Acta Chir Scand Suppl* 1956; 219: 1-67.
3. Morse RM, Resnick MI. Ureteral calculi: natural history and treatment in an era of advanced technology. *J Urol* 1991; 145(2): 263-5.
4. Ibrahim AI, Shetty SD, Awad RM, Patel KP. Prognostic factors in the conservative treatment of ureteric stones. *Br J Urol* 1991; 67(4): 358-61.
5. Miller OF, Kane CJ. Time to stone passage for observed ureteral calculi: a guide for patient education. *J Urol* 1999; 162(3 Pt 1): 688-90.
6. Hollingsworth JM, Rogers MA, Kaufman SR, Bradford TJ, Saint S, Wei JT, Hollenbeck BK. Medical therapy to facilitate urinary stone passage: a meta-analysis. *Lancet* 2006; 368(9542): 1171-9.
7. Dellabella M, Milanese G, Muzzonigro G. Randomized trial of the efficacy of tamsulosin, nifedipine and phloroglucinol in medical expulsive therapy for distal ureteral calculi. *J Urol* 2005; 174(1): 167-72.
8. Yilmaz E, Batislam E, Basar MM, Tuglu D, Ferhat M, Basar H. The comparison and efficacy of 3 different alpha1-adrenergic blockers for distal ureteral stones. *J Urol* 2005; 173(6): 2010-2.
9. Andersson L, Sylven M. Small renal caliceal calculi as a cause of pain. *J Urol* 1983; 130(4): 752-3.
10. Psihramis KE, Dretler SP. Extracorporeal shock wave lithotripsy of caliceal diverticula calculi. *J Urol* 1987; 138(4): 707-11.
11. Cury TA, Sonda LP, Lingeman JE, Kahnoski RJ. Treatment of painful caliceal stones. *Urology* 1988; 32(2): 119-23.
12. Lee MH, Lee YH, Chen MT, Huang JK, Chang LS. Management of painful caliceal stones by extracorporeal shock wave lithotripsy. *Eur Urol* 1990; 18(3): 211-4.
13. Hübner W, Porpacz P. Treatment of caliceal calculi. *Br J Urol* 1990; 66(1): 9-11.
14. Stroom SB, Yost A. Treatment of caliceal diverticular calculi with extracorporeal shock wave lithotripsy: patient selection and extended follow-up. *J Urol* 1992; 148(3 Pt 2): 1043-6.
15. Brandt B, Ostri P, Lange P, Kvist Kristensen J. Painful caliceal calculi. The treatment of small nonobstructing caliceal calculi in patients with symptoms. *Scand J Urol Nephrol* 1993; 27(1): 75-6.
16. Dhar M, Denstedt JD. Imaging in Diagnosis, Treatment, and Follow-up in Stone Patients. *ACKD* 2009; 16(1): 39-47.

9. Procedure per la rimozione dei calcoli renali

Attualmente le procedure a disposizione per la rimozione/risoluzione dei calcoli renali sono le seguenti:

1. ESWL: litotrixxia extracorporea (extracorporeal shock wave lithotripsy), inclusa la piezolitotrixxia.
2. PNL: nefrolitotomia percutanea (percutaneous nephrolithotomy).
3. RIRS: chirurgia intrarenale retrograda (retrograde intrarenal surgery).
4. LAP: chirurgia laparoscopica (laparoscopic surgery);
5. OS: chirurgia aperta (open surgery)

9.1 LITOTRIxxIA EXTRACORPOREA (ESWL)

Le indicazioni e i principi del trattamento della calcolosi renale con onde d'urto si sono profondamente modificati dal momento dell'introduzione di questa metodica. Le apparecchiature sono state migliorate, rese meno ingombranti, più maneggevoli e integrate in un tavolo urologico in modo da consentire eventuali manovre ausiliarie quando richieste.

L'ESWL può risolvere il 90% dei calcoli renali¹⁻³: il successo del trattamento dipende, oltre che dalla efficacia dell'apparecchio utilizzato, soprattutto da:

- dimensioni, numero, localizzazione e durezza dei calcoli;
- costituzione del paziente;
- esperienza dell'operatore⁴.

Le controindicazioni al trattamento con ESWL, oltre alla eventuale presenza di una ostruzione della via escrettrice, comprendono^{5,6}:

- gravidanza;
- gravi malformazioni scheletriche;
- obesità di grado severo;
- aneurisma dell'aorta e/o dell'arteria renale;
- difetti della coagulazione non compensati;
- infezione delle vie urinarie non risolta.

In particolare, per quest'ultima evenienza, in caso di calcolosi infetta o di batteriuria, il trattamento antibiotico dovrebbe essere intrapreso prima del trattamento con ESWL e proseguito per almeno 4 giorni dopo il trattamento (LE: 4, GR: C).

Calcoli di grosse dimensioni o particolarmente duri di consistenza, come quelli di ossalato monoidrato e di cistina, dovrebbero essere trattati con altre metodiche quali la PNL; lo stesso dicasi per le calcolosi molli o di matrice che non sono risolvibili con ESWL⁷⁻¹⁷.

Talvolta l'ESWL non è in grado di provocare la frantumazione completa del calcolo così che può essere indicata la ripetizione del trattamento. Il numero di sessioni di trattamento non dovrebbe essere superiore a 3 e, in caso contrario, dovrebbero essere prese in considerazione metodiche alternative¹⁸. Nelle sedute multiple è importante modulare il numero e la potenza delle onde d'urto somministrate allo scopo di ridurre la possibilità di complicanze. Non esiste, comunque, una regola definita per stabilire il numero, la potenza delle onde d'urto e l'intervallo tra i trattamenti. Questi parametri possono variare a seconda del tipo di apparecchio impiegato. Di certo, il rischio di complicanze aumenta con l'aumentare della potenza e del numero di onde d'urto. Anche la frequenza delle onde d'urto è direttamente proporzionale al rischio di complicanze e inversamente alla efficacia del trattamento¹⁸⁻²⁰.

La frequenza ottimale delle onde d'urto è 1,0-1,5 Hz (21) (LE: 3, GR: C).

Le anomalie anatomiche possono influenzare l'esito dell'ESWL. Le stesse anomalie che possono favorire la stasi e quindi la formazione di calcoli possono, altresì, ridurre il tasso di successo di questa metodica di trattamento, in quanto si viene a ridurre la clearance dei frammenti prodotti²²⁻²⁴.

Le complicanze della ESWL comprendono²⁵⁻³⁰:

- ematuria;
- ematoma renale e/o perirenale;
- dolore e/o colica;
- ostruzione della via escretrice (Steinstrasse) con conseguente idroureteronefrosi;
- febbre;
- occasionale urosepsi in seguito ad un difficoltoso transito dei frammenti litiasici residuati dopo il trattamento extracorporeo;
- raramente rottura del rene con conseguente nefrectomia (riportata in letteratura solo come case report).

La frequenza con cui compaiono le complicanze dipende dalle dimensioni della massa litiasica trattata, dal numero e dalla potenza delle onde d'urto.

Il posizionamento di uno stent ureterale preventivo riduce le complicanze ostruttive e infettive che possono verificarsi nel caso in cui la ESWL venga impiegata nel trattamento di calcoli di grosse dimensioni³¹.

Sebbene sia raccomandato il posizionamento di uno stent ureterale prima di un trattamento ESWL di calcoli di dimensioni superiori a 20 mm (> 300 mm²)³² (LE: 3, GR: B), l'uso routinario dello stent prima dell'ESWL sembrerebbe non migliorare i risultati del trattamento stesso in termini di raggiungimento della clearance completa³³ (LE: 1b, GR: A).

Lo stent ureterale può facilitare il passaggio di frammenti litiasici esternamente ad esso lungo il lume ureterale e garantisce il drenaggio dell'urina che può scorrere all'interno e attorno allo stent³⁴. Generalmente lo stent previene l'ostruzione e neutralizza le contrazioni dell'uretere. Occasionalmente, tuttavia, il tutore ureterale non è sufficiente per drenare materiale mucoside o purulento, e può pertanto aumentare il rischio di pielonefriti su base ostruttiva.

I fattori che influenzano l'esito dell'ESWL sono:

- sede del calcolo (pelvi o calici);
- massa litiasica (numero e volume totale);
- composizione e durezza del calcolo.

SEDE DEL CALCOLO

Il risultato dell'ESWL è più favorevole per i calcoli pelvici e per quelli localizzati nei calici superiori; si riduce progressivamente per i calcoli dei calici medi e inferiori. Il trattamento ottimale dei calcoli localizzati a livello del calice inferiore è ancora dibattuto. Nel 35-63% dei pazienti trattati con ESWL per calcolosi dei calici inferiori si riscontra una clearance incompleta dei frammenti localizzati a questo livello³⁴. È stata data importanza alla geometria del sistema caliceale inferiore (lunghezza e ampiezza del collettore, angolo infundibulo-pelvico) anche se la potenza statistica dei risultati non è sufficiente per discriminare gruppi di pazienti che possono beneficiare dell'ESWL, da quelli da indirizzare ad altri tipi di trattamento³⁵.

Indipendentemente dalla geometria del calice inferiore, le dimensioni del calcolo sono il parametro più importante nel condizionare il risultato³⁶⁻⁴⁰.

I migliori risultati sono stati ottenuti con la PNL, ma ovviamente è da tener conto della maggiore morbilità della metodica.

Di recente, viene con frequenza impiegata la litotrissia per via transureterale (o retrograda). Tuttavia, in uno studio multicentrico randomizzato⁴¹, non sono state dimostrate differenze significative tra ESWL e URS (o RIRS) dal punto di vista dei risultati nel trattamento della calcolosi dei calici inferiori (LE: 1b, GR: A).

Di certo, il perfezionamento che si è avuto nella strumentazione endourologica in realtà porta a pensare che tali risultati possano essere ulteriormente migliorati al punto da rendere la RIRS una valida alternativa se non la metodica di prima scelta.

MASSA LITIASICA

Sebbene i risultati siano inferiori aumentando la massa del calcolo, non esiste una dimensione definitivamente "critica". La maggior parte degli studi confermano, come limite superiore per il trattamento ESWL, i 20 mm (300 mm²); tuttavia, molti centri trattano con riferito successo anche calcoli di dimensioni maggiori^{42,43}.

È oltremodo difficile stabilire delle indicazioni precise in quanto frammenti residui possono essere presenti dopo un trattamento ESWL di un calcolo di dimensioni inferiori a 20 mm, mentre, in alcuni casi, calcoli di grandi dimensioni possono essere risolti con una unica seduta di ESWL senza residui.

Si raccomanda, comunque, la ESWL per calcoli di dimensioni ≤ 20 mm (circa 300 mm² di superficie), mentre, per calcoli di dimensioni superiori, deve essere considerata come prima scelta la PNL e, solo come opzione alternativa, la ESWL³⁴.

Per calcoli di dimensioni superiori a 40 x 30 mm (1200 mm²) la eventuale combinazione di PNL e ESWL (*sandwich therapy*) porterebbe ad una risoluzione completa della calcolosi in una percentuale del 71-96%, con un tasso di morbilità e di complicanze pur sempre accettabile. L'uso della ESWL dopo PNL sembra inoltre essere più efficace rispetto al contrario³⁴.

COMPOSIZIONE E DUREZZA DEL CALCOLO

La composizione chimica del calcolo influenza la sua durezza e quindi può spiegare i diversi risultati descritti con la ESWL nel trattamento di calcoli di dimensioni sovrapponibili. Calcoli di ossalato di calcio diidrato e di acido urico puro sono maggiormente suscettibili di frammentazione rispetto a calcoli di ossalato monoidrato e di cistina¹². Per tale motivo, attualmente, è stato suggerito che il limite, per i calcoli di cistina da trattarsi con ESWL, non sia >15 mm; mentre per calcoli di dimensioni superiori è raccomandata la PNL in monoterapia o associata all'ESWL⁴⁴⁻⁴⁶.

Bibliografia

1. Miller NL, Lingeman JE. Management of kidney stones. *BMJ* 2007; 334(7591): 468-72.
2. Wen CC, Nakada SY. Treatment selection and outcomes: renal calculi. *Urol Clin North Am* 2007; 34(3): 409-19.
3. Galvin DJ, Pearle MS. The contemporary management of renal and ureteric calculi. *BJU Int* 2006; 98(6): 1283-8.
4. Logarakis NF, Jewett MAS, Luymes J, D'A Honey RJ. Variation in shock wave lithotripsy. *J Urol* 2000; 163(3): 721-5.
5. Loughlin KR. Management of urologic problems during pregnancy. *Urology* 1994; 44(2): 159-69.
6. Ignatoff JM, Nelson JB. Use of extracorporeal shock wave lithotripsy in a solitary kidney with renal artery aneurysm. *J Urol* 1993; 149(2): 359-60.
7. Di Silverio F, Gallucci M, Alpi G. Staghorn calculi of the kidney: classification and therapy. *Br J Urol* 1990; 65(5): 449-52.
8. Lam HS, Lingeman JE, Barron M, Newman DM, Mosbaugh PG, Steele RE, Knapp PM, Scott JW, Nyhuis A, Woods Jr. Staghorn calculi: analysis of treatment results between initial percutaneous nephrostolithotomy and extracorporeal shock wave lithotripsy monotherapy with reference to surface area. *J Urol* 1992; 147(5): 1219-25.
9. Lingeman JE, Newmann D, Mertz JH, Mosbaugh PG, Steele RE, Kahnoski RJ, Coury TA, Woods Jr. Extracorporeal shock wave lithotripsy: the Methodist Hospital of Indiana experience. *J Urol* 1986; 135(6): 1134-7.
10. Politis G, Griffith DP. ESWL: stone free efficacy based upon stone size and location. *World J Urol* 1987; 5: 225-8.
11. Lingeman JE, Coury TA, Newman DM, Kahnoski RJ, Mertz JH, Mosbaugh PG, Steele RE, Woods Jr. Comparison of results and morbidity of percutaneous nephrostolithotomy and extracorporeal shock wave lithotripsy. *J Urol* 1987; 138(3): 485-90.
12. Mays N, Challah S, Patel S, Palfrey E, Creeser R, Vadera P, Burney P. Clinical comparison of extracorporeal shock wave lithotripsy and percutaneous nephrolithotomy in treating renal calculi. *BMJ* 1988; 297(6643): 253-8.
13. Graff J, Diederichs W, Schulze H. Long term follow-up in 1,003 extracorporeal shock wave lithotripsy patients. *J Urol* 1988; 140(3): 479-83.
14. Hochev NM, Lingeman JE, Hutchinson CL. Relative efficacy of extracorporeal shock wave lithotripsy and percutaneous nephrolithotomy in the management of cystine calculi. *J Endourol* 1989; 3: 273-5.
15. Lingeman JE. Relative roles of extracorporeal shock wave lithotripsy and percutaneous nephrolithotomy. In: Lingeman JE, Newman DM, eds. *Shock Wave Lithotripsy 2: Urinary and Biliary Lithotripsy*. Vol 1. New York: Plenum Press, 1989, pp. 303-308.
16. Gallucci M, Alpi G, Cassanelli A et al. Six-year follow-up in patients treated with PCNL and ESWL for staghorn stones. *J Endourol* 1993; 7(Suppl 1): S105.
17. Tiselius HG, Ringdén I. Stone treatment index: a mathematical summary of the procedure for removal

- of stones from the urinary tract. *J Endourol* 2007; 21(11): 1261-70.
18. Graber SF, Danuser H, Hochreiter WW, Studer UE. A prospective randomized trial comparing 2 lithotripters for stone disintegration and induced renal trauma. *J Urol* 2003; 169(1): 54-7.
 19. Villanyi KK, Szekely JG, Farkas LM, Javor E, Pusztai C. Short term changes in renal function after extracorporeal shock wave lithotripsy in children. *J Urol* 2001; 166(1): 222-4.
 20. Pishchalnikov YA, McAteer JA, Williams JC Jr, Pishchalnikova IV, Vonderhaar RJ. Why stones break better at slow shock wave rates than at fast rates: in vitro study with a research electrohydraulic lithotripter. *J Endourol* 2006; 20(8): 537-41.
 21. Yilmaz E, Batislam E, Basar M, Tuglu D, Mert C, Basar H. Optimal frequency in extracorporeal shock wave lithotripsy: prospective randomized study. *Urology* 2005; 66(6): 1160-4.
 22. Locke DR, Newman RC, Steinbock GS, Finlayson B. Extracorporeal shock-wave lithotripsy in horseshoe kidneys. *Urology* 1990; 35(5): 407-11.
 23. Jones DJ, Wickham JE, Kellelt MJ. Percutaneous nephrolithotomy for calculi in horseshoe kidneys. *J Urol* 1991; 145(3): 481-3.
 24. Holmes SA, Eardley I, Corry DA, Nockler I, Withfield HN. The use of extracorporeal shock wave lithotripsy for medullary sponge kidneys. *Br J Urol* 1992; 70(4): 352-4.
 25. Grasso M, Loisedes P, Beaghtler M, Bagley D. The case for primary endoscopic management of upper urinary tract calculi: I. A critical review of 121 extracorporeal shock-wave lithotripsy failures. *Urology* 1995; 45(3): 363-71.
 26. Murray MJ, Chandoke PS, Berman CJ, Sankey NE. outcome of extracorporeal lithotripsy monotherapy for large renal calculi: effect of stone and collecting system surface areas and cost effectiveness of treatment. *J Endourol* 1995; 9(1): 9-13.
 27. Ackermann D, Claus R, Zehntner CH, Schreiber K. Extracorporeal shock wave lithotripsy for large renal stones. To what size is extracorporeal shock wave lithotripsy alone feasible? *Eur Urol* 1988; 15(1-2): 5-8.
 28. Burns T, Stein J, Tauber R. Extracorporeal piezoelectric shock wave lithotripsy as mono- and multiple therapy of large renal calculi including staghorn stones in unanaesthetized patients under semiambulant conditions. *Br J Urol* 1995; 75(4): 435-40.
 29. BalTCi S, Köhle R, Kunit G, Joos H, Frick J. Long-term follow-up after extracorporeal shock wave lithotripsy of large kidney stones. *Eur urol* 1992; 22(2): 106-11.
 30. Michaels Ek, Fowler JE Jr. ESWL monotherapy for large volume renal calculi: efficacy and morbidity. *Urology* 1989; 34(2): 96-9.
 31. Bierkens AF, Hendrikk AJ, Lemmens WA, Debruyne FM. Extracorporeal shock wave lithotripsy for large renal calculi: the role of ureteral stents. a randomized trial. *J Urol* 1991; 145(4): 699-702.
 32. Sulaiman MN, Buchholz NP, Clark PB. The role of ureteral stent placement in the prevention of Steinstrasse. *J Endourol* 1999; 13(3): 151-5.
 33. Musa AA. Use of double-J stents prior to shock wave lithotripsy is not beneficial: results of a prospective randomized study. *Int Urol Nephrol* 2008; 40(1): 19-22.
 34. Tiselius HG, Alken P, Buck C, Gallucci M, Knoll T, Sarica K, Turk C. Guidelines on urolithiasis. European Association of Urology 2009; pp 1-116; update March 2008. http://www.uroweb.org/fileadmin/user_upload/Guidelines/18%20Urolithiasis.pdf.
 35. Danuser H, Müller R, Desoedres B, Dobry E, Studer UE. Extracorporeal shock wave lithotripsy of lower calyx calculi: how much is treatment outcome influenced by the anatomy of the collecting system? *Eur Urol* 2007; 52(2): 539-46.
 36. Srivastava A, Zaman W, Singh V, Mandhani A, Kumar A, Sing U. Efficacy of extracorporeal shock wave lithotripsy for solitary lower calyceal stone: a statistical model. *BJU Int* 2004; 93(3): 364-8.
 37. Ather MH, Abid F, Akhtar S, Khawaja K. Stone clearance in lower pole nephrolithiasis after extracorporeal shock wave lithotripsy—the controversy continues. *BMC Urol* 2003; 3: 1.
 38. Albala DM, Assimos DG, Clayman RV, Denstedt JD, Grasso M, Gutierrez-Aceves J, Khan RI, Leveillee RJ, Lingeman JE, Macaluso JN Jr, Munch LC, Nakada SY, Newman RC, Pearle MS, Preminger GM, Teichman J, Woods Jr. Lower pole I: a prospective randomized trial of extracorporeal shock wave lithotripsy and percutaneous nephrolithotomy for lower pole nephrolithiasis—initial results. *J Urol* 2001; 166(6): 2072-80.
 39. Sorensen CM, Chandoke PS. Is lower pole calyceal anatomy predictive of extracorporeal shock wave lithotripsy success for primary lower pole kidney stones? *J Urol* 2002; 168(6): 2377-82.
 40. Sistla BW, Devasia A, Ganavaj I, Chacko NK, Kekre NS, Gopalarishnan G. Radiographic anatomical factors do not predict clearance of lower calyceal calculus by SWL. Proceedings 22nd World Congress on Endourology and SWL, India, 2004. *J Endourol* 2004; 18(S1): abstr 53.

41. Pearle MS, Lingeman JE, Leveillee R, Kuo R, Preminger GM, Nadler RB, Macaluso J, Monga M, Kumar U, Dushinski J, Albala DM, Wolf JS Jr, Assimos D, Fabrizio M, Munch LC, Nakada SY, Auge B, Honey J, Ogan K, Pattaras J, McDougall EM, Averch TD, Turk T, Pietrow P, Watkins S. Prospective, randomized trial comparing shock wave lithotripsy and ureteroscopy for lower pole calyceal calculi 1 cm or less. *J Urol* 2005; 173(6): 2005-9.
42. Coz F, Orvieto M, Bustos M, Lyng R, Stein C, Hinrichs A, San Francisco I. Extracorporeal shockwave lithotripsy of 2000 urinary calculi with the Modulith SL-20: success and failure according to size and location of stones. *J Endourol* 2000; 14(3): 239-46.
43. Rassweiler JJ, Renner C, Chaussy C, Thüroff S. Treatment of renal stones by extracorporeal shockwave lithotripsy: an update. *Eur Urol* 2001; 39(2): 187-99.
44. Katz G, Lencovsky Z, Pode D, Shapiro A, Caine M. Place of extracorporeal shock-wave lithotripsy (ESWL) in the management of cystine calculi. *Urology* 1990; 36(2): 124-8.
45. Cranidis AI, Karayannis AA, Delakas DS, Livadas CE, Anezinis PE. Cystine stones: the efficacy of percutaneous and shock wave lithotripsy. *Urol Int* 1996; 56(3): 180-3.
46. Bhatta KM, Prien EL Jr, Dretler SP. Cystine calculi-rough and smooth: a new clinical distinction. *J Urol* 1989; 142(4): 937-40.

9.2 LITOTRISSIA PERCUTANEA (PNL)

La PNL è la metodica di scelta per calcoli di dimensioni superiori a 20 mm (300 mm²). Per calcoli di dimensioni inferiori, la PNL deve essere presa in considerazione nel caso in cui si ipotizzi che l'ESWL non sia in grado di dare o non abbia dato un risultato favorevole. La PNL è una metodica, pur sempre relativamente, mini-invasiva: deve essere infatti considerata a tutti gli effetti un atto chirurgico e, per cercare di evitare complicanze, è necessario, in prima istanza, esaminare con attenzione l'anatomia del paziente e della via escrettrice.

La radiografia diretta dell'addome, l'ecografia dell'addome, la urografia ev e la TC con mezzo di contrasto, sono le indagini più comunemente impiegate nella pianificazione dell'accesso e della strategia operatoria allo scopo di aumentare la probabilità di successo della metodica. Nel caso in cui venga eseguita l'urografia ev, può essere utile eseguire anche una ecografia, allo scopo di^{1,2}:

- determinare l'accesso ottimale alla via escrettrice;
- valutare lo spessore parenchimale;
- valutare la posizione degli organi limitrofi (milza, fegato, colon, pleura e polmone).

La PNL può essere eseguita in posizione sia prona sia supina. Una posizione supina modificata può essere scelta nei casi in cui venga ritenuto utile e/o indispensabile effettuare un simultaneo trattamento per via retrograda³⁻⁵.

Il primo passo della PNL è il posizionamento di un catetere ureterale, allo scopo di opacizzare la via escrettrice, ridurre la possibilità di una discesa dei frammenti litiasici durante la procedura di frammentazione e di drenare la via urinaria nel post-operatorio.

La puntura del rene può essere fatta sotto controllo radiologico, ecografico o combinato.

Raramente viene eseguita la puntura TC guidata^{6,7}.

L'accesso ideale è quello attraverso il calice inferiore posteriore e il minor traumatismo e rischio di emorragia si ottiene con la puntura attraverso la papilla renale, in quanto in tale sede non sono presenti vasi di grosso calibro e la maggior parte della vascolarizzazione decorre parallelamente alla direzione del calice⁸.

Accessi attraverso calici diversi da quello inferiore, vengono scelti in casi particolari, come talvolta in caso di calcolosi a stampo o nella calcolosi in rene a ferro di cavallo, dove è sovente preferibile l'approccio attraverso i calici superiori⁹. La necessità di accessi multipli, attualmente, si è ridotta di frequenza per la disponibilità di strumenti flessibili che consentono di raggiungere anche dai calici inferiori altri calici inaccessibili allo strumento rigido.

La dilatazione del tramite nefrocuteaneo può essere effettuata con dilatatore a palloncino, con dilatatori teflonati o con dilatatori metallici. La scelta dipende dall'esperienza dell'operatore, dalla disponibilità del materiale, dai costi e, in alcuni casi, dalla situazione anatomica. Il calibro degli strumenti può variare da 24 a 30 F. Strumenti di calibro inferiore (*"mini-perc"*) vengono indicati solo per calcoli di diametro inferiore a 20 mm o come prima scelta nella PNL nei soggetti in età pediatrica¹⁰⁻¹². Inoltre possono essere utili in caso sia necessario ricorrere ad accessi multipli per frammenti non raggiungibili con la strumentazione flessibile attraverso il primitivo accesso. La frantumazione del calcolo può essere effettuata con sonda ultrasonica, pneumatica, combinata ultrasonica e pneumatica, laser o elettroidraulica (Tabella 13).

Tabella 13. Preferenza nella scelta delle diverse fonti di energia per la litotrixxia percutanea

Preferenza	Tipo di energia	LE	GR
1	Ultrasuoni	4	C
2	Pneumatica	4	C
3	Laser *	4	C
3	Elettroidraulica *	4	C

*La sonda laser e elettroidraulica vengono impiegate come prima e seconda scelta (Preferenza 1 e 2) con la strumentazione flessibile.

La rimozione dei frammenti deve essere quanto più completa possibile per ridurre la possibilità di frammenti "sintomatici" e/o di recidive anche a breve termine. In casi di calcolosi complessa, la bonifica completa può richiedere un secondo trattamento percutaneo (*second-look*) o un trattamento ESWL seguito da un *second-look* percutaneo (*sandwich therapy*).

Al termine dell'intervento, è consigliabile derivare la via escretrice con una nefrostomia. In casi non complicati, una alternativa è quella di drenare la via escretrice con uno stent ureterale tipo doppio-J (*tubeless PNL*) associando o meno l'applicazione di colle nel tramite percutaneo o la sua diatermocoagulazione^{13,16} (LE: 1b, GR: A)

La PNL è indicata per calcoli di dimensioni superiori a 20 mm (300 mm²) (1) (LE: 1b, GR: A). Per calcoli del calice inferiore ESWL, PNL e RIRS sono metodiche fra loro alternative con diversi tassi di successo, percentuali di complicanze e accettabilità dal parte del paziente^{14,15} (LE: 1b, GR: A).

COMPLICANZE

Le complicanze maggiori, anche se poco frequenti, riguardano le lesioni degli organi limitrofi, che possono essere evitate con un corretto studio preoperatorio e con l'impiego della puntura ecoguidata. Recentemente, è stata data importanza alla posizione supina o semi-supina per ridurre la possibilità di lesioni del colon. Il sanguinamento è generalmente accettabile, se la puntura avviene sul piano corretto. La sepsi può comparire soprattutto in caso di trattamento di calcolosi infetta. La sindrome da "riassorbimento" è stata riportata per procedure molto lunghe e indaginose. Queste complicanze vengono minimizzate con l'impiego della "camicia di Amplatz" che garantisce il libero drenaggio del liquido di irrigazione consentendo di mantenere un flusso continuo con valori di pressione endorenale entro i limiti di sicurezza^{1-13,17}. Per emorragie maggiori può essere necessario sospendere l'intervento e riprenderlo in un tempo successivo. Emorragie venose possono essere arrestate chiudendo, inizialmente, la nefrostomia nell'immediato postoperatorio. Emorragie persistenti o tardive, legate piuttosto a una lesione arteriosa o alla comparsa di una fistola artero-venosa vanno obbligatoriamente, e nell'immediato, indagate mediante angiografia superselettiva a cui far seguire un'eventuale embolizzazione¹⁸.

Come la chirurgia a cielo aperto, anche la PNL può presentare vari gradi di difficoltà dipendenti dall'anatomia del paziente, dalla situazione locale (es. diverticoli caliceali) o dal tipo di calcolo (di grosse dimensioni, che occupi completamente il calice d'accesso; calcoli a stampo). In questi casi l'esperienza dell'operatore è di grande utilità, influenzandone i risultati.

Bibliografía

1. Kim SC, Kuo RL, Lingeman JE. Percutaneous nephrolithotomy: an update. *Curr Opin Urol* 2003; 13(3): 235-41.
2. Knoll T, Michel MS, Alken P. Surgical atlas. Percutaneous nephrolithotomy: the Mannheim technique. *BJU Int* 2007; 99(1): 213-31.
3. Valdivia Uría JG, Valle Gerhold J, López López JA, Villarroja Rodríguez S, Ambroj Navarro C, Ramirez Fabián M, Rodríguez Bazalo JM, Sánchez Elipe MA. Technique and complications of percutaneous nephroscopy: experience with 557 patients in the supine position. *J Urol* 1998; 160(6 Pt 1): 1975-8.
4. Ibarluzea G, Scoffone CM, Cracco CM, Poggio M, Porpiglia F, Terrone C, Astobieta A, Camargo I, Gamarra M, Tempia A, Valdivia Uría JG, Scarpa RM. Supine Valdivia and modified lithotomy position for simultaneous antegrade and retrograde endourological access. *BJU Int* 2007; 100(1): 233-6.
5. Scoffone CM, Cracco CM, Cossu M, Grande S, Poggio M, Scarpa RM. Endoscopic combined intrarenal surgery in Galdakao-modified supine Valdivia position: a new standard for percutaneous nephrolithotomy? *Eur Urol* 2008; 54(6): 1393-403.
6. Osman M, Wendt-Nordahl G, Heger K, Michel MS, Alken P, Knoll T. Percutaneous nephrolithotomy with ultrasonography-guided renal access: experience from over 300 cases. *BJU Int* 2005; 96(6): 875-8.
7. Matlaga BR, Shah OD, Zagoria RJ, Dyer RB, Streem SB, Assimos DG. Computerized tomography guided access for percutaneous nephrolithotomy. *J Urol* 2003; 170(1): 45-7.
8. Sampaio FJ, Zanier JF, Aragão AH, Favorito LA. Intrarenal access: 3-dimensional anatomical study. *J Urol* 1992; 148(6): 1769-73.
9. Tiselius HG, Alken P, Buck C, Gallucci M, Knoll T, Sarica K, Turk C. Guidelines on urolithiasis. European Association of Urology 2009; pp 1-116; update March 2008. http://www.uroweb.org/fileadmin/user_upload/Guidelines/18%20Urolithiasis.pdf.
10. Lahme S, Bichler KH, Strohmaier WL, Gotz T. Minimally invasive PCNL in patients with renal pelvic and calyceal stones. *Eur Urol* 2001; 40(6): 619-24.
11. Jackman SV, Hedican SP, Peters CA, Docimo SG. Percutaneous nephrolithotomy in infants and preschool age children: experience with a new technique. *Urology* 1998; 52(4): 697-701.
12. Desai M, Ridhorkar V, Patel S, Bapat S, Desai M. Pediatric percutaneous nephrolithotomy: assessing impact of technical innovations on safety and efficacy. *J Endourol* 1999; 13(5): 359-64.
13. Feng MI, Tamaddon K, Mikhail A, Kaptein JS, Bellman GC. Prospective randomized study of various techniques of percutaneous nephrolithotomy. *Urology* 2001; 58(3): 345-50.
14. Pearle MS, Lingeman JE, Leveillee R, Kuo R, Preminger GM, Nadler RB, Macaluso J, Monga M, Kumar U, Dushinski J, Albala DM, Wolf JS Jr, Assimos D, Fabrizio M, Munch LC, Nakada SY, Auge B, Honey J, Ogan K, Pattaras J, McDougall EM, Averch TD, Turk T, Pietrow P, Watkins S. Prospective, randomized trial comparing shock wave lithotripsy and ureteroscopy for lower pole calyceal calculi 1 cm or less. *J Urol* 2005; 173(6): 2005-9.
15. Albala DM, Assimos DG, Clayman RV, Denstedt JD, Grasso M, Gutierrez-Aceves J, Kahn RI, Leveillee RJ, Lingeman JE, Macaluso JN Jr, Munch LC, Nakada SY, Newman RC, Pearle MS, Preminger GM, Teichman J, Woods JR. Lower pole I: a prospective randomized trial of extracorporeal shock wave lithotripsy and percutaneous nephrostolithotomy for lower pole nephrolithiasis-initial results. *J Urol* 2001; 166(6): 2072-80.
16. Desai MR, Kukreja RA, Desai MM, Mhaskar SS, Wani KA, Patel SH, Bapat SD. A prospective randomized comparison of type of nephrostomy drainage following percutaneous nephrostolithotomy: large bore versus small bore versus tubeless. *J Urol* 2004; 172(2): 565-7.
17. Troxel SA, Low RK. Renal intrapelvic pressure during percutaneous nephrolithotomy and its correlation with the development of postoperative fever. *J Urol* 2002; 168(4 Pt 1): 1348-51.
18. Patterson DE, Segura JW, LeRoy AJ, Benson RC Jr, May G. The etiology and treatment of delayed bleeding following percutaneous lithotripsy. *J Urol* 1985; 133(3): 447-51.

9.3 LITOTRISSIA RENALE PER VIA URETERORENOSCOPICA (URS) O RETROGRADA (RIRS)

ESWL e PNL rappresentano il trattamento di prima scelta nella calcolosi renale, rispettivamente, per calcoli di dimensioni inferiori o uguali, o superiori a 20 mm (300 mm²). Il miglioramento della strumentazione e la disponibilità di ureterorenoscopi flessibili di ultima generazione ha reso possibile l'introduzione della via retrograda per il trattamento della calcolosi renale. Questa procedura viene attualmente denominata RIRS.

TECNICA

La tecnica è ormai standardizzata¹⁻³:

- è necessaria una adeguata profilassi allo scopo di sterilizzare le urine^{4,5} (LE: 4, GR: C);
- è indispensabile avere a disposizione un sistema radioscopico (fluoroscopico) in sala operatoria;
- l'imaging preoperatorio è necessario per confermare la localizzazione del calcolo e per avere una road-map che metta in evidenza eventuali anomalie anatomiche;
- il passo iniziale prevede l'esecuzione di una cistoscopia con strumento rigido o flessibile con evidenziazione dell'ostio ureterale;
- deve essere posizionata una guida di sicurezza metallica con estremità flessibile alloggiata nella via escrettrice superiore. La guida di sicurezza consente di ritrovare la via nel caso si dovessero verificare inconvenienti durante l'intervento (quale una perforazione della via escrettrice);
- la dilatazione dell'ostio ureterale e dell'uretere intramurale non è strettamente necessaria e dipende dalla compliance dell'uretere e dal calibro degli strumenti utilizzati. E' preferibile eseguire la dilatazione con dilatatore a palloncino gonfiato manualmente; solo in caso di mancata distensione dell'ostio o dell'uretere, si utilizzerà la siringa a vite con manometro;
- l'accesso retrogrado alla via escrettrice superiore è in genere effettuato inizialmente con l'ureterorenoscopio rigido a fianco alla guida di sicurezza, con progressione dello strumento sotto costante controllo visivo diretto;
- l'introduzione dell'ureterorenoscopio flessibile avviene più facilmente utilizzando una seconda guida coassiale o posizionando una camicia introduttrice. In mani esperte gli ureterorenoscopi di ultima generazione possono essere introdotti sotto visione diretta;
- la litotrixxia viene effettuata con diversi dispositivi allo scopo di ridurre il calcolo in polvere o in frammenti di dimensioni tali da poter essere estratti. Le sorgenti impiegate sono quella laser ed elettroidraulica (entrambi utilizzabili con strumento flessibile), quella pneumatica e quella ultrasonica;
- piccoli frammenti possono essere estratti con cestelli o pinze;
- l'irrigazione manuale mediante siringa consente di migliorare la visione; va tuttavia evitato di esercitare una pressione eccessiva per il rischio di danneggiare la via escrettrice;
- il posizionamento di uno stent ureterale al termine del trattamento è una manovra non codificata. Ne è suggerito l'impiego in caso di via escrettrice danneggiata da calcolosi o da manovre strumentali e procedura protratta, soprattutto se in asse escretore unico⁶⁻¹⁶;
- il calcolo va rigorosamente estratto sotto controllo visivo (LE: 4, GR: C).

Per il trattamento di calcoli renali vengono impiegati sia lo strumento rigido che quello flessibile. Le limitazioni dello strumento rigido riguardano il fatto che non è in grado di accedere a tutte le cavità renali. Le limitazioni dello strumento flessibile sono rappresentate dalla qualità dell'immagine, sensibilmente inferiore rispetto a quella dello strumento rigido e dalla minore efficacia degli accessori. Tale limite si è ridotto con l'impiego di strumenti con telecamera miniaturizzata collocata sull'estremità dello strumento.

Le onde pneumatiche sono in grado di frantumare virtualmente ogni tipo di calcolo ma possono essere impiegate solo con lo strumento rigido e si associano a potenziale retrospulsione del calcolo. Il tasso di frammentazione raggiunge con l'uso di tale sorgente il 90-96%¹⁻¹⁸.

Il laser a olmio (Ho:YAG laser) è una fonte di energia efficace e sicura per la maggior parte dei calcoli e rappresenta il sistema di frantumazione di prima scelta se si impiega lo strumento flessibile: in questo caso, sono da preferire le fibre da 200 μ che riducono solo di poco la capacità di deflessione dello strumento¹⁹⁻²⁶.

La sorgente elettroidraulica può essere impiegata soprattutto per calcoli di grosse dimensioni, ma le elevate pressioni che determina possono danneggiare la via escrettrice o lo strumento²⁷⁻³¹.

Esistono diversi tipi di accessori per afferrare i calcoli e i frammenti litiasici, come pinze e cestelli. Gli accessori in nitinol di nuova concezione, pur se più vulnerabili nei confronti dei sistemi di frantumazione, sono preferibili in quanto preservano la deflessione degli strumenti e consentono di ridurre i danni alla mucosa.^{26,32-33} (LE: 2b/3, GR: B).

DILATAZIONE, CAMICIA INTRODUTTRICE E STENT

Come si è sopra detto, l'impiego di strumenti di piccolo calibro, in questi ultimi anni, ha ridotto la necessità di dilatare l'ostio ureterale e l'uretere intramurale. Tale pratica è consigliabile tuttavia se è prevedibile la reiterata introduzione dello strumento nella via escrettrice coinvolta o in presenza di calcoli potenzialmente estraibili integri.

Le camicie introduttrici teflonate hanno il vantaggio di evitare traumi all'uretere, diminuire il rischio di stenosi ureterali iatrogene, ridurre i tempi operatori, preservare lo strumento da danni accidentali e mantenere una bassa pressione di irrigazione³⁴⁻³⁹.

Diversi studi prospettici randomizzati hanno dimostrato che il posizionamento di uno stent al termine di una ureterorenoscopia non complicata è opzionale in quanto può ridurre temporaneamente la qualità di vita inducendo una sintomatologia dolorosa e irritativa vescicale, aumenta i costi del trattamento e può associarsi a complicanze quali infezione, incrostazione ed ostruzione del lume^{10-16,40-47} (LE: 1a, GR: A).

Nonostante la terapia di prima scelta per calcoli renali di dimensioni inferiori a 20 mm sia rappresentata dall'ESWL, i risultati del trattamento sono modesti per i calcoli contenuti nei calici inferiori. Per tale motivo un trattamento PNL può essere giustificato, in prima istanza, per i calcoli di diametro superiore ai 10 mm soprattutto se di composizione chimica dura⁴⁸. L'URS con strumento flessibile deve essere menzionata come alternativa efficace nel trattamento dei calcoli localizzati nel polo renale inferiore e può rappresentare una scelta di prima linea per i calcoli resistenti all'ESWL⁴⁹⁻⁵¹ (LE: 1b, GR: A).

L'URS può essere opportuna nei casi in cui la ESWL sia controindicata o sia già in preventivo un rischio di fallimento della stessa^{30,52,53} (LE: 4, GR: C).

Diversi autori hanno riportato un incremento delle percentuali di stone-free impiegando in combinazione ESWL, PNL e URS. L'approccio simultaneo di URS e PNL offre importanti prospettive nel trattamento di calcoli renali di grosse dimensioni, riducendo la necessità di effettuare accessi multipli: tuttavia, allo stato attuale, non può essere considerata una metodica routinaria^{54,55}.

COMPLICANZE

Le complicanze più frequenti dell'URS sono rappresentate da sepsi, Steinstrasse, lesioni della via escrettrice e infezione urinaria. Vengono riportate anche la perdita del rene e la morte del paziente. Complicanza tardiva è rappresentata dalla stenosi ureterale⁵⁶.

Perforazioni della via escrettrice possono essere semplicemente trattate con il posizionamento di uno stent per qualche settimana⁵⁷⁻⁵⁹. La complicanza più temibile è rappresentata dall'avulsione dell'uretere che può richiedere un intervento riparativo d'urgenza o demolitivo^{56,60,61}.

Bibliografia

1. Elashry OM, Elbahnasy AM, Rao GS, Nakada SY, Clayman RV. Flexible ureteroscopy: Washington university experience with the 9.3F and 7.5F flexible ureteroscopes. *J Urol* 1997; 157(6): 2074-80.
2. Beiko DT, Denstedt JD. Advances in ureterorenoscopy. *Urol Clin North Am* 2007; 34(3): 397-408.
3. Smith RD, Patel A. Impact of flexible ureterorenoscopy in current management of nephrolithiasis. *Curr Opin Urol* 2007; 17(2): 114-9.
4. Knopf HJ, Graff HJ, Schulze H. Perioperative antibiotic prophylaxis in ureteroscopic stone removal. *Eur Urol* 2003; 44(1): 115-8.
5. Grabe M. Perioperative antibiotic prophylaxis in urology. *Curr Opin Urol* 2001; 11(1): 81-5.
6. Netto NR Jr, Claro Jde A, Esteves SC, Andrade EF. Ureteroscopic stone removal in the distal ureter. Why change?. *J Urol* 1997; 157(6): 2081-3.
7. Harmon WJ, Sershon PD, Blute ML, Patterson DE, Segura JW. Ureteroscopy: current practice and long-term complications. *J Urol* 1997; 157(1): 28-32.
8. Monga M. Accessory instrumentation for ureteroscopy. *Curr Opin Urol* 2004; 14(2): 107-9.
9. Portis AJ, Rygwall R, Holtz C, Pshon N, Laliberte M. Ureteroscopic laser lithotripsy for upper urinary tract calculi with active fragment extraction and computerized tomography follow-up. *J Urol* 2006; 175(6): 2129-33.
10. Byrne RR, Auge BK, Kourambas J, Munver R, Delvecchio F, Preminger GM. Routine ureteral stenting is not necessary after ureteroscopy and ureteropyeloscopy: a randomized trial. *J Endourol* 2002; 16(1): 9-13.
11. Srivastava A, Gupta R, Kumar A, Kapoor R, Mandhani A. Routine stenting after ureteroscopy for distal ureteral calculi is unnecessary: results of a randomized controlled trial. *J Endourol* 2003; 17(10): 871-4.
12. Jeong H, Kwak C, Lee SE. Ureteric stenting after ureteroscopy for ureteric stones: a prospective randomized study assessing symptoms and complications. *BJU Int* 2004; 93(7): 1032-1034; discussion 1034-5.
13. Damiano R, Autorino R, Esposito C, Cantiello F, Sacco R, De Sio M, D'Armiento M. Stent positioning after ureteroscopy for urinary calculi: the question is still open. *Eur Urol* 2004;46(3):381-7.
14. Keeley FX Jr, Timoney AG. Routine stenting after ureteroscopy: think again. *Eur Urol* 2007; 52(3): 642-4.
15. Nabi G, Cook J, N'dow J, McClinton S. Outcomes of stenting after uncomplicated ureteroscopy: systematic review and meta-analysis. *BMJ* 2007; 334(7593): 572.
16. Haleblan G, Kijvikai K, De La Rosette J, Preminger G. Ureteral stenting and urinary stone management: a systematic review. *J Urol* 2008; 179(2): 424-30.
17. Miroglu C, Horasanli K, Tanriverdi O, Altay B, Gumus E. Operative failure during ureteroscopic pneumatic lithotripsy: factors affecting successful outcome. *Urol Int* 2006; 77(2): 148-51.
18. Tunc L, Kupeli B, Senocak C, Alkibay T, Sözen S, Karaoglan U, Bozkirli I. Pneumatic lithotripsy for large ureteral stones: is it the first line treatment? *Int Urol Nephrol* 2007; 39(3): 759-64.
19. Grasso M. Experience with the holmium laser as an endoscopic lithotrite. *Urology* 1996; 48(2): 199-206.

20. Grasso M, Chalik Y. Principles and applications of laser lithotripsy: experience with the holmium laser lithotripter. *J Clin Laser Med Surg* 1998; 16(1): 3-7.
21. Jeon SS, Hyun JH, Lee KS. A comparison of holmium:Yag laser with Lithoclast lithotripsy in ureteral calculi fragmentation. *Int J Urol* 2005; 12(6): 544-7.
22. Gupta PK. Is the holmium:Yag laser the best intracorporeal lithotripter for the ureter?. A 3-year retrospective study. *J Endourol* 2007;21(3):305-9.
23. Gould DL. Retrograde flexible ureterorenoscopic holmium-Yag laser lithotripsy: the new gold standard. *Tech Urol* 1998; 4(1): 22-4.
24. Tawfik ER, Bagley DH. Management of upper urinary tract calculi with ureteroscopic techniques. *Urology* 1999; 53(1): 25-31.
25. Scarpa RM, De Lisa A, Porru D, Usai E. Holmium:Yag laser ureterolithotripsy. *Eur Urol* 1999; 35(3): 233-8.
26. Michel MS, Knoll T, Ptaschnyk T, Köhrmann KU, Alken P. Flexible ureterorenoscopy for the treatment of lower pole calix stones: influence of different lithotripsy probes and stone extraction tools on scope deflection and irrigation flow. *Eur Urol* 2002; 41(3): 312-6.
27. Teichman JM, Rao RD, Rogenes VJ, Harris JM. Ureteroscopic management of ureteral calculi: electrohydraulic versus holmium:Yag lithotripsy. *J Urol* 1997; 158(4): 1357-61.
28. Santa-Cruz RW, Leveillee RJ, Krongrad A. Ex vivo comparison of four lithotripters commonly used in the ureter: what does it take to perforate? *J Endourol* 1998; 12(5): 417-22.
29. Yeniol CO, Ayder AR, Minareci S, Çiçek S, Süelözgen T. Comparison of intracorporeal lithotripsy methods and forceps use for distal ureteral stones: seven years experience. *Int Urol Nephrol* 2000; 32(2): 235-9.
30. Watterson JD, Girvan AR, Cook AJ, Beiko DT, Nott L, Auge BK, Preminger GM, Denstedt JD. Safety and efficacy of holmium: Yag laser lithotripsy in patients with bleeding diatheses. *J Urol* 2002; 168(2): 442-5.
31. Sofer M, Watterson JD, Wollin TA, Nott L, Razvi H, Denstedt JD. Holmium:Yag laser lithotripsy for upper urinary tract calculi in 598 patients. *J Urol* 2002; 167(1): 31-4.
32. El-Gabry EA, Bagley DH. Retrieval capabilities of different stone basket designs in vitro. *J Endourol* 1999; 13(4): 305-7.
33. Honeck P, Wendt-Nordahl G, Häcker A, Alken P, Knoll T. Risk of collateral damage to endourologic tools by holmium:Yag laser energy. *J Endourol* 2006; 20(7): 495-7.
34. Kourambas J, Byrne RR, Preminger GM. Does a ureteral access sheath facilitate ureteroscopy? *J Urol* 2001; 165(3): 789-93.
35. Monga M, Best S, Venkatesh R, Ames C, Lieber D, Vanlangendock R, Landman J. Prospective randomized comparison of 2 ureteral access sheaths during flexible retrograde ureteroscopy. *J Urol* 2004; 172(2): 572-3.
36. L'Esperance JO, Ekeruo Wo, Scales CD Jr, Marguet CG, Springhart WP, Maloney ME, Albala DM, Preminger GM. Effect of ureteral access sheath on stone-free rates in patients undergoing ureteroscopic management of renal calculi. *Urology* 2005; 66(2): 252-5.
37. Landman J, Venkatesh R, Ragab M, Rehman J, Lee DI, Morrissey KG, Monga M, Sundaram CP. Comparison of intrarenal pressure and irrigant flow during percutaneous nephroscopy with an indwelling ureteral catheter, ureteral occlusion balloon, and ureteral access sheath. *Urology* 2002; 60(4): 584-7.
38. Rehman J, Monga M, Landman J, Lee DI, Felfela T, Conradie MC, Srinivas R, Sundaram CP, Clayman RV. Characterization of intrapelvic pressure during ureteropyeloscopy with ureteral access sheaths. *Urology* 2003; 61(4): 713-8.
39. Delvecchio FC, Auge BK, Brizuela RM, Weizer AZ, Silverstein AD, Lallas CD, Pietrow PK, Albala DM, Preminger GM. Assessment of stricture formation with the ureteral access sheath. *Urology* 2003; 61(3): 518-22.
40. Cheung MC, Lee F, Leung YL, Wong BB, Chu SM, Tam PC. Outpatient ureteroscopy: predictive factors for postoperative events. *Urology* 2001; 58(6): 914-8.
41. Netto NR Jr, Ikonmidis J, Zillo C. Routine ureteral stenting after ureteroscopy for ureteral lithiasis: is it really necessary? *J Urol* 2001; 166(4): 1252-4.
42. Borboroglu PG, Amling CL, Schenkman NS, Monga M, Ward JF, Piper NY, Bishoff JT, Kane CJ. Ureteral stenting after ureteroscopy for distal ureteral calculi: a multi-institutional prospective randomized controlled study assessing pain, outcomes and complications. *J Urol* 2001; 166(5): 1651-7.
43. Denstedt JD, Wollin TA, Sofer M, Nott L, Weir M, D'A Honey RJ. A prospective randomized controlled trial comparing nonstented versus stented ureteroscopic lithotripsy. *J Urol* 2001; 165(5): 1419-22.
44. Hollenbeck BK, Schuster TG, Faerber GJ, Wolf JS Jr. Routine placement of ureteral stents is unnecessary after ureteroscopy for urinary calculi. *Urology* 2001; 57(4): 639-43.
45. Chen YT, Chen J, Wong WY, Yang SS, Hsieh CH, Wang CC. Is ureteral stenting necessary after uncomplicated

- ureteroscopic lithotripsy?. A prospective, randomized controlled trial. *J Urol* 2002; 167(5): 1977-80.
46. Chow GK, Patterson DE, Blute ML, Segura JW. Ureteroscopy: effect of technology and technique on clinical practice. *J Urol* 2003; 170(1): 99-102.
 47. Lingeman JE, Preminger GM, Berger Y, Denstedt JD, Goldstone L, Segura JW, Auge BK, Watterson JD, Kuo RL. Use of a temporary ureteral drainage stent after uncomplicated ureteroscopy: results from a phase II clinical trial. *J Urol* 2003; 169(5): 1682-8.
 48. Albala DM, Assimos DG, Clayman RV, Denstedt JD, Grasso M, Gutierrez-Aceves J, Kahn RI, Leveillee RJ, Lingeman JE, Macaluso JN Jr, Munch LC, Nakada SY, Newman RC, Pearle MS, Preminger GM, Teichman J, Woods Jr. Lower pole I: a prospective randomized trial of extracorporeal shock wave lithotripsy and percutaneous nephrostolithotomy for lower pole nephrolithiasis-initial results. *J Urol* 2001; 166(6): 2072-80
 49. Johnson GB, Portela D, Grasso M. Advanced ureteroscopy: wireless and sheathless. *J Endourol* 2006; 20(8): 552-5.
 50. Mariani AJ. Combined electrohydraulic and holmium:Yag laser ureteroscopic nephrolithotripsy of large (greater than 4 cm) renal calculi. *J Urol* 2007; 177(1): 168-73.
 51. Pearle MS, Lingeman JE, Leveillee R, Kuo R, Preminger GM, Nadler RB, Macaluso J, Monga M, Kumar U, Dushinski J, Albala DM, Wolf JS Jr, Assimos D, Fabrizio M, Munch LC, Nakada SY, Auge B, Honey J, Ogan K, Pattaras J, McDougall EM, Averch TD, Turk T, Pietrow P, Watkins S. Prospective, randomized trial comparing shock wave lithotripsy and ureteroscopy for lower pole caliceal calculi 1 cm or less. *J Urol* 2005; 173(6): 2005-9
 52. Dash A, Schuster TG, Hollenbeck BK, Faerber GJ, Wolf JS Jr. Ureteroscopic treatment of renal calculi in morbidly obese patients: a stone-matched comparison. *Urology* 2002; 60(3): 393-7.
 53. Andreoni C, Afane J, Olweny E, Clayman RV. Flexible ureteroscopic lithotripsy: first-line therapy for proximal ureteral and renal calculi in the morbidly obese and superobese patient. *J Endourol* 2001; 15(5): 493-8.
 54. Undre S, Olsen S, Mustafa N, Patel A. 'Pass the ball!' Simultaneous flexible nephroscopy and retrograde intrarenal surgery for large residual upper-pole staghorn stone. *J Endourol* 2004; 18(9): 844-7.
 55. Marguet CG, Springhart WP, Tan YH, Patel A, Undre S, Albala DM, Preminger GM. Simultaneous combined use of flexible ureteroscopy and percutaneous nephrolithotomy to reduce the number of access tracts in the management of complex renal calculi. *BJU Int* 2005; 96(7): 1097-100.
 56. Zattoni F. Ureteroscopy: complications. In: Smith AD, Balani GH, Bagley DH, Calyman RV, Decimo SG, Jordan GH, Kavoussi LR, Lee BR, Lingeman JE, Preminger GM, Segura JW. *Smith's Textbook of Endourology*. BC Decker Inc Hamilton – London, 2006, Ch 36, pp 295-303.
 57. Sözen S, Küpeli B, Tunc L, Senocak C, Alkibay T, Karao Lan U, Bozkirli I. Management of ureteral stones with pneumatic lithotripsy: report of 500 patients. *J Endourol* 2003; 17(9): 721-4.
 58. Geavlete P, Georgescu D, Nita G, Mirciulescu V, Cauni V. Complications of 2735 retrograde semirigid ureteroscopy procedures: a single-center experience. *J Endourol* 2006; 20(3): 179-85.
 59. Aridogan IA, Zeren S, Bayazit Y, Soyupak B, Doran S. Complications of pneumatic ureterolithotripsy in the early postoperative period. *J Endourol* 2005; 19(1): 50-3.
 60. Puppo P, Ricciotti G, Bozzo W, Introini C. Primary endoscopic treatment of ureteric calculi. a review of 378 cases. *Eur Urol* 1999; 36(1): 48-52.
 61. Martin X, Ndoye A, Konan PG, Feitosa Tajra LC, Gelet A, Dawahra M, Dubernard JM. [Hazards of lumbar ureteroscopy: apropos of 4 cases of avulsion of the ureter.] *Prog Urol* 1998; 8(3): 358-62.

9.4 CHIRURGIA “A CIELO APERTO”

In questi ultimi anni si sono molto ridotte le indicazioni al trattamento della calcolosi renale con chirurgia “a cielo aperto”. La necessità di ricorrere ad un trattamento chirurgico viene riportata oggi in percentuali variabili da 0,5 a 5,4%¹⁻⁵.

Come considerazione generale, deve essere tenuto presente che la chirurgia “a cielo aperto” viene indicata in situazioni particolarmente impegnative e pertanto dovrebbe essere riservata a centri che eseguono la chirurgia renale routinariamente. In mani esperte, le varie tecniche chirurgiche, che comprendono la pielolitomia semplice, pielocalicolitomia, la nefrolitomia anatrofica, le multiple nefrolitomie d’accesso, la chirurgia renale in ipotermia, possono risultare risolutive nei casi in cui il trattamento cosiddetto mini-invasivo sia stato infruttuoso. L’impiego dell’ecodoppler intraoperatorio è risultato utile per identificare aree avascolari ove praticare le incisioni sul parenchima renale allo scopo di ridurre la perdita di parenchima funzionante⁶⁻¹⁴.

In generale la chirurgia renale “a cielo aperto” trova indicazioni in caso di:

- massa litiasica complessa;
- fallimento delle altre metodiche di trattamento mini-invasivo;
- anomalie anatomiche da correggere chirurgicamente: stenosi infundibulare, calcoli in diverticolo caliceale (soprattutto se anteriore), stenosi del giunto pieloureterale, stenosi ureterali che richiedono un intervento correttivo;
- casi particolari di obesità;
- deformazioni scheletriche, contratture e deformità fisse della colonna e degli arti;
- co-morbilità mediche;
- necessità di un concomitante altro trattamento chirurgico;
- polo renale non funzionante (resezione polare) o rene grinzoso non funzionante (nephrectomia);
- scelta del paziente in caso di calcoli voluminosi che non sembrano risolvibili con una unica PNL
- calcolo in rene ectopico, impossibile da trattare con metodiche mini-invasive;
- calcoli voluminosi in età pediatrica che possano essere pertanto risolti con una unica seduta e quindi con un’unica anestesia.

La superiorità della chirurgia “a cielo aperto” rispetto alle procedure mini-invasive in termini di tasso di stone-free è basata esclusivamente su esperienze storiche e non sono presenti studi comparativi^{15,16} (LE: 4, GR: B).

Bibliografia

1. Assimos DG, Boyce WH, Harrison LH, McCullough DL, Kroonvand RL, Sweat KR. The role of open stone surgery since extracorporeal shock wave lithotripsy. *J Urol* 1989; 142 (2 Pt 1): 263-7.
2. Segura JW. Current surgical approaches to nephrolithiasis. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1990; 19(4): 919-35.
3. Kane MT, Cohen AS, Smith ER, Lewis C, Reidy C. 1995 commission on dietetic registration dietetics. Practice audit. *J Am Diet Assoc* 1996; 96(12): 1292-301.
4. Bichler KH, Lahme S, Strohmaier WL. Indications for open stone removal of urinary calculi. *Urol Int* 1997; 59(2): 102-8.
5. Paik ML, Wainstein MA, Spirnak P, Hampel N, Resnick MI. Current indications for open stone surgery in the treatment of renal and ureteral calculi. *J Urol* 1998; 159(2): 374-8.
6. Gil-Vernet J. New surgical concepts in removing renal calculi. *Urol Int* 1965; 20(5): 255-88.
7. Smith MJ, Boyce WH. Anatomic nephrotomy and plastic calyraphy. *Trans Am Assoc Genitourin Surg* 1967; 59: 18-24.
8. Harrison LH. Anatomic nephrolithotomy: update 1978. In: Bonney WW, Weems WL, Donohue JP, eds. *AUA Courses in Urology. Vol 1.* Baltimore: Williams and Wilkins, 1978, pp. 1-23.
9. Boyce WH. Re: anatomic nephrolithotomy: experience with a simplification of the Smith and Boyce technique. *J Urol* 1980; 123(4): 604.
10. Resnick MI, Pounds DM, Boyce WH. Surgical anatomy of the human kidney and its application. *Urology* 1981; 17: 367-9.
11. Wickham JE, Coe N, Ward JP. One hundred cases of nephrolithotomy under hypothermia. *J Urol* 1974; 112(6): 702-5.
12. Sleight MW, Gower RL, Wickham JE. Intrarenal access. *Urology* 1980; 15(5): 475-7.
13. Thüroff JW, Frohneberg D, Riedmiller R, Alken P, Hutschenreiter G, Thüroff S, Hohenfellner R. Localization of segmental arteries in renal surgery by doppler sonography. *J Urol* 1982; 127(5): 863-6.
14. Alken P, Thüroff JW, Riedmiller H, Hohenfellner R. Doppler sonography and B-mode ultrasound scanning in renal stone surgery. *Urology* 1984; 23(5): 455-60.
15. Kane CJ, Bolton DM, Stoller ML. Current indications for open stone surgery in an endourological centre. *Urology* 1995; 45(2): 218-21.
16. Sy FY, Wong MY, Foo KT. Current indications for open stone surgery in Singapore. *Ann Acad Med Singapore* 1999; 28(2): 241-4.

9.5 LAPAROSCOPIA

Con l'acquisizione di esperienza in laparoscopia renale, alcuni interventi di chirurgia a cielo aperto vengono attualmente eseguiti anche con approccio laparoscopico. Mancano però ancora studi controllati e randomizzati per poter dare un giudizio obiettivo della metodica applicata alla calcolosi renale da inserire nelle LG¹⁻²³.

In centri di riferimento, con una grande esperienza nella tecnica laparoscopica, può rappresentare una opzione terapeutica che può sostituirsi alla chirurgia "a cielo aperto", mentre in caso di calcoli renali di dimensioni inferiori ai 20 mm può essere indicata qualora abbiano fallito le altre metodiche mini-invasive presentando, rispetto alla chirurgia "a cielo aperto", i vantaggi di una minor perdita di sangue, di una minore morbilità post-operatoria e di una ridotta degenza con più rapida ripresa delle attività quotidiane (LE: 2a, GR: C).

Bibliografia

1. Abreu SC, Gill IS. Advanced renal laparoscopy. *BJU Int* 2005; 95(Suppl 2): 114-9.
2. Turk I, Dreger S, Roigas J, Fahlenkamp D, Schonberger B, Loening SA. Laparoscopic ureterolithotomy. *Tech Urol* 1998; 4(1): 29-34.
3. Keeley FX, Gialas I, Pillai M, Chrisofos M, Tolley DA. Laparoscopic ureterolithotomy; the Edinburgh experience. *BJU Int* 1999; 84(7): 765-9.
4. Gaur DD, Trivedi S, Prabhudesai MR, Madhusudhana HR, Gopichand M. Laparoscopic ureterolithotomy: technical considerations and long term follow up. *BJU Int* 2002; 89(4): 339-43.
5. Flasko T, Holman E, Kovacs G, Tallai B, Toth C, Salah MA. Laparoscopic ureterolithotomy: the method of choice in selected cases. *J Laparoendosc Adv Surg Tech A*. 2005; 15(2): 149-52.
6. Kijvikai K, Patcharatrakul S. Laparoscopic ureterolithotomy: its role and some controversial technical considerations. *Int J Urol* 2006; 13(3): 206-10.
7. Wickham J. The surgical treatment of renal lithiasis. In: *Urinary Calculous Disease*. New York: Churchill Livingstone, 1979, pp. 145-198.
8. Gaur D, Trivedi S, Prabhudesai M, Madhusudhana HR, Gopichand M. Laparoscopic ureterolithotomy: Technical considerations and long-term follow up. *BJU Int* 2002; 89(4): 339-43.
9. Hemal AK, Goel A, Goel R. Minimally invasive retroperitoneoscopic ureterolithotomy. *J Urol* 2003; 169(2): 480-2.
10. Nouira Y, Kallel Y, Binous MY, Dahmoul H, Horchani A. Laparoscopic retroperitoneal ureterolithotomy: Initial experience and review of literature. *J Endourol* 2004; 18(6): 557-61.
11. Goel A, Hemal AK. Upper and mid-ureteric stone: a prospective unrandomized comparison of retroperitoneoscopic and open ureterolithotomy. *BJU Int* 2001; 88(7): 679-82.
12. Demirci D, Gülmez I, Ekmekçioglu O, Karacagil M. Retroperitoneoscopic ureterolithotomy for the treatment of ureteral calculi. *Urol Int* 2004; 73(3): 234-7.
13. El-Feel A, Abouel-Fettouh H, Abdel Hakim A. Laparoscopic transperitoneal ureterolithotomy. *Endourol* 2007; 21(1): 50-4.
14. Micali S, Moore RG, Averch TD, Adams JB, Kavoussi LR. The role of laparoscopy in the treatment of renal and ureteral stones. *J Urol* 1997; 157(2): 463-6.
15. Raboy A, Ferzli GS, Loffreda R, Albert PS. Laparoscopic ureterolithotomy. *Urology* 1992;39(3):223-5.
16. Hemal AK, Goel A, Kumar M, Gupta NP. Evaluation of laparoscopic retroperitoneal surgery in urinary stone disease. *J Endourol* 2001; 15(7): 701-5.
17. Feyaerts A, Rietbergen J, Navarra S, Vallancien G, Guillonneau B. Laparoscopic ureterolithotomy for ureteral calculi. *Eur Urol* 2001; 40(6): 609-13.
18. Skrepetis K, Doumas K, Sifakas I, Lykourinas M. Laparoscopic versus open ureterolithotomy. A comparative study. *Eur Urol* 2001; 40(1): 32-6; discussion 37.
19. McDougall EM, Clayman RV. Laparoscopic nephrectomy for benign disease: comparison of the transperitoneal and retroperitoneal approaches. *J Endourol* 1996; 10(1): 45-9.
20. Goel A, Hemal AK. Upper and mid-ureteric stones: a prospective unrandomized comparison of retroperitoneoscopic and open ureterolithotomy. *BJU Int* 2001; 88(7): 679-82.
21. Brunet P, Meria P, Mahe P, Danjou P. Laparoscopically-assisted percutaneous nephrolithotomy for the treatment of anterior calyceal diverticula. *BJU Int* 2000; 86(9): 1088-9.
22. Marberger M. Urinary stones. *Curr Opin Urol* 1999; 9(4): 315-7.

9.6 CHEMIOLISI PERCUTANEA

La chemiolisi percutanea di calcoli renali o frammenti litiasici può essere presa in considerazione come metodica ausiliaria all'ESWL, PNL, URS e chirurgia "a cielo aperto" per cercare di eliminare completamente i piccoli frammenti residui così da ridurre le possibilità di recidiva.

Per la chemiolisi percutanea è necessario posizionare 2 cateteri nefrostomici allo scopo di evitare il passaggio della soluzione irrigante in vescica e di ridurre l'aumento di pressione intrarenale. Per calcoli di grosse dimensioni può essere necessario anche il posizionamento di uno stent ureterale^{1,2}.

CALCOLOSI INFETTA

Calcoli di fosfato di magnesio e ammonio e di carbonato apatite (fosfato e carbonato di calcio) possono essere sciolti utilizzando una soluzione acida pH 3,5-4 (hemiacidrin, soluzione G). La superficie su cui può agire e risultare efficace la soluzione aumenta potenzialmente dopo un trattamento ESWL. Il tempo richiesto per la chemiolisi dipende dalle dimensioni del calcolo da trattare. Essendo una procedura che si esegue senza anestesia, l'indicazione è riservata ai pazienti in cui è controindicata una anestesia o nei quali è da evitare qualsiasi procedura chirurgica³⁻¹³. Queste soluzioni contengono elevate quantità di magnesio, pertanto devono essere utilizzate con la via escretrice indenne poiché il riassorbimento di magnesio può provocare un arresto cardiaco.

CALCOLOSI DI BRUSCITE

I calcoli costituiti da bruscite (fosfato di calcio) sono anch'essi suscettibili di chemiolisi percutanea con soluzioni acide tipo hemiacidrin o soluzione G¹⁴.

CALCOLOSI DI CISTINA

La cistina è solubile in ambiente alcalino a pH 8,5-9,0. Soluzioni con 0,3-0,6 mol/l di triidrossimetil-aminometano (THAM) o con 200 mg/l di N-acetilcisteina possono essere impiegate con successo come completamento di altre metodiche eventualmente mini-invasive per ridurre/eliminare la presenza di frammenti residui¹⁵⁻¹⁹.

CALCOLOSI DI ACIDO URICO

I calcoli di acido urico sono suscettibili di chemiolisi percutanea con soluzioni alcaline. E' tuttavia da preferire la chemiolisi orale con adeguate dosi di allopurinolo, alcalinizzanti ed elevato introito idrico²⁰⁻²².

CALCOLOSI DI OSSALATO DI CALCIO E DI URATO D'AMMONIO

Non sono disponibili soluzioni in grado di determinare la lisi di calcoli di ossalato di calcio e di urato d'ammonio, pertanto in questi casi la chemiolisi non trova alcuna indicazione²³.

Bibliografia

1. Tiselius HG, Hellgren E, Andersson A, Borrud-Ohlsson A, Eriksson L. Minimally invasive treatment of infection staghorn stones with shock wave lithotripsy and chemolysis. *Scand J Urol Nephrol* 1999; 33(5): 286-90.
2. Fahlenkamp C, Brien G, Bick C, Suckow B, De Temple R, Otting U, Schöpke W. [Lokale chemolitholyse von Harnsteinen] *Zeitschrift für Klinische Medizin* 1989;44:913-6. [article in German: Local chemolysis of urinary stones]
3. Sheldon CA, Smith AD. Chemolysis of calculi. *Urol Clin North Am* 1982; 9(1): 121-30.
4. Griffith DP. Ureteral calculi. In: Kandel B, Harrison LH, McCullough DL, eds. *State of the Art Extracorporeal Shock Wave Lithotripsy*. New York: Plenum Press, 1987, pp. 281-310.
5. Lingeman JE. Staghorn calculi. In: Kandel B, Harrison LH, McCullough DL, eds. *State of the Art Extracorporeal Shock Wave Lithotripsy*. New York: Plenum Press, 1987, pp. 311-353.
6. Wall I, Tiselius HG, Larsson L. Hemiacidrin—a useful component in the treatment of infection renal stones. *Eur Urol* 1988; 15(1): 26-30.
7. Rodman JS, Reckler JM, Israel AR. Hemiacidrin irrigations to dissolve stone remnants after nephrolithotomy. Problems with solution flow. *Urology* 1981; 18(2): 127-30.
8. Weirich W, Haas H, Alken P. [Perkutane chemolyse von Struvit-Steinen bei Nierenbecken-und Kelchhalsobstruktion]. *Akt Urol* 1982; 13: 256-8. [article in German: Percutaneous chemolysis of struvite stones in renal-pelvic and caliceal obstruction]
9. Klein RS, Cattolica EV, Rankin KN. Hemiacidrin renal irrigation: complications and successful management. *J Urol* 1982; 128(2): 241-2.
10. Dretler SP, Pfister RC. Primary dissolution therapy of struvite calculi. *J Urol* 1984; 131(5): 861-3.
11. Fam B, Rossier AB, Yalla S, Berg S. The role of hemiacidrin in the management of renal stones in spinal cord injury patients. *J Urol* 1976; 116(6): 696-8.
12. Burns JR, Joseph DB. Combination therapy for a partial staghorn calculus in an infant. *J Endourol* 1993; 7(6): 469-71.
13. Levy DA, Resnick MI. Management of urinary stones in the patient with spinal cord injury. *Urol Clin North Am* 1993; 20(3): 435-42.
14. Tiselius HG, Alken P, Buck C, Gallucci M, Knoll T, Sarica K, Turk C. Guidelines on urolithiasis. *European Association of Urology* 2009; pp 1-116; update March 2008. http://www.uroweb.org/fileadmin/user_upload/Guidelines/18%20Urolithiasis.pdf.
15. Kachel TA, Vijan SR, Dretler SP. Endourological experience with cystine calculi and a treatment algorithm. *J Urol* 1991; 145(1): 25-8.
16. Tseng CH, Talwalkar YB, Tank ES, Hatch T, Alexander SR. Dissolution of cystine calculi by pelvicaliceal irrigation with tromethamine-E. *J Urol* 1982; 128(6): 1281-4.
17. Weirich W, Ackermann D, Riedmiller H, Alken P. [Auflösung von Cystin-Steinen mit N-acetylcystein nach perkutaner nephrostomie.] *Akt Urol* 1981; 12: 224-6. [Article in German. Dissolution of cystine calculi with n-acetylcysteine following percutaneous nephrostomy]
18. Smith AD, Lange PH, Miller RP, Reinke DB. Dissolution of cystine calculi by irrigation with acetylcysteine through percutaneous nephrostomy. *Urology* 1979; 13(4): 422-3.
19. Schmeller NT, Kersting H, Schüller J, Chaussy C, Schmiedt E. Combination of chemolysis and shock wave lithotripsy in the treatment of cystine renal calculi. *J Urol* 1984; 131(3): 434-8.
20. Sharma SK, Indudhara R. Chemodissolution of urinary uric acid stones by alkali therapy. *Urol Int* 1992; 48(1): 81-6.
21. Rodman JS, Williams JJ, Peterson CM. dissolution of uric acid calculi. *J Urol* 1984; 131(6): 1039-44.
22. Lee YH, Chang LS, Chen MT, Huang JK. Local chemolysis of obstructive uric acid stones with 0,1 M THAM and 0,02% chlorhexidine. *Urol Int* 1993; 51(3): 147-51.
23. Oosterlinck W, Verbeeck R, Cuvelier C, Vergauwe D. Rationale for local toxicity of calcium chelators. *Urol Res* 1992; 20(1): 19-21.

9.7 GESTIONE DI PROBLEMI “PARTICOLARI”

I calcoli nei diverticoli caliceali vengono di solito trattati con ESWL, PNL o RIRS¹. I calcoli diverticolari possono essere rimossi anche con chirurgia laparo o retro-peritoneoscopica¹⁻⁶. Il trattamento ESWL è fruttuoso in poco più del 20% dei casi, ma può risultare risolutivo dei sintomi in più della metà dei pazienti trattati⁷. Sono state riportate percentuali di bonifica del calcolo prossime al 90% e all' 80% dopo PNL e RIRS, rispettivamente. Quest'ultimo trattamento è indicato soprattutto per calcoli di volume non superiore ai 10 mm in diverticolo dei calici superiori e medi (LE: 4, GR: C).

Nel trattamento della nefrolitiasi del rene a ferro di cavallo possono essere impiegate tutte le modalità terapeutiche descritte in precedenza^{1,8}. Poiché il rene è posizionato anteriormente, l'ESWL viene comunemente condotta con paziente in posizione prona¹. I risultati di tale trattamento sono influenzati dalle difficoltà di centramento del calcolo e dal drenaggio precario dei frammenti e corrispondono a percentuali medie di bonifica variabili dal 62 al 67%, in relazione al tipo di litotritore. La PNL comporta la risoluzione della calcolosi nel 75-88% dei casi con complicanze incidenti per il 26-42% dei trattamenti⁹⁻¹¹. Per motivi anatomici l'accesso avviene preferibilmente attraverso il calice superiore. La scelta ottimale del trattamento può rappresentare una sfida impegnativa e deve essere operata caso per caso tenendo conto di molteplici variabili¹². L'ESWL e la PNL sono raccomandate per il trattamento dei calcoli nei reni trapiantati¹. L'ESWL o la chirurgia video laparoscopica sono raccomandate per il trattamento dei calcoli dei reni in sede pelvica. Per i pazienti obesi, le opzioni sono ESWL, PNL o chirurgia a cielo aperto¹.

I calcoli associati ad anomalie della giunzione pieloureterale possono essere rimossi con approccio percutaneo che preveda anche un'endopielotomia.¹³⁻³³ L'endopielotomia può essere in alternativa condotta per via transuretrale con sorgente laser (HO-YAG). E', in ogni caso, indispensabile escludere la presenza di vasi aberranti con TC multislice preoperatoria¹. Rimane valida l'opzione di una chirurgia aperta o laparoscopica¹. L'incisione con un catetere a palloncino tipo Acucise può essere presa in considerazione se la calcolosi ha diametro contenuto, avendo cura di verificare la posizione dei calcoli rispetto all'ansa diatermica. Le percentuali di successo della metodica non superano il 50%³⁴⁻³⁷.

Bibliografia

1. Tiselius HG, Alken P, Buck C, Gallucci M, Knoll T, Sarica K, Turk C. Guidelines on urolithiasis. European Association of Urology 2009; pp 1-116; update March 2008.
http://www.uroweb.org/fileadmin/user_upload/Guidelines/18%20Urolithiasis.pdf
2. Raboy A, Ferzli GS, Loffreda R, Albert PS. Laparoscopic ureterolithotomy. *Urology* 1992;39(3):223-5.
3. Gaur DD. Retroperitoneal endoscopic ureterolithotomy: our experience in 12 patients. *J Endourol* 1993;7(6):501-3.
4. Gaur DD. Retroperitoneal laparoscopic ureterolithotomy. *World J Urol* 1993;11(3):175-7.
5. Gaur DD, Agarwal DK, Purohit KC, Darshane AS. Retroperitoneal laparoscopic pyelolithotomy. *J Urol* 1994;151(4):927-9.
6. Escovar Diaz P, Rey Pacheco M, Lopez Escalante JR, Rodriguez Cordero M, la Riva Rodriguez F, Gonzalez Zerpa RD, Garcia JL, Cuervo R. [Ureterolithotomia laparoscopica.] *Arch Esp Urol* 1993;46(7):633-7. [article in Spanish] [Laparoscopic urelithotomy].
7. Ritchie AW, Parr NJ, Moussa SA, Tolley DA. Lithotripsy for calculi in caliceal diverticula? *Br J Urol* 1990;66:6-8.
8. Locke DR, Newman RC, Steinbock GS, Finlayson B. Extracorporeal shock wave lithotripsy in horseshoe kidney. *Urology* 1990;35(5):407-11.
9. Jones DJ, Wickham JE, Kellett MJ. Percutaneous nephrolithotomy for calculi in horseshoe kidneys. *J Urol* 1991; 145 (3): 481-83.
10. Al-Otaibi K, Hosking DH. Percutaneous stone removal in horseshoe kidneys. *J Urol* 1999; 162 (3 Pt 1): 674-77.

11. Raj GV, Auge BK, Weizer AZ, Denstedt JD, Watterson JD, Beiko DT, Assimos DG, Preminger GM. Percutaneous management of calculi within horseshoe kidneys. *J Urol* 2003; 170 (1): 48-51.
12. Stein RJ, Desai MM. Management of urolithiasis in the congenitally abnormal kidney (horseshoe and ectopic). *Curr Opin Urol* 2007; 17(2): 125-31.
13. Ramsay JW, Miller RA, Kellett MJ, Blackford HN, Wickham JE, Whitfield HN. Percutaneous pyelolysis: indications, complications and results. *Br J Urol* 1984;56(6):586-8.
14. Brannen GE, Bush WH, Lewis GP. Endopyelotomy for primary repair of ureteropelvic junction obstruction. *J Urol* 1988;139(1):29-32.
15. Payne SR, Coptcoat MJ, Kellett MJ, Wickham JE. Effective intubation for percutaneous pyelolysis. *Eur Urol* 1988,14(6):477-81.
16. Baba S, Masuda T, Yoshimura K, Ohkuma K, Ido K, Sugiura K, Tazaki H. Percutaneous transperitoneal endopyelotomy and ureteroplasty in pelvic kidney associated with ureteral calculus. *J Endourol* 1990;4:253-8.
17. Kuenkel M, Korth K. Endopyelotomy: long term follow-up of 143 patients. *J Endourol* 1990;4:109-16.
18. Gelet A, Martin X, Dessouki T. Ureteropelvic invagination: reliable technique of endopyelotomy. *J Endourol* 1991;5:223-4.
19. Cassis AN, Brannen GE, Bush WH, Correa RJ, Chambers M. Endopyelotomy: review of results and complications. *J Urol* 1991;146(6):1492-5.
20. Motola JA, Badlani GH, Smith AD. Results of 212 consecutive endopyelotomies: an 8-year followup. *J Urol* 1993;149(3):453-6.
21. Klahr S, Chandhoke P, Clayman RV. Review: obstructive uropathy - renal effects and endosurgical relief. *J Endourol* 1993;7(5):395-8.
22. Motola JA, Fried R, Badlani GH, Smith AD. Failed endopyelotomy: implications for future surgery on the ureteropelvic junction. *J Urol* 1993;150(3):821-3.
23. Gerber GS, Lyon ES. Endopyelotomy: patient selection, results and complications. *Urology* 1994;43(1):2-10.
24. Nakamura K, Baba S, Tazaki H. Endopyelotomy in horseshoe kidneys. *J Endourol* 1994;8(3):203-6.
25. Bagley DH, Liu JB, Goldberg BB, Grasso M. Endopyelotomy: importance of crossing vessels demonstrated by endoluminal ultrasonography. *J Endourol* 1995;9(6):465-7.
26. Danuser H, Ackermann DK, Bohlen D, Studer UE. Endopyelotomy for primary ureteropelvic junction obstruction: risk factors determine the success rate. *J Urol* 1998;159(1):56-61.
27. Van Cangh PJ. Editorial. Endopyelotomy - a panacea for ureteropelvic junction obstruction?. *J Urol* 1998;159(1):66.
28. Gallucci M, Alpi G, Ricciuti GP, Cassanelli A, Persechino F, Di Silverio F. Retrograde cold-knife endopyelotomy in secondary stenosis of the ureteropelvic junction. *J Endourol* 1991;5:49-50.
29. Chowdhury SD, Kenogbon J. Rigid ureteroscopic endopyelotomy without external drainage. *Endourol* 1992;6:357-60.
30. Chandhoke PS, Clayman RV, Stone AM, McDougall EM, Buelha T, Hilal N, Chang M, Stegwell MJ. Endopyelotomy and endoureterotomy with the acucise ureteral cutting balloon device: preliminary experience. *J Endourol* 1993;7(1):45-51.
31. McClinton S, Steyn JH, Hussey JK. Retrograde balloon dilatation for pelviureteric junction obstruction. *Br J Urol* 1993;71(2):152-5.
32. Gerber GS, Lyon ES. Endopyelotomy: patient selection, results and complications. *Urology* 1994;43(1):2-10.
33. Bolton DM, Bogaert GA, Mevorach RA, Kogan BA, Stoller ML. Pediatric ureteropelvic junction obstruction treated with retrograde endopyelotomy. *Urology* 1994;44(4):609-13.
34. Gelet A, Combe M, Ramackers JM, Ben Rais N, Martin X, Dawahra M, Marechal JM, Dubernard JM. Endopyelotomy with the Acucise cutting balloon device. Early clinical experience. *Eur Urol* 1997;31(4):389-93.
35. Faerber GJ, Richardson TD, Farah N, Ohl DA. Retrograde treatment of ureteropelvic junction obstruction using the ureteral cutting balloon catheter. *Urol* 1997;157(2):454-8.
36. Conlin MJ, Bagley DH. Ureteroscopic endopyelotomy at a single setting. *J Urol* 1998;159(3):727-31.
37. Nakada SY, Wolf JS Jr, Brink JA, Quillen SP, Nadler RB, Gaines MV, Clayman RV. Retrospective analysis of the effect of crossing vessels on successful retrograde endopyelotomy outcomes using spiral computerized tomography angiography. *J Urol* 1998;159(1):62-5.

10. Inquadramento metabolico della nefrolitiasi: aspetti diagnostici, preventivi e profilattici

INTRODUZIONE

Una breve e mirata inchiesta anamnestica costituisce elemento fondamentale di indagine in tutti i pazienti con calcolosi. Vanno indagati i seguenti aspetti:

1. Anamnesi familiare e personale per nefrolitiasi, per CKD, per osteopatie, per endocrinopatie
2. Anamnesi patologica
3. Storia personale della malattia nefrolitiasica (recidive, tempi, interventi urologici, complicanze)
4. Abitudini alimentari (in particolare escludere abusi o diete fortemente sbilanciate verso latticini o carne; eccessivo introito di sale o alimenti contenenti sale)
5. Abitudini introito idrico
6. Attività fisica, o lavoro in ambienti molto caldi
7. Caratteristiche dell'alvo (in particolare escludere episodi frequenti di feci non formate/diarroiche)
8. Anamnesi farmacologica (in particolare escludere supplementi vitaminici, antiepilettici -topiramato-, acetazolamide, farmaci anti-HIV).

ANALISI DEL CALCOLO

In ciascun paziente calcolitico, l'analisi di almeno un calcolo o dei suoi frammenti dopo disintegrazione è di fondamentale importanza poiché può indirizzare verso un ben preciso percorso diagnostico-terapeutico. Analisi ripetute possono essere opportune nei pazienti in cui si osserva una variazione delle caratteristiche della malattia (più frequente recidivanza, variazioni di dimensioni e aspetto dei calcoli) insorte spontaneamente o in accompagnamento agli interventi terapeutici. Salvo che per forme rare di calcolosi, l'analisi chimica del calcolo è per scopi clinici sufficientemente accurata.

Nell'impossibilità di eseguire l'analisi del calcolo, qualora i calcoli siano radiotrasparenti o debolmente radioopachi la loro composizione può essere sospettata sulla base della presenza delle condizioni appresso specificate (vedi capitoli 4 e 11):

Condizioni	Composizione probabile del calcolo
Cistinuria, cristalli di cistina nel sedimento	Calcolosi cistinica
Cristalli di struvite nel sedimento	Calcolosi infetta
pH urine molto acido (intorno a 5,0)	Calcolosi uratica
pH urine alcalino	Calcolosi infetta
Calcolosi a stampo	Calcolosi infetta o cistinica

CLASSIFICAZIONE IN CATEGORIE DEI PAZIENTI CON CALCOLOSI RENALE

La classificazione si basa sulla composizione del calcolo e/o sulla storia naturale della malattia calcolotica e/o sul rischio di complicanze (vedi capitolo 3). CKD indica un rischio di insufficienza renale cronica. Le calcolosi non calciche sono tutte a rischio di CKD e di recidivanza.

Calcolosi non calcica

1. Calcolosi infetta (si intende quella di fosfato ammonio-magnesiaco o di carbonato-apatite; da distinguersi dalla calcolosi calcica associata ad infezione delle vie urinarie)
2. Calcolosi molle
3. Calcolosi uratica
4. Calcolosi cistinica

Calcolosi calcica

1. Paziente al primo episodio
 - a. A rischio di CKD
 - b. A rischio di osteopatia
 - c. A rischio di recidivanza (categoria 3 o con frammenti residui)
2. Paziente recidivante occasionale
 - a. A rischio di CKD
 - b. A rischio di osteopatia
3. Paziente recidivante

Solo il 30% dei pazienti calcolotici con calcolosi calcica recidiva nei primi 5 anni dopo il primo episodio. Solo il 15-20 % dei calcolotici con calcolosi calcica ha nell'arco della vita almeno 4 recidive di calcolosi¹. In considerazione di ciò si individua come "Paziente recidivante" quello che ha avuto ≥ 3 episodi di calcolosi negli ultimi 5 anni.

La sottoclassificazione del "paziente al primo episodio" e del "paziente recidivante occasionale" secondo la presenza o meno del rischio di CKD e/o di osteopatia e/o di recidivanza mira ad individuare categorie di pazienti nelle quali è opportuno attuare una terapia preventiva.

Un paziente al primo episodio o recidivante occasionale che presenti però all'indagine di imaging altri calcoli mono/bilaterali va classificato in prima battuta come paziente recidivante.

Il fatto che il "paziente recidivante" non venga ulteriormente sotto classificato come le due categorie precedenti non significa che questo paziente non sia a rischio di CKD e/o di osteopatia.

FATTORI DI RISCHIO PER OSTEOPATIA NELLA CALCOLOSI CALCICA

Premesso che si ritiene che i pazienti con calcolosi calcica che abbiano seguito dieta ipocalcica (limitazioni severa di latticini) per periodi protratti possano sviluppare osteopenia, motivo per cui questo tipo di diete è in linea generale da proscrivere, alcune condizioni di rischio per osteopatia possono essere sospettate/individuate sin dall'iter diagnostico minimo consigliato nel paziente con calcolosi calcica al primo episodio. Tali condizioni sono elencate di seguito:

- A. Acidosi tubulare distale completa/parziale
- B. Rene con midollare a spugna
- C. Iperparatiroidismo primitivo

FATTORI DI RISCHIO PER CKD NELLA CALCOLOSI CALCICA

I fattori di rischio per CKD talvolta coincidono con la causa delle forme secondarie di calcolosi e/o il rischio di recidivanza e/o di osteopatia.

I dati raccolti dall'anamnesi, dall'analisi del calcolo, dalle indagini strumentali e dagli accertamenti diagnostici nel paziente con calcolosi al primo episodio o occasionale recidivante suggeriscono la gran parte delle seguenti condizioni.

La Tabella 14 mostra i fattori di rischio per la CKD nella calcolosi calcica.

Tabella 14. Fattori di rischio nella calcolosi calcica per CKD, recidiva di calcolosi, osteopatia

Fattori di rischio per CKD	Entità del rischio di CKD	Calcolosi secondaria	Rischio di recidivanza	Rischio di osteopatia
Calcoli di brushite ⁽¹⁾	Moderato	X	X	
Rene unico	Alto			
Iperparatiroidismo primitivo	Moderato	X	X	X
Acidosi tubulare distale tp. 1 completa	Alto	X	X	X
Acidosi tubulare distale tp. 1 parziale	Basso	X	X	X
Iperossaluria primitiva	Molto alto	X	X	
Iperossaluria secondaria (chirurgia bariatrica, malattie intestinali croniche, resezione intestinale, malassorbimenti)	Alto	X	X	X
Rene con midollare a spugna	Basso	X	X	X
Altre condizioni di nefrocalcinosi (spesso associata a ipercalciurie eredofamiliari)	Alto	X	X	X
Stenosi del giunto pielo ureterale o dell'uretere	Moderato	X	X	
Rene policistico autosomico dominante	Molto alto	X	X	
Anomalie anatomiche rene-vie urinarie (rene a ferro di cavallo, ureterocele, reflusso vescico-ureterale)	Alto	X	X	
Vescica neurologica	Alto	X	X	

⁽¹⁾L'analisi chimica del calcolo non consente di individuare la brushite come specifica forma minerale; questi calcoli rientrano tra quelli la cui composizione è "fosfato di calcio".

La condizione di CKD può comparire nella evoluzione della malattia litiasica come conseguenza della causa della calcolosi e/o del trattamento e delle complicanze; oppure può essere già presente alla valutazione diagnostica del primo episodio. La valutazione specialistica nefrologica è fortemente consigliata nel calcolitico con CKD. Usare con prudenza la ESWL nei pazienti con CKD. Impiego con prudenza di indagini con mezzo di contrasto nei pazienti con CKD (LE: 1a; GR: A).

ACCERTAMENTI DIAGNOSTICI NEL PAZIENTE CON CALCOLOSI NON IN FASE ACUTA

E' opportuno che gli accertamenti per l'individuazione delle forme secondarie di calcolosi, del rischio di recidiva, e del rischio di CKD siano effettuate a distanza dell'episodio acuto (≥ 4 sett.). La Tabella 15 elenca le indagini diagnostiche consigliate nell'inquadramento del paziente con calcolosi non in fase acuta.

Tabella 15. Inquadramento diagnostico nel paziente con nefrolitiasi non in fase acuta

Tipologia di calcolosi	Analisi del calcolo	Analisi ematiche	Analisi urine 24 ore ^(2,3)	Analisi urine spot mattino ⁽⁴⁾	Altre indagini
Calcolosi infetta ⁽⁵⁾	X, es. colturale	Creatinina, eGFR ⁽⁶⁾ , emogasanalisi ⁽⁷⁾ , Ca, Pi, K	Ca, Ossalato, Vol.	pH Ca/Creat ⁽⁸⁾ , es. urine stand., es. colturale	
Calcolosi molle ⁽⁹⁾	X, es. colturale	Creatinina, eGFR,	Vol.	pH, es. urine stand., es. colturale	
Calcolosi uratica	X	Creatinina, eGFR, Acido urico	Urato, pH, Vol ⁽¹⁰⁾	pH, es. urine stand.	
Calcolosi cistinica	X	Creatinina, eGFR,	Cistina, proteine, Vol.	pH ⁽¹¹⁾ , es. urine stand.	

⁽²⁾Sodiuria, fosfaturia, azoturia sulle urine delle 24 ore consentono di ottenere informazioni sull'alimentazione del paziente. L'introito proteico può essere stimato dalla seguente formula "Introito proteico/die: (Urea x 0.18) + 13" dove Urea è l'escrezione urinaria/die in mmol di urea

⁽³⁾Utile eseguire almeno due valutazioni nelle condizioni consuete di alimentazione e idratazione; raccolta in recipiente di plastica contenente 30 mL di HCl 6 mol/L salvo diversamente specificato

⁽⁴⁾La determinazione del pH non richiede pHmetro e può essere condotta con strisce reattive

⁽⁵⁾Poiché circa il 50% delle calcolosi infette sono sostenute da una calcolosi calcica inizialmente idiopatica è opportuno escludere le comuni condizioni di rischio per la calcolosi idiopatica

⁽⁶⁾Calcolare con formula MDRD o di Cockcroft e Gault

⁽⁷⁾Su sangue venoso; ciò che si vuole valutare è la bicarbonatemia

⁽⁸⁾Da eseguire se presente ipercalciuria

⁽⁹⁾Riconosce verosimilmente le stesse condizioni favorevoli della calcolosi infetta

⁽¹⁰⁾Raccolta urine 24 ore in sodiazide

⁽¹¹⁾La valutazione del pH di urine spot durante la giornata è utile a guidare il successivo intervento terapeutico

CALCOLOSI CALCICA (continua Tabella 15)

	Analisi del calcolo	Analisi ematiche	Analisi urine 24 ore ⁽¹²⁾	Analisi urine spot mattino ⁽¹³⁾	Altre indagini
Paz. al primo episodio o recidivante occasionale	X	Creatinina, eGFR ⁽¹⁴⁾ , Ca ⁽¹⁵⁾ , Pi, K ⁽¹⁶⁾		pH, es. urine standard	
• a rischio di CKD		+ emogasanalisi ⁽¹⁷⁾	+ Ossalato, calcio, citrato, Vol.		
• a rischio di osteopatia		+ emogasanalisi	+ Calcio, citrato, Vol.	+ Ca/Creat ⁽¹⁸⁾	Test di acidificazione, ⁽¹⁹⁾ OH Prolina o cross-links ⁽²⁰⁾ , MOC ⁽²¹⁾
Paziente recidivante	X	Creatinina, eGFR, Ca, Pi, K, emogasanalisi, acido urico	Ossalato, calcio, citrato, urato, fosfato, urea, sodio ⁽²²⁾ , Vol.	pH, es. urine standard, cistina ⁽²³⁾ , Ca/Creat	Test di acidificazione, ⁽²⁴⁾ OH Prolina o cross-links ⁽²⁵⁾ , MOC

TRATTAMENTO PREVENTIVO NELLA CALCOLOSI CALCICA

NORME GENERALI

Costituiscono le prime misure da attuare in tutti i pazienti. Esse saranno da attuarsi con più rigore secondo la severità della malattia.

- Introito idrico >2 litri/die distribuito nella giornata e prima di coricarsi; utile l'automonitoraggio periodico della diuresi 24 ore per verificare la compliance alla norma (l'obiettivo è diuresi >2 litri/die) (LE: 1a, GR: A).
- Dieta equilibrata, con un contributo da parte di tutti i gruppi alimentari (LE: 1b, GR: A).
- Proteine <150 g/die.
- Nessuna restrizione di latticini salvo che l'introito non sia accentuato.
- Non sono raccomandati supplementi di calcio salvo che non vi sia iperossaluria intestinale.
- Limitare l'assunzione di sale e di alimenti contenenti sale.
- Incoraggiare l'assunzione di frutta e verdura.

⁽¹²⁾Utile eseguire almeno due valutazioni nelle condizioni consuete di alimentazione e idratazione; raccolta in recipiente di plastica contenente 30 mL di HCl 6 mol/L salvo diversamente specificato

⁽¹³⁾La determinazione del pH non richiede pHmetro e può essere condotta con strisce reattive

⁽¹⁴⁾Calcolare con formula MDRD o di Cockcroft e Gault

⁽¹⁵⁾Correggere per i valori di albumine mia se si ha ragione di sospettare una ipoalbuminemia (paziente edematoso, con epatopatia cronica, con proteinuria nefrosica, malnutrito)

⁽¹⁶⁾Il dosaggio degli ioni mira all'individuazione di condizioni di calcolosi secondaria e di rischio di CKD ed osteopatia. Ipercalcemia e/o ipofosforemia suggeriscono iperparatiroidismo; potassiemia marginalmente ridotta o ridotta suggeriscono acidosi tubulare.

⁽¹⁷⁾Su sangue venoso; ciò che si vuole valutare è la bicarbonatemia

⁽¹⁸⁾Da eseguire se presente ipercalciuria

⁽¹⁹⁾Indagine opzionale

⁽²⁰⁾Indagine opzionale

⁽²¹⁾Mineralometria ossea computerizzata

⁽²²⁾Sodiuria, fosfaturia, azoturia sulle urine delle 24 ore consentono di ottenere informazioni sull'alimentazione del paziente. L'introito proteico può essere stimato dalla seguente formula "Introito proteico/die: (Urea x 0.18) + 13" dove Urea è l'escrezione urinaria/die in mmol di urea

⁽²³⁾Può essere sufficiente test qualitativo (test di Brand)

⁽²⁴⁾Indagine opzionale

⁽²⁵⁾Indagine opzionale

NORME SPECIFICHE

Laddove possibile rimuovere la causa nelle forme secondarie di calcolosi o effettuare una terapia patogenetica (Tabella 16). Nei casi di pazienti recidivanti o di pazienti a rischio di CKD e/o di osteopatia può essere opportuno attuare a lungo termine le seguenti strategie. Nei pazienti con frammenti residui (dopo ESWL) opportuna terapia con Citrato alcalino per 6 mesi o comunque fino a clearance completa dei frammenti.

Tabella 16. Norme specifiche per il trattamento preventivo della calcolosi calcica

	Tiazidici (25-50 mg; 1 somm./die)	Allopurinolo (150-300 mg; 1 somm./die)	Citrato alcalino (4-9 g; in 3 somm./die)	Dieta iposodica	Supp. di Ca	Piridossina	Altro
Ipercalciuria idiopatica	SI (LE: 1a, GR: A)	Se associata a iperuricuria (LE: 1b, GR: A)	Se tiazidici non sufficienti (LE: 1b, GR: A)	SI			
Iperossaluria "mild" ⁽²⁶⁾						SI (LE: 2b, GR: B)	Attenzione ad abuso di cacao, te, noci, concentrato di pomodoro (LE: 4, GR: C)
Iperossaluria intestinale			SI (LE: 4, GR: C)		SI (LE: 4, GR: C)		
Ipocitraturia			SI (LE: 4, GR: C)				Dieta vegetariana (LE: 4, GR: C)
Rene con midollare a spugna	SI (LE: 4, GR: C)		SI (LE: 4, GR: C)				
Acidosi tubulare renale completa/ parziale			SI (LE: 4, GR: C)				
Calcolosi brushitica	SI (LE: 4, GR: C)						

⁽²⁶⁾Iperossaluria mild indica valori di ossaluria compresi tra 40 e 60 mg/die; sospettabile una iperossaluria primitiva se ossaluria >100 mg/die; se tra 60-100 più probabile una iperossaluria intestinale.

TRATTAMENTO PREVENTIVO NELLA CALCOLOSI URATICA

Obbiettivi del trattamento sono la riduzione della soprassaturazione urinaria per l'acido urico; quindi aumento della diuresi, aumento del pH portandolo a valori di 6.5-7.0, riduzione dell'uricuria.

- A. Allopurinolo (150-300 mg, 1 somm. die) se presente iperuricemia e/o iperuricuria (LE 4, GR C)
- B. Bicarbonato di sodio (>3 grammi in 3 somm. die, l'ultima prima di coricarsi) (LE 4, GR C) o citrato di potassio (4-9 g in 3 somm./die, l'ultima prima di coricarsi) (LE 2b, GR B)
- C. Introito idrico >2 l/die (LE: 4, GR: C)

TRATTAMENTO PREVENTIVO NELLA CALCOLOSI CISTINICA

Obbiettivi del trattamento sono la riduzione della concentrazione urinaria di cistina; quindi aumento della diuresi, aumento del pH portandolo a valori >7.5, eventuale impiego di farmaci aumentanti la solubilità della cistina. Inizialmente è necessario monitoraggio più volte al giorno del pH urinario per personalizzare la terapia con alcali e quindi periodicamente per valutarne l'efficacia nel tempo.

- A. Introito idrico >3 l/die (LE: 3, GR: B)
- B. Bicarbonato di sodio (>3 grammi in 3 somm./die, l'ultima prima di coricarsi) o citrato di potassio (4-9 g; 3 somm./die, l'ultima prima di coricarsi) (LE: 3, GR: B)
- C. Se i livelli di cistina libera nelle urine > 200 $\mu\text{mol}/\text{mmol Creat.}$ utilizzare 6-mercapto pioniol glicina (Thiola, tiopronina) nei bambini 50 mg/Kg in 3 somm. (max. 750 mg/die); negli adulti 500-2000 mg/die in 2-3 somm. L'obbiettivo è di portare i livelli di cistina libera nelle urine a valori inferiori a 200 $\mu\text{mol}/\text{mmol Creat.}$ Necessari controlli periodici di proteinuria poiché il farmaco può determinare glomerulopatie proteinuriche. In tal caso sospendere il farmaco (LE: 3, GR: B).

TRATTAMENTO PREVENTIVO NELLA CALCOLOSI INFETTA

- A. Rimozione completa del calcolo (LE: 4, GR: C)
- B. Trattamento antibiotico specifico secondo le specie batteriche isolate nel perioperatorio per prevenire le recidive (LE: 4, GR: C).
- C. Profilassi delle infezioni urinarie (acidificanti, cicli di antibiotici) (LE: 4, GR: C)

FOLLOW-UP

Tabella 17. Schema di follow-up consigliato per i pazienti con nefrolitiasi in relazione alla diversa tipologia di calcolosi

Tipo di calcolosi	Analisi di imaging		Analisi ematiche e urinarie		Altre indagini	
	Tp.	periodicità ⁽²⁷⁾	Tp.	periodicità	Tp.	periodicità
Calcolosi infetta e molle	Ecografia e/o Rx AB e/o TC o uroTC	Ogni 3-6 mesi il 1° anno; quindi ogni 6-12 mesi il 2° anno; successivamente annuale	Creatinina, eGFR, Urine spot: pH, es. urine stand., es. colturale Se indicate: su urine 24 ore Ca, Ossalato, fosfato, urea, sodio, Vol.	Come imaging		
Calcolosi uratica	Ecografia e/o TC o uroTC	Entro 6 mesi, quindi annuale	Creatinina, eGFR, Acido urico. Urine spot: pH, es. urine stand.. Urine 24 ore: urato, Vol.			
Calcolosi cistinica	Ecografia e/o Rx AB e/o TC o uroTC	Entro 6 mesi, quindi ogni 6 mesi per 1-2 anni, successivamente annuale	Creatinina, eGFR. Urine spot: pH, es. urine stand. Urine 24 ore: Cistina, proteine, Vol.	Mensilmente nei primi 3 mesi o comunque fino ad aggiustamento della terapia; quindi ogni 6 mesi per 1-2 anni; successivamente annuale. Automonitoraggio pH urine spot durante la giornata ⁽²⁸⁾		

⁽²⁷⁾Rispetto all'episodio indice

⁽²⁸⁾La valutazione del pH di urine spot durante la giornata è utile a guidare l'intervento terapeutico

CALCOLOSI CALCICA (continua tabella 17)

Tipo di calcolosi	Analisi di imaging		Analisi ematiche e urinarie		Altre indagini	
	Tp.	periodicità	Tp.	periodicità	Tp.	periodicità
Paziente al primo episodio o recidivante occasionale	NO		NO			
Paziente con frammenti residui	Rx AB e/o TC o uroTC	Entro 3 mesi	Creatinina, eGFR, Urocoltura	Come imaging		
Calcolosi cistinica	Ecografia e/o Rx AB e/o TC o uroTC	Ogni 6-12 mesi secondo severità malattia	Creatinina, eGFR, Ca, Pi, K, emogasanalisi ⁽²⁹⁾ , acido urico ⁽³⁰⁾ . Urine 24 ore: ossalato ⁽³¹⁾ , calcio, citrato, urato, fosfato, urea, sodio, Vol. Urine spot: es. urine standard	Inizialmente ogni 2-3 mesi fino ad aggiustamento terapia. Successivamente ogni 6-12 mesi secondo severità malattia	MOC ⁽³²⁾	Annualmente

⁽²⁹⁾Indagine opzionale

⁽³⁰⁾Indagine opzionale

⁽³¹⁾Indagine opzionale

⁽³²⁾Indagine opzionale

Bibliografia

1. Tiselius HG, Alken P, Buck C, Gallucci M, Knoll T, Sarica K, Turk C. Guidelines on urolithiasis. European Association of Urology 2009; pp 1-116; update March 2008.
http://www.uroweb.org/fileadmin/user_upload/Guidelines/18%20Urolithiasis.pdf.
2. National Kidney Foundation. K/DOQI Clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification and stratification. Am J Kidney Dis 2002; 39(2)(suppl 1): S1-S266.
3. Gambaro G, Reis-Santos JM, Rao N. Nephrolithiasis: why doesn't our "learning" progress? Eur Urol 2004; 45: 547-56.
4. Dello Strologo L. Cystinuria. Orphanet encyclopedia. September 2003:
<http://www.orpha.net/data/patho/GB/uk-cystinuria.pdf>

11. Sinossi delle principali raccomandazioni per la rimozione dei calcoli renali e la terapia preventiva

Tale capitolo riassume in tabelle tutte le principali raccomandazioni per la rimozione dei calcoli renali e la terapia preventiva consigliata.

11.1 PRINCIPALI RACCOMANDAZIONI

Tabella 18. Rimozione di calcoli renali radio-opachi (contenenti calcio) con un diametro massimo ≤ 20 mm (superficie ≤ 300 mm²)

Preferenza	Procedura	LE	GR
1	ESWL	1b	A
2	PNL	1b	A
3	RIRS	2a	C
4	LAP	2a	C
5	OS	4	C

ESWL: litotrixxia extracorporea (extracorporeal shock wave lithotripsy), inclusa la piezolitotrixxia; PNL: nefrolitotomia percutanea (percutaneous nephrolithotomy); RIRS: chirurgia intrarenale retrograda (retrograde intrarenal surgery); LAP: chirurgia laparoscopica (laparoscopic surgery); OS: chirurgia "aperta" (open surgery)

Contenendo solitamente calcio in forma di carbonato-apatite e idrossiapatite, i calcoli infetti dovrebbero essere trattati nel medesimo modo dei calcoli calcici non infetti, purché siano garantite sia l'assenza di ostruzione dell'asse escretore interessato sia la risoluzione dei sintomi relativi all'infezione delle vie urinarie.

Tutti i pazienti con calcoli infetti, con una anamnesi patologica prossima positiva per infezione delle vie urinarie o batteriuria, dovrebbero essere sottoposti ad antibioticoteraia prima della pro-

cedura di rimozione del calcolo, continuandola per almeno 4 giorni dopo la procedura stessa (LE: 4; GR: C).

Tabella 19. Rimozione di calcoli di acido urico con un diametro massimo ≤ 20 mm (superficie ≤ 300 mm²)

Preferenza	Procedura	LE	GR
1	Chemiolisi orale	2a	B
2	ESWL + chemiolisi orale	2a	B

Per i pazienti con calcoli di acido urico, la dissoluzione per chemiolisi dei calcoli o dei frammenti residui è un utile presidio adiuvante a ESWL, PNL, URS o chirurgia a cielo "aperto" al fine di ottenere una più completa clearance dei piccoli frammenti calcolotici residui. Il trattamento combinato di ESWL e chemiolisi rappresenta una opzione terapeutica poco invasiva per i pazienti con calcolosi a stampo completa o parziale, infetta. Il trattamento chemiolitico orale rappresenta una terapia alternativa in caso di calcolosi uratica.

Tabella 20. Rimozione di calcoli di cistina con un diametro massimo ≤ 20 mm (superficie ≤ 300 mm²)

Preferenza	Procedura	LE	GR
1	ESWL	2a	B
1	PNL	2a	B
2	RIRS	4	C
3	LAP	4	C
4	OS	4	C

Tabella 21. Rimozione attiva di calcoli renali radio-opachi (contenenti calcio) con un diametro massimo > 20 mm (superficie > 300 mm²)

Preferenza	Procedura	LE	GR
1	PNL	1b	A
2	ESWL	1b	A
3	PNL + ESWL	2b	B
4	LAP	4	C
4	OS	4	C

Tabella 22. Rimozione di calcoli di acido urico con un diametro massimo > 20 mm (superficie > 300 mm²)

Preferenza	Procedura	LE	GR
1	Chemiolisi orale	2a	B
2	ESWL + chemiolisi orale	2a	B
3	PNL	3	C
3	PNL + irrigazione con chemiolitici	3	C

Nel caso in cui pazienti con calcoli di acido urico fossero contestualmente portatori di un catetere nefrostomico in sede, il trattamento del calcolo con ESWL in combinazione con la chemiolisi percutanea potrebbe essere una buona alternativa per cercare di dissolvere rapidamente il materiale litiasico.

Tabella 23. Rimozione attiva di calcoli di cistina con un diametro massimo >20 mm (superficie > 300 mm²)

Preferenza	Procedura	LE	GR
1	PNL	2a	B
1	PNL + ESWL	2a	B
1	PNL + irrigazione chemiolitica	3	C
2	ESWL + irrigazione chemiolitica	3	C
3	LAP	4	C
3	OS	4	C

Ai pazienti con calcoli di diametro > 20 mm (circa 300 mm²), per i quali sia stato pianificato un trattamento con ESWL, dovrebbe essere posizionato uno stent ureterale per evitare danni legati alla possibile comparsa di Steinstrasse (LE: 3; GR: B).

11.2 CALCOLOSI A STAMPO

Un calcolo a stampo è definito come un calcolo con un corpo centrale e almeno un ramo caliceale. Mentre un calcolo a stampo parziale riempie solo una parte del sistema collettore, un calcolo a stampo completo riempie tutti i calici e la pelvi renale.

I pazienti con calcolosi a stampo possono solitamente essere trattati rispettando i principi già forniti per i calcoli cosiddetti grandi (diametro > 20 mm/300 mm²) (LE: 1b; GR: A-B).

11.3 CONSIDERAZIONI GENERALI SUL TRATTAMENTO DELLA CALCOLOSI RENALE

Di seguito sono riportate alcune considerazioni generali utili per una più corretta gestione della calcolosi renale.

Tabella 24. Particolari considerazioni per la rimozione dei calcoli

Considerazioni particolari	LE	GR
Il trattamento con antibiotici dovrebbe precedere la procedura di rimozione di un calcolo in caso di urocoltura positiva, dip-stick positivo o sospetto di una componente infettiva	3	B
Il trattamento con salicilati dovrebbe essere interrotto 10 giorni prima della rimozione del calcolo	3	B
ESWL e PNL sono controindicate in donne in gravidanza	4	C
ESWL, possibile in pazienti con un pacemaker	4	C

11.4 GESTIONE DELLA LITIASI RENALE IN GRAVIDANZA

L'ecografia (utilizzando le eventuali modificazioni dell'indice di resistività e l'ecografia transvaginale, quando necessaria) è divenuta lo strumento diagnostico principale (LE: 1a; GR: A). Per una corretta gestione della litiasi renale in gravidanza devono essere presi in considerazione i seguenti assunti:

- il 70-80% delle pazienti con calcoli urinari, riescono ad espellerli spontaneamente (LE: 1a; GR A).

Preferenza 1	Il trattamento conservativo con riposo a letto, adeguata idratazione e analgesia, dovrebbe essere la terapia di prima linea per tutte le donne in gravidanza con una urolitiasi non complicata	LE: 4 GR: C
--------------	--	----------------

- se non si ha l'espulsione spontanea del calcolo o se si sviluppano complicanze (comunemente l'induzione di un travaglio prematuro) devono essere presi in considerazione i seguenti punti:

Preferenza 2	Il posizionamento di uno stent ureterale o di un catetere nefrostomico sono suggeriti come alternative di trattamento di prima linea	LE: 4 GR: C
Preferenza 3	L'ureteroscopia, sebbene più invasiva, è stata accettata come possibile alternativa	LE: 1b GR: A

Quando il trattamento conservativo fallisce e si vuole eseguire una derivazione urinaria, sia il posizionamento di un catetere nefrostomico sia l'inserimento di uno stent ureterale sono alternative appropriate	LE: 3 GR: B
L'ureteroscopia, in mani esperte, può essere un'alternativa di trattamento efficace per la rimozione di calcoli reno-ureterali ostruenti durante la gravidanza	LE: 1b-4 GR: B-C
A causa di ben stabiliti rischi di esposizione alle radiazioni sul feto in crescita, SWL e PNL sono controindicate in gravidanza	LE: 4b GR: C

11.5 DIAGNOSI DELL'UROLITIASI IN ETA' PEDIATRICA

I pazienti pediatrici con urolitiasi rappresentano un gruppo ad alto rischio di calcolosi ricorrente.

Tabella 25. Sinossi delle principali raccomandazioni per la diagnostica dell'urolitiasi in età pediatrica

Le indagini per la diagnosi di calcolosi e le alterazioni metaboliche sono cruciali	LE: 2a GR: B
E' obbligatoria una urocoltura	LE: 2 GR: A
La valutazione ecografica dovrebbe includere il rene, la vescica (piena) e le porzioni di uretere visualizzabili	LE: 4 GR: B
L'ecografia non è in grado di identificare i calcoli in più del 40% dei pazienti pediatrici e non offre informazioni circa la funzione renale	LE: 4
In alcuni casi, i modelli diagnostici convenzionali sono indispensabili	LE: 4 GR: C
TC spirale: Nei pazienti pediatrici, solo il 5% dei calcoli sfugge all'individuazione di una TC spirale senza m.d.c.	LE: 4
La sedazione o l'anestesia sono raramente necessarie quando viene utilizzata una TC moderna ad "alta velocità"	LE: 4
La scintigrafia renale con diuretico (furosemide), con l'iniezione di un radio tracciante (MAG3 o DPTA), è in grado di dimostrare la funzione renale e di identificare l'ostruzione nel rene dopo iniezione di furosemide, indicando il livello anatomico di ostruzione	LE: 4 GR: C o B
I più comuni disordini non metabolici sono il reflusso vescico-ureterale, l'ostruzione del giunto pielo-ureterale, la vescica neurologica, o altre difficoltà di svuotamento	LE: 4
Le indagini metaboliche si basano su un'appropriate analisi del calcolo (vedi tab.7)	LE: 2b GR: B
In base alla composizione dei calcoli: può essere richiesta un'analisi chimica del siero e delle urine delle 24 ore	LE: 2 GR: A

11.6 RIMOZIONE DEL CALCOLO IN ETA' PEDIATRICA

In linea di principio, devono essere utilizzate per i soggetti in età pediatrica le stesse modalità di trattamento impiegate per gli adulti, pur considerando le specifiche circostanze della sfera pediatrica. L'espulsione spontanea di un calcolo è più probabile nei bambini che negli adulti (LE: 4; GR: C). Per la rimozione "invasiva" di un calcolo nel paziente pediatrico, sia l'ESWL sia le procedure endourologiche sono alternative efficaci.

Diversi fattori devono essere presi in considerazione quanto si selezionano le procedure terapeutiche:

- rispetto all'adulto, nel bambino i frammenti litiasici passano più rapidamente dopo ESWL;
- per le procedure endourologiche quando si scelgono gli strumenti per la PNL o l'URS; bisogna tener conto delle dimensioni ridotte del rene
- si deve ricorrere all'impiego dell'ecografo, per la localizzazione del calcolo durante l'ESWL così da eliminare/ridurre l'esposizione alle radiazioni;
- si dovrebbe conoscere in anticipo la composizione del calcolo (i calcoli di cistina sono più resistenti all'ESWL);
- si devono conoscere eventuali co-morbilità e trattamenti concomitanti
- ci può essere la necessità di una anestesia generale anche per l'ESWL (in base all'età del paziente e al tipo di litotritore utilizzato).

Tabella 26. Sinossi delle principali raccomandazioni per la gestione terapeutica dell'urolitiasi in età pediatrica

Durante l'URS, la dilatazione dell'orificio ureterale è raramente necessaria	LE: 4 GR: C
Il laser al olmio (Ho:YAG) è il dispositivo preferito per la litotrissia intracorporea	LE: 4 GR: C
Per PNL o URS, con strumenti più grandi, la litotrissia ultrasonica o pneumatica sono alternative appropriate	LE: 3 GR: C
Le indicazioni per ESWL sono simili a quelle negli adulti. I pazienti in età pediatrica con calcoli della pelvi renale o calcoli caliceali con un diametro fino a 20 mm (circa 300 mm ²), sono casi ideali per questo tipo di opzione terapeutica. Le percentuali di successo tendono a ridursi con l'incremento della massa calcolotica	LE: 1a GR: A

11.7 APPROCCIO AI FRAMMENTI RESIDUI, VALIDO PER TUTTE LE TIPOLOGIE DI PAZIENTI

Tabella 27. Sinossi delle principali raccomandazioni per la gestione dei frammenti litiasici residui

I pazienti con frammenti o calcoli residui dovrebbero essere seguiti regolarmente per monitorare il decorso della loro malattia	LE: 4 GR: C
L'identificazione dei fattori di rischio biochimici e l'appropriata prevenzione dei calcoli sono particolarmente indicate in pazienti con frammenti o calcoli residui	LE: 1b GR: A
Per il materiale residuo dopo una buona frantumazione di un calcolo nel calice inferiore, dovrebbe essere presa in considerazione la terapia "d'inversione" dopo una abbondante introduzione di liquidi e la percussione meccanica	LE: 1a GR: A

Tabella 28. Raccomandazioni per il trattamento dei frammenti residui

Frammenti e calcoli residui (diametro massimo)	Residui sintomatici	Residui asintomatici
<4-5 mm	Rimozione del calcolo	E' ragionevole un follow-up
>6-7 mm	Rimozione del calcolo	Considerare un appropriato metodo per rimuovere il calcolo

11.8 STEINSTRASSE

Tabella 29. Raccomandazioni per il trattamento della Steinstrasse

Posizione del calcolo	Non ostruente	Ostruente e/o sintomatico	LE	GR
Uretere prossimale	1. ESWL 1. Stent 2. URS 1. ESWL	1. PCN 1. URS	4	C
Uretere medio	1. ESWL 1. Stent 2. URS 1. ESWL	1. PNL 1. URS	4	C
Uretere distale	1. ESWL 1. Stent 2. URS 1. ESWL	1. PNL 1. URS	4	C

11.9 DECOMPRESSIONE DEL SISTEMA COLLETORE

Per la decompressione del sistema collettore renale, cateteri ureterali, stent ureterali e nefrostomia percutanea sono apparentemente di eguale efficacia (LE: 1b; GR: A).

11.10 TRATTAMENTO PREVENTIVO DELL'UROLITIASI CALCICA

Il trattamento preventivo della recidiva nei pazienti con calcolosi calcica dovrebbe iniziare con misure conservative.

Il trattamento farmacologico dovrebbe essere istituito solo quando tale regime conservativo fallisce. Per un adulto normale, il volume urinario delle 24 ore dovrebbe superare i 2 litri, ma i livelli di soprassaturazione dovrebbero essere usati come guida per il grado necessario di diluizione urinaria. La dieta dovrebbe essere dettata dal comune buon senso, con una dieta mista bilanciata con i contributi di tutti i gruppi nutrienti, evitando tuttavia gli eccessi. Qualsiasi ulteriore raccomandazione dietetica dovrebbe basarsi su dimostrate alterazioni biochimiche individuali.

Tabella 30. Quando ai pazienti produttori di calcoli calcici dovrebbe essere offerto un trattamento preventivo della recidiva e come?

Categoria	Analisi dei fattori urinari di rischio	Prevenzione delle recidive
So	No	Consigli generali
Sres	Si*	Consigli specifici con o senza un agente farmacologico
Rmo	No	Consigli generali
Rm-res	Si*	Consigli specifici con o senza un agente farmacologico
Rs	Si	Consigli specifici con o senza un agente farmacologico

* Procedura opzionale che è raccomandata se è probabile che l'informazione ottenuta possa essere utile per definire il trattamento successivo.

Tabella 31. Trattamento suggerito per pazienti con specifiche alterazioni nella composizione urinaria

Fattori urinari di rischio	Trattamento suggerito	LE	GR
Ipercalciuria	Tiazidico + citrato di potassio	1a	A
Iperossaluria	Restrizione di ossalati	2b	A
Ipocitraturia	Citrato di potassio	1b	A
Iperossaluria enterica	Citrato di potassio	3-4	C
	Supplementi di calcio	2	B
	Assorbimento di ossalato	3	B
Elevata escrezione di sodio	Riduzione dell'introito di sale	1b	A
Ridotto volume urinario	Aumentato introito di liquidi	1b	A
Livelli di urea indicanti un elevato apporto di proteine animali	Evitare un eccessivo introito di proteine animali	1b	A
Acidosi tubulare renale distale	Citrato di potassio	2b	B
Iperossaluria primaria	Piridossina	3	B
Nessuna anomalia identificata	Elevato introito idrico	2b	B

11.11 GESTIONE DEI PAZIENTI CON CALCOLOSI URATICA

Tabella 32. Trattamento farmacologico della calcolosi uratica

Obiettivo	Misure terapeutiche	LE	GR
Prevenzione	Diluizione urinaria Un elevato introito idrico; volume urinario delle 24 ore superiore a 2-2,5 L	3	B
	Alcalinizzazione Citrato di potassio 2-7 mmol x 2-3/die	2b	B
	In pazienti con un elevato livello sierico e urinario di urato Allopurinolo 300 mg/die	3	B
Dissoluzione medica dei calcoli di acido urico	Diluizione urinaria Un elevato introito idrico; volume urinario delle 24 ore superiore a 2-2,5 L	4	C
	Alcalinizzazione Citrato di potassio 6-10 mmol x 2-3/die	1b	A
	Ridurre sempre l'escrezione di urato Allopurinolo 300 mg/die	4	C

11.12 GESTIONE DEI PAZIENTI CON CALCOLOSI CISTINICA

Tabella 33. Trattamento farmacologico di pazienti con calcolosi cistinica

Misure terapeutiche	LE	GR
Diluizione urinaria Un elevato introito idrico dovrebbe essere raccomandato in modo tale che il volume urinario delle 24 ore superi 3 L. Per raggiungere tale obiettivo l'introito dovrebbe essere almeno 150 ml/ora	3	B
Alcalinizzazione Per pazienti con una escrezione di cistina al di sotto di 3 mmol/24 ore: dovrebbe essere somministrato citrato di potassio 3-10 mmol x 2-3/die così da ottenere un pH >7,5	3	B
Formazione di complessi con cistina Per pazienti con una escrezione di cistina sopra 3 mmol/24 ore o quando altre misure sono insufficienti: Tiopronina (alfa-mercapto-propionilglicina) (250-2000 mg/die) o Captopril (75-150 mg)	3	B

11.13 GESTIONE DEI PAZIENTI CON CALCOLOSI INFETTA

E' fondamentale che il sistema collettore renale sia totalmente ripulito dal materiale calcolotico (LE: 3; GR: C).

Tabella 34. Trattamento farmacologico della calcolosi infetta

Misure terapeutiche	LE	GR
Rimozione dei calcoli Rimozione chirurgica del materiale litiasico, quanto più completa possibile	4	C
Trattamento antibiotico Ciclo a breve termine Ciclo a lungo termine	3 3	B B
Acidificazione Cloruro di Ammonio 1 g x 2-3/ die Metionina 500 mg 1-2 x 3/ die	3 3	B B
Inibizione dell'ureasi In casi molto selezionati, con infezioni gravi, il trattamento con acido acetoidrossamico (Lithostat) può rappresentare una opzione terapeutica	1b	A

CONSIDERAZIONI CONCLUSIVE

La formazione di calcoli nel tratto urinario è una condizione patologica che colpisce, con elevata, seppur variabile, prevalenza soggetti in modo ubiquitario. La natura ricorrente della malattia rende importante non solo la rimozione dei calcoli dal tratto urinario e l'assistenza del paziente durante l'espulsione spontanea dei calcoli, ma anche un idoneo approccio metabolico per delineare una appropriata strategia preventiva e profilattica al fine di ridurre la frequenza con cui la calcolosi tende a ripresentarsi. Ne va da sé, quindi, che l'urolitiasi implica di necessità uno sforzo importante da parte del Sistema Sanitario Nazionale e di tutti coloro che in questo ambito esercitano la loro attività.

Fortunatamente, le opzioni terapeutiche per la rimozione dei calcoli urinari, attualmente a disposizione, sono sempre "meno invasive" così che il trattamento della calcolosi renale possa essere considerato relativamente sicuro e routinario.

Abbreviazioni

CKD:	Chronic Kidney Disease secondo la classificazione KDOQI
CY:	Calcoli di cistina
ESWL:	Litotrissia extracorporea (<i>extracorporeal shock wave lithotripsy</i>), inclusa la piezolitotrissia
GR:	Grado di Raccomandazione
INF:	Calcoli infetti
KDOQI:	Kidney Disease Outcomes Quality Initiative
LAP:	Chirurgia laparoscopica (<i>laparoscopic surgery</i>);
LE:	Livello di Evidenza
OS:	Chirurgia aperta (<i>open surgery</i>)
PNL:	Nefrolitotomia percutanea (<i>percutaneous nephrolithotomy</i>).
RIRS:	Chirurgia intrarenale retrograda (<i>retrograde intrarenal surgery</i>).
Rmo:	Urolitiasi ricorrente di grado lieve senza calcoli e/o frammenti residui
Rm-res:	Urolitiasi ricorrente di grado lieve con calcoli e/o frammenti residui
Rs:	Urolitiasi grave
So:	Urolitiasi di primo riscontro senza calcoli e/o frammenti residui
Sres:	Urolitiasi di primo riscontro con calcoli e/o frammenti residui
UR:	Calcoli di acido urico
URS:	Ureterosopia (<i>ureteroscopy</i>)

Capitolo 7

STENOSI DELL'URETRA: DIAGNOSI E TRATTAMENTO

E. Palminteri

Nota

Con il termine "stenosi uretrale" si intende il restringimento del lume uretrale causato da una cicatrice che si sviluppa nella parete dell'uretra a partire da una lesione o una alterazione tissutale^{1,2}. Da sempre la gestione della malattia stenotica rappresenta un motivo di dibattito in campo urologico.

L'uretra maschile non è una struttura tubulare omogenea ma un canale costituito da diversi tratti, ognuno con una sua caratteristica strutturale e funzionale: questo presupposto spiega la differenza dei processi patologici stenosanti nei vari segmenti uretrali e le diverse implicazioni terapeutiche. Sulla base della relazione "struttura del segmento uretrale - eziopatogenesi della stenosi - terapia", una prima distinzione va fatta tra uretra anteriore e uretra posteriore. Questi due tratti sono a loro volta suddivisi in altri segmenti con proprie caratteristiche anatomiche-patologiche-terapeutiche: Uretra Anteriore (glandulare, peniena, bulbare), Uretra Posteriore (membranosa, prostatica,) (fig. 1)³.

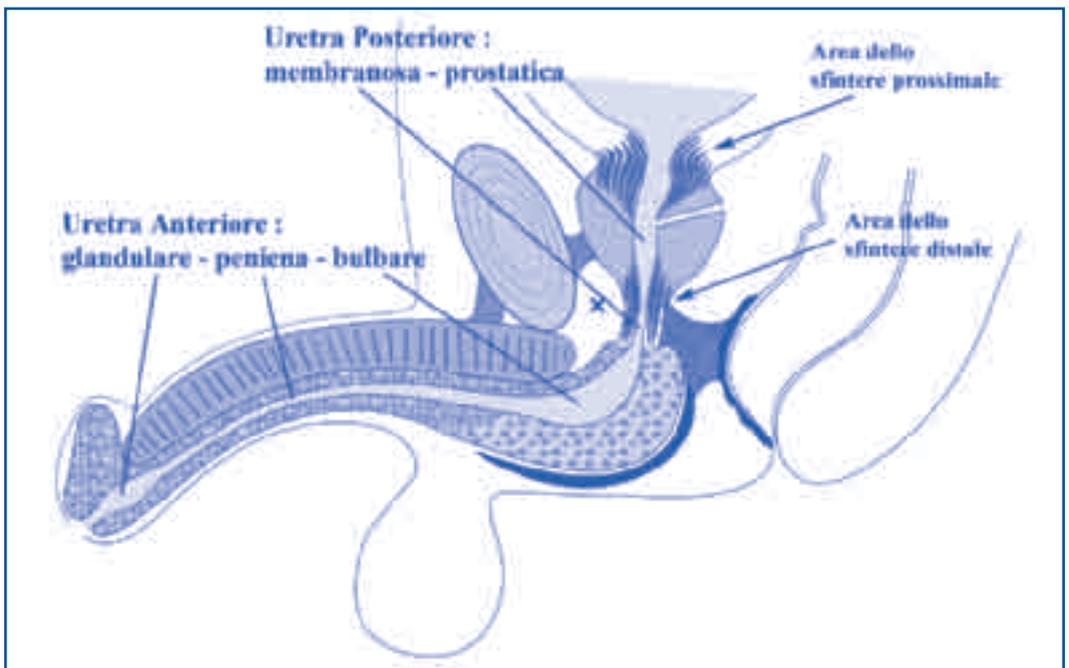


Figura 1: Suddivisione anatomica dell'uretra.

L' Uretra Anteriore è caratterizzata dalla presenza di una parete, il corpo spongioso, sede dei processi patologici stenosanti.

L'Uretra Posteriore, non possiede come l'Uretra Anteriore una parete spongiosa ma la sua anatomia è rappresentata dalle strutture che attraversa: la prostata (uretra prostatica) ed il complesso sfinterico distale (uretra membranosa)⁴. La mancanza del corpo spongioso e la differente struttura anatomica spiegano la diversità dell'etiologia stenotica e dei principi terapeutici impiegati nella riparazione dell'uretra posteriore rispetto all'uretra anteriore. La presenza dei due sfinteri uretrali, prossimale (collo vescicale) e distale (uretra membranosa), e la vicinanza dei nervi dell'erezione rendono il trattamento delle lesioni dell'uretra posteriore particolarmente difficile e problematico: è necessaria una atten-

ta valutazione preoperatoria prima di avventurarsi in qualsiasi progetto terapeutico che possa modificare pesantemente la qualità della vita, causando alterazioni della continenza urinaria e/o della funzione erettile.

INCIDENZA

Le stenosi uretrali sono rare nei bambini, si incrementano linearmente fino ai 55 anni e dopo questa età la loro incidenza aumenta drasticamente, probabilmente a causa dell'ischemia uretrale concomitante all'invecchiamento. Da uno studio del Dipartimento di Salute del Regno Unito è risultato che l'incidenza di una stenosi sintomatica è di circa 1:2000 uomini, salendo fino a 1:200 in tarda età⁵.

CLASSIFICAZIONE ED ETIOLOGIA

A causa delle suddette differenze anatomiche, l'etiopatogenesi delle stenosi dell'uretra anteriore risulta differente dall'etiopatogenesi delle stenosi dell'uretra posteriore.

L'etiologia delle **Stenosi Uretrali Anteriori** può essere:

- congenita
- infettiva
- traumatica
- iatrogena – ischemica (manovre endoscopiche, catetere)
- lichen sclerosus
- chirurgia ipospadica
- sconosciuta

L'etiologia delle **Stenosi Uretrali Posteriori** è:

- traumatica (traumi del bacino)
- chirurgia prostatica.

Nel secolo passato le più importanti cause di stenosi uretrali maschili sono state la blenorragia ed i traumi.

L'eziologia moderna è caratterizzata dall'incremento di nuove malattie e condizioni stenosanti. Le stenosi da Lichen Sclerosus (LS) e dopo chirurgia ipospadica sono aumentate e rappresentano una delle sfide più difficili nell'ambito della chirurgia ricostruttiva genito-uretrale. Molte stenosi uretrali anteriori sono di natura ischemico-iatrogena e questo dovrebbe indurre l'urologo ad essere estremamente delicato durante qualsiasi manipolazione uretrale. La causa traumatica esterna rappresenta una minima parte delle stenosi anteriori (caduta a cavalcioni), mentre è responsabile della maggior parte delle stenosi posteriori (trauma pelvico)⁵. Altre cause di stenosi posteriori sono la chirurgia prostatica endoscopica, la brachiterapia, la crioterapia e la prostatectomia radicale^{6,7}.

STADIAZIONE PREOPERATORIA

Lo studio approfondito delle stenosi consente la stadiazione della patologia e svolge un ruolo fondamentale nella pianificazione della strategia terapeutica più adeguata⁹⁻¹¹.

Il suo scopo è fornire informazioni sulla stenosi (*sede, lunghezza, estensione della spongiofibrosi*) e sui fattori associati (lichen sclerosus, pregressa chirurgia ipospadica o prostatica, patologie urologiche associate, ecc.).

Gli accertamenti clinici impiegati in successione nello studio delle stenosi sono:

- Uroflussimetria
- Uretrografia
- Ultrasonografia uretrale
- Uretroscopia
- Valutazione urologica generale
- Esame Obiettivo dei Genitali

La stadiazione della stenosi e la conseguente decisione terapeutica scaturiscono da una lettura unitaria di questi esami e non dalla loro singola valutazione.

L'Uroflussimetria è il primo esame clinico che fa sospettare la presenza di un'ostruzione uretrale. È opportuno valutare più esami uroflussimetrici e tenere presente che il flusso può essere influenzato dall'età e da patologie associate. Non esiste un valore codificato di flusso massimo sotto il quale è giustificato sospettare una stenosi uretrale; ad ogni modo il valore di flusso massimo < 14 ml/sec. viene riportato in letteratura come una dato di riferimento fallimentare dopo un'uretroplastica e sospetto per una recidiva stenotica¹².

L'Uretrocistografia Retrograda e Minzionale è lo studio dinamico fondamentale per la stadiazione delle stenosi. La *Fase Retrograda* studia l'uretra anteriore (differenziando stenosi del tratto penieno o del tratto bulbare). La *Fase Minzionale*, oltre a fornire informazioni su vescica e uretra posteriore, determina la severità dell'ostruzione (basandosi sul grado di dilatazione pre-stenotica) ed aiuta a decidere la strategia terapeutica adeguata.

L'Uretrocistografia combinata e contemporanea retrograda-minzionale consente lo studio delle stenosi uretrali posteriori dopo trauma pelvico: il suo scopo è valutare la lunghezza della stenosi e la competenza del collo vescicale. Quest'ultimo resta, infatti, l'unico sfintere residuo dopo il danneggiamento traumatico del complesso sfinterico distale e da solo dovrà garantire la continenza successiva alla riparazione della stenosi.

L'Ultrasonografia uretrale fornisce informazioni aggiuntive sul reale coinvolgimento spongiofibrótico della parete dell'uretra rivelando spesso una malattia uretrale più estesa di quanto non appaia all'uretrografia. Inoltre, a causa della proiezione obliquata del tubo catodico, l'Uretrografia rende la stenosi più corta e, quindi, meno reale rispetto all'Ecografia. L'ecografia resta comunque uno studio complementare e non sostitutivo dell'uretrografia: nessuno studio ecografico può sostituirsi alla valutazione dinamica e morfologica di tutto il basso apparato urinario nel suo insieme fornita dalla uretrografia. Nella decisione della strategia ricostruttiva il chirurgo non potrà mai fare a meno di una buona uretrografia mentre potrebbe fare a meno dell'ecografia¹³⁻¹⁵.

L'Uretroscopia tramite strumenti sottili (7 – 11 Fr.) consente di completare la stadiazione della malattia uretrale tramite l'acquisizione di ulteriori importanti informazioni: valutazione delle pareti uretrali (anche nel tratto non interessato dalla stenosi), presenza di peli o calcoli uretrali, distanza della stenosi dallo sfintere distale, funzionalità degli sfinteri, ecc.!. È consigliabile effettuare in narcosi la valutazione endoscopica: le contrazioni ed i movimenti inconsulti di un paziente sveglio, sofferente e reattivo alle manovre endoscopiche potrebbero infatti essere causa di danni uretrali iatrogeni ed impedire l'acquisizione di notizie utili sul lume uretrale.

La **Valutazione Urologica Generale** (esame urine, urinocoltura, ecografia apparato urinario, PSA) slantizza patologie urologiche associate che potrebbero condizionare il risultato del trattamento della stenosi o modificare la scelta terapeutica.

L'**Esame Obiettivo dei Genitali** consente di rilevare la presenza di Lichen Sclerosus o altre patologie dermatologiche, valutare la qualità della cute prepuziale e peniena, ed evidenziare la presenza di fistole o flogosi periuretrale

TERAPIA

La chirurgia uretrale rappresenta un patrimonio limitato ad un ristretto numero di specialisti. A tutt'oggi, la maggior parte degli urologi preferisce ricorrere a metodiche meno invasive (dilatazioni, uretrotomia interna, stent permanente) nonostante la letteratura abbia acclarato i risultati nettamente superiori delle uretroplastiche¹⁶.

A differenza di altre patologie urologiche, non esistono linee guida ben definite per la terapia delle stenosi. In realtà esiste una comune filosofia di trattamento a cui si attengono gli esperti del settore. Questo capitolo, attraverso una rivisitazione della letteratura, cerca di sintetizzare i principi che sarebbe corretto seguire nella gestione delle malattie uretrali stenosanti, indicando qual è la procedura più appropriata nei differenti segmenti uretrali e nei differenti tipi di stenosi⁵. È importante sottolineare che, nell'era moderna, il trattamento più idoneo è quello che assicura non solo il ripristino della funzione urinaria, ma anche la salvaguardia dell'attività sessuale e dell'aspetto estetico dei genitali¹⁷.

STENOSI DELL'URETRA PENIENA

La bassa percentuale di successo (circa il 16%) ha determinato una drastica riduzione dell'impiego dell'Uretrotomia endoscopica nel tratto uretrale penieno¹⁸.

La scelta della tecnica chirurgica ricostruttiva si basa sull'etiologia della stenosi e sulle condizioni del piatto uretrale e dei tessuti penieni. In presenza di un pene normale con cute, dartos e piatto uretrale validi ai fini di una ricostruzione (ad es. stenosi ischemiche) si preferisce effettuare uretroplastiche in tempo unico. Al contrario, in presenza di un pene anomalo con cute, dartos e, soprattutto, piatto uretrale inutilizzabili ai fini ricostruttivi (ad es. stenosi da LS o dopo chirurgia ipospadica), è consigliabile ricorrere alla chirurgia stadiata di salvataggio¹⁹⁻²³.

Le **tecniche in tempo unico** consistono nell'ampliamento longitudinale dell'uretra con una "toppa" di tessuto di sostituzione. L'ampliamento uretrale può essere **ventrale**, tramite lembi cutanei penieni (lembo ventrale-longitudinale di Orandi, lembo circolofasciocutaneo di McAninch, ecc.)^{24, 25}, o **dorsale**, tramite innesti di mucosa buccale (MB) o cute prepuziale. Nell'uretra peniena l'ampliamento dorsale è confezionato più facilmente tramite un approccio uretrotomico ventrale all'uretra (sec. Asopa²⁶ piuttosto che tramite un approccio uretrotomico dorsale (sec. Barbagli)²⁷. Diversamente dal tratto bulbare, nell'uretra peniena gli innesti non vengono impiegati ventralmente in quanto riceverebbero scarso supporto dall'esile parete spongiosa.

La dissezione chirurgica, evitando di interferire con il supporto neurovascolare, dovrà rispettare lo stato del pene e non mettere a rischio la funzione sessuale. Pertanto, negli ultimi anni l'impiego dei lembi con peduncolo vascolare ha lasciato progressivamente il posto all'impiego degli innesti che sono facili da prelevare e con poche complicanze^{28, 29}. L'uso dei lembi, invece prevede un training più lungo ed un maggiore rischio di complicanze urinarie, sessuali ed estetiche dovute alla crescita di peli nella neouretra, diverticoli uretrali, fistole, necrosi cutanee, cicatrici retraenti, corda e rotazione peniena⁵.

Le tecniche di sostituzione uretrale circonferenziale con "neo-tubuli" di tessuti sostitutivi che ten-

dono al collassamento sono cadute in disuso, poiché non supportati dalla parete uretrale originaria. In presenza della necessità di sostituire circonfenzialmente interi tratti dell'uretra è consigliabile ricorrere alla chirurgia stadiata³⁰.

La resezione e anastomosi termino-terminale è una procedura controindicata nel segmento penieno perché la scarsa possibilità di mobilizzazione dei monconi uretrali determina un alto rischio di recidiva ischemica della stenosi ed una corda uretrale che potrebbe ostacolare l'erezione³¹.

Le **tecniche stadiate** consistono nella marsupializzazione dell'uretra alla cute circostante e nella successiva ritubularizzazione senza (sec. Johanson) o con l'ausilio di innesti (sec. Asopa)^{26, 32}. In presenza di un'uretra totalmente inutilizzabile, può essere giustificata la sua completa rimozione e sostituzione con un innesto che ricrea ex-novo un **neo-piatto uretrale** (sec. Bracka); quest'ultimo, nella tappa chirurgica finale, verrà ritubularizzato consentendo una soddisfacente ricostruzione del meato e del glande nei casi che coinvolgono il segmento uretrale più distale³³.

Come detto in precedenza, la chirurgia stadiata trova una particolare applicazione nelle stenosi da LS o dopo chirurgia ipospadica in cui il canale risulta spesso completamente obliterato e fibrotico, mentre la cute ed il dartos sono scarsi e coinvolti dalla sclerosi lichenoidi o dalle cicatrici dei pregressi interventi (Algoritmo 1)^{5, 34}.

E' importante sottolineare che le procedure stadiate spesso necessitano di più tappe, rendendo erroneo l'impiego del termine "uretroplastica in due tempi" e più adeguato quello di "uretroplastica multi-stadiata"²³.

ALGORITMO 1 PER IL TRATTAMENTO DELLE STENOSI URETRALI PENIENE

Stenosi non obliterativa

con piatto uretrale utilizzabile → Uretroplastica in tempo unico di ampliamento dorsale (con innesti) o ventrale (con lembi)

Stenosi obliterativa

con piatto uretrale inutilizzabile → Uretroplastica stadiata (con o senza innesti dorsali)

STENOSI DELL'URETRA BULBARE

La letteratura riporta una percentuale di successo dell'Uretrotomia endoscopica a freddo di circa il 40% nelle stenosi bulbari generiche che sale al 70% nei restringimenti bulbari primari, non-obliterativi e corti, rendendo plausibile un suo impiego in casi selezionati¹⁸. Tuttavia recenti studi sui costi-benefici dell'uretroplastica comparati con le dilatazioni e l'uretrotonomia hanno evidenziato che non c'è nessun vantaggio nel fare più di una uretrotonomia prima di procedere ad un'uretroplastica; anzi in stenosi, vergini anche se significative, l'uretroplastica primaria rappresenta il trattamento migliore^{35, 36}. A differenza delle stenosi posteriori, bisogna inoltre sottolineare che nelle stenosi anteriori non esiste alcuna evidenza clinica che l'uretrotonomia con il laser fornisca risultati superiori rispetto all'uretrotonomia a freddo³⁷.

Attualmente il gold standard per le stenosi bulbari corte (< 2 cm) obliterative o non-obliterative è la **resezione ed anastomosi termino-terminale (T-T)**^{38, 39}. Quest'ultima è considerata la tecnica con la più alta percentuale di successo (> 95%) e che tende a perdurare nel tempo perché non impiega tessuti estranei all'uretra. Nei casi in cui, dopo la resezione del tessuto fibrotico, i due monconi non

appaiano sufficientemente elastici, è consigliabile effettuare una **anastomosi con l'aggiunta di un innesto dorsale** ("graft augmented anastomosis") per ridurre la tensione ischemizzante: le due estremità uretrali sono anastomizzate fra di loro ventralmente ed all'innesto dorsalmente^{31, 40}.

Per le stenosi più lunghe (> 2 cm), non-oblitterative il gold standard è rappresentato dall'**uretroplastica di ampliamento dorsale o ventrale** con un'innesto-toppa (il cosiddetto "patch-graft") di MB, con una percentuale di successo di circa il 90%⁴¹. L'ampliamento longitudinale dell'uretra bulbare può avvenire sul versante dorsale o su quello ventrale⁴². L'ampliamento dorsale può essere realizzato tramite un approccio uretrotomico ventrale all'uretra (sec. Asopa) o tramite un approccio uretrotomico dorsale (sec. Barbagli)^{26, 27}. Nelle stenosi molto serrate può risultare utile confezionare un doppio ampliamento **dorsale e ventrale** con preservazione del piatto uretrale⁴³. I risultati delle procedure ventrali e dorsali sono simili e la scelta dipenderà dalla familiarità del chirurgo con una piuttosto che con un'altra tecnica. Tuttavia, nel tratto bulbare prossimale l'ampliamento ventrale sembra tecnicamente più facile e meno aggressivo^{44, 45}.

Alcuni studi hanno evidenziato il rischio di complicanze sessuali dopo l'anastomosi T-T (deficit erettile, alterazioni della sensibilità del glande, corda uretrale, ecc.) ed hanno così avviato il recente dibattito sulla tendenza ad impiegare le meno aggressive tecniche di ampliamento anche nelle stenosi corte non oblitterative, limitando le procedure anastomotiche alle sole stenosi corte oblitterative⁴³.

La facilità di prelievo e gli eccellenti risultati della MB hanno ridotto notevolmente l'impiego dei lembi pedunculati nelle ricostruzioni bulbari. Tuttavia nelle stenosi lunghe, recidivanti e con notevole compromissione della parete spongiosa la probabilità di successo degli innesti si riduce drasticamente. Alcuni Autori suggeriscono l'uso dei lembi cutanei penieni ma in realtà la chirurgia stadiata rappresenta la soluzione di necessità più idonea in una ricostruzione uretrale complessa. Le **tecniche stadiate** per la ricostruzione bulbare, ancor più che nell'uretra peniena, si avvalgono dell'impiego aggiuntivo di innesti cutanei o di MB per evitare l'uso della cute scrotale locale ed oviare alla crescita dei peli all'interno della neouretra⁴⁶. In particolare la tecnica di Schereiter con l'innesto reticolato ("mesh graft") di cute prelevata dalla coscia consente ampie ricostruzioni (algoritmo 2)⁴⁷.

Infine, nelle lunghe stenosi peno-bulbari con estesa spongiofibrosi il confezionamento di una uretrostomia perineale derivativa potrà risultare la soluzione di salvataggio più realistica anziché ricorrere ad eroiche ma utopistiche e complesse procedure chirurgiche^{5, 48, 30}.

Nelle stenosi bulbari prossimali a ridosso dell'uretra membranosa il trattamento chirurgico può causare un indebolimento del complesso sfinterico distale: il paziente deve quindi essere informato che un'eventuale futura chirurgia prostatica con compromissione dello sfintere prossimale residuo (collo vescicale) potrebbe essere causa di incontinenza.

ALGORITMO 2 PER IL TRATTAMENTO DELLE STENOSI URETRALI BULBARI

- | | |
|---|--|
| Stenosi corta, non oblitterativa, primaria | → Uretrotomia endoscopica |
| Stenosi corta, oblitterativa | → Uretroplastica anastomotica con o senza innesti |
| Stenosi non oblitterativa | → Uretroplastica di ampliamento dorsale o ventrale con innesti |
| Stenosi lunga, con piatto uretrale inutilizzabile | → Uretroplastica stadiata con o senza innesti |

TESSUTI DI SOSTITUZIONE URETRALE

La mucosa buccale (MB) rappresenta ad oggi il gold standard dei tessuti omologhi utilizzati nella chirurgia uretrale⁴¹. La sua ampia diffusione negli ultimi 15 anni ha reso l'uretroplastica più veloce e facile sia per il chirurgo che per il paziente. Essa è maneggevole, elastica, di spessore adeguato, resistente alle infezioni e facilmente attecchibile. La MB risulta inoltre il tessuto meno attaccabile dal LS⁵. Il prelievo dalla guancia è il gold standard, semplice e con poche complicanze, mentre il prelievo dal labbro è sconsigliato per l'elevato rischio di complicanze⁴⁹. Recentemente è stato proposto anche il prelievo dalla lingua.

Il prepuzio rappresenta il tessuto omologo più utilizzato dopo la MB. La cute della coscia è impiegata nelle uretroplastiche stadiate con "mesh graft" sec. Schreiter e nella tecniche ricostruttive del glande. L'impiego della cute extragenitale (inguine, gluteo, braccio, avambraccio, collo, area retroauricolare) è stato abbandonato. La mucosa vescicale sembrerebbe adatta all'impiego nella chirurgia uretrale, ma il prelievo è invasivo; lo stesso dicasi per la mucosa intestinale.

L'uso dei lembi cutanei penieni pedunculati si è ridotto nel tempo a causa del maggior rischio di complicanze estetiche e funzionali, e della necessità di un lungo training⁵.

Per quanto riguarda gli innesti eterologhi molti tessuti sono stati proposti e abbandonati. Il futuro sembra essere il campo delle colture cellulari e delle cellule staminali che potrebbe esaudire la vera richiesta del chirurgo ricostruttivo: avere a disposizione come tessuto di sostituzione l'intera parete uretrale, mucosa più spongiosa, in tutta la sua complessità strutturale e funzionale.

STENOSI DELL'URETRA POSTERIORE

Le stenosi dell'uretra posteriore dopo chirurgia prostatica sono gestite tramite ripetute procedure endoscopiche^{6, 7}.

Raramente le stenosi dopo trauma pelvico sono non-oblitterative e con preservazione della continuità uretrale: in questi casi potrà essere giustificato effettuare alcuni tentativi uretrotomici endoscopici. In realtà, la maggioranza delle stenosi post-traumatiche sono oblitterative e con completo disassiamiento uretrale: questi casi necessitano di una chirurgia complessa. La sede della lesione è la giunzione bulbo-membranosa ed il trattamento gold standard è rappresentato dall'uretroplastica anastomotica bulbo-prostatica (algoritmo 3)^{50, 51}. L'intervento viene effettuato con un approccio perineale progressivo caratterizzato da una serie di passaggi chirurgici che cominciano con la mobilizzazione dell'uretra bulbare e continuano con la separazione mediana dei corpi cavernosi e, quando necessario, la pubectomia inferiore e la rerutinazione dell'uretra dietro le crura. L'impiego del cistoscopio per via sovrapubica può aiutare il ritrovamento del lume uretrale prossimale, evitando manovre alla cieca che rischiano di danneggiare l'unico sfintere (collo vescicale) residuo dopo il trauma. Tutti questi momenti chirurgici hanno lo scopo di ridurre la distanza tra i due monconi uretrali e consentire il confezionamento di un'anastomosi senza tensione.

Solo in casi eccezionali si rende necessario un più aggressivo approccio addomino-perineale o transpubico⁵.

ALGORITMO 3 PER IL TRATTAMENTO DELLE STENOSI URETRALI POSTERIORI

- Stenosi dopo chirurgia prostatica → Uretrotomia endoscopica
- Stenosi post-traumatica non-obliterativa → Uretrotomia endoscopica
- Stenosi post-traumatica obliterativa → Uretroplastica anastomotica bulbo-prostatica

DILATAZIONE URETRALE

Nonostante i progressi delle tecniche chirurgiche, le dilatazioni cicliche vengono ancora diffusamente impiegate nella gestione delle stenosi uretrali. La causa di un'abitudine così consolidata è da ricercare sia nella difficoltà dell'urologo di seguire un valido training chirurgico che nell'avversione dei pazienti a sottoporsi ad una chirurgia genitale non priva di complicanze.

E' comunque dovere dello specialista fornire le corrette informazioni riguardo le possibilità attuali di trattamento delle stenosi. In questa ottica il paziente che sceglie di effettuare le dilatazioni dovrà essere informato che tali manovre non consentono la guarigione della stenosi ma anzi, attraverso ripetute lacerazioni tissutali, possono determinare una progressiva espansione della spongiofibrosi.

STENT URETRALE

Nel 1980 Milroy ha introdotto l'uso degli Stent a permanenza nel trattamento delle stenosi uretrali. Dopo un iniziale entusiasmo e l'espansione di indicazione ai vari segmenti uretrali, i risultati hanno evidenziato una bassa percentuale di successo a lungo termine ed un elevato rischio di complicanze. Attualmente non sembra esistere alcuna valida indicazione all'impiego degli stent metallici⁵².

VALUTAZIONE POST-OPERATORIA E CRITERI DI SUCCESSO

Dopo una ricostruzione uretrale, al momento della rimozione del catetere il paziente è sottoposto a cistouretrografia minzionale per evidenziare eventuali fistole che nella maggior parte dei casi si risolvono spontaneamente prolungando il tempo di cateterizzazione. Durante il follow up il paziente è monitorizzato con ripetute uroflussimetrie e urinocolture. Alcuni Autori effettuano un controllo uretrografico e/o uretroscopico a distanza di alcuni mesi, mentre altri suggeriscono tale approfondimento clinico solo in presenza di una sintomatologia ostruttiva ed un flusso massimo inferiore a 14 ml/s^{12, 30}.

I criteri di definizione di successo del trattamento delle stenosi uretrali sono un flusso urinario non ostruito e l'assenza della necessità di dover ricorrere a manovre uretrali aggiuntive, incluse l'uretrotomia interna e le dilatazioni^{12, 30}.

Bibliografia

- 1 Jordan GH. Gestione della malattia stenotica dell'uretra anteriore. Vol 2, Cap. 50 in *Chirurgia Urologica Ricostruttiva* - Webster G., Kirby R., King L., Goldwasser B. Capozzi Editore Roma, 1994.
- 2 Singh M, Blandy J. The pathology of urethral stricture. *J Urol*, 1976; 115: 693.
- 3 Palminteri E. Videatlante di chirurgia uretrale. Volume *Chirurgia dell'Uretra Bulbare*. Edizioni Atlante Audiovisivi, 2008.
- 4 Mundy AR 2005. Male urethra, Chapter 94, in *Standing S, (ed) Gray's Anatomy*. Elsevier 2005: 1295-1298.
- 5 Andrich DE, Mundy AR. What is the best technique for urethroplasty? *Eur Urol* 2008; 54: 1031-41
- 6 Pansadoro V, Emiliozzi P. Iatrogenic prostatic urethral strictures: classification and endoscopic treatment. *Urology* 1999; 53:784-789
- 7 Besarani D, Amoroso P, Kirby R. Bladder neck contracture after radical retropubic prostatectomy. *BJUI* 2004; 94: 1245-1247.
- 8 Santucci RA, Joyce GF, Wise M. Male urethral stricture disease. *J Urol* 2007, 177: 1667-1674
- 9 Rosen MA, McAninch JW. Stadiazione preoperatoria delle stenosi dell'uretra anteriore. Vol. 2, Cap. 46, pag 555-569 in *Urologia traumatica e ricostruttiva*. McAninch JW. EdiSES 1997
- 10 Devine CJ Jr, Devine PC, Felderman TP et al. Classification and standardization of urethral strictures. *American Urological Association Seventy-eighth Annual Meeting, April 17-21, 1983. Las Vegas, Nevada. Abstr 325.*
- 11 Palminteri E, Berdondini E, Pone D, Poluzzi M, Molon A, Melloni C. La diagnostica nelle stenosi uretrali. *Giornale Italiano di Medicina Sessuale e Riproduttiva Vol 14 N 4 Dicembre 2007 pp.195-204*
- 12 Barbagli G, Palminteri E, Bartoletti R, Selli C, Rizzo M. Long-term results of anterior and posterior urethroplasty with actuarial evaluation of the success rates. *J Urol*, 1997; 158: 1380-1382.
- 13 Nash PA, McAninch JW, Bruce JE, Hanks DK. Sono-urethrography in the evaluation of anterior urethral strictures. *J Urol*. 1995; 154: 72-6.
- 14 Gupta N, Dubey D, Mandhani A, Srivastava A, Kapoor R, Kumar A. Urethral stricture assessment: a prospective study evaluating urethral ultrasonography and conventional radiological studies. *BJU Int*. 2006; 98: 149-53.
- 15 Peskar BD, Perovic VA. Comparison of radiographic and sonographic urethrography for assessing urethral strictures. *Eur Radiol*. 2004; 14: 137-44.
- 16 Bullock TL, Brandes SB. Adult anterior urethral strictures: a national practice patterns survey of board certified urologists in the United States. *J Urol*. 2007 Feb;177(2):685-90.
- 17 Palminteri E, Fusco F, Melloni C, Poluzzi M, Vecchio D, Berdondini E. La chirurgia ricostruttiva nelle stenosi uretrali anteriori: tecniche e complicanze sessuali. *Giornale Italiano di Medicina Sessuale e Riproduttiva Vol 15 N 2 Giugno 2008 pp. 80-88*
- 18 Pansadoro V, Emiliozzi P. Internal urethrotomy in the management of anterior urethral strictures: long-term followup. *J Urol* 1996; 156: 73-75.
- 19 Barbagli G, Palminteri E, Bracka A et al. Penile urethral reconstruction: concepts and concerns. *Arch. Esp. Urol*. 2003; 56 (5): 549-556.
- 20 De Pasquale J, Park AJ, Bracka A. The treatment of balanitis erotica obliterans. *BJU Int*. 2000; 86: 459-465.
- 21 Al-Ali M, Al-Hajaj R. Johanson's staged urethroplasty revisited in the salvage treatment of 68 complex urethral stricture patients: presentation of total urethroplasty. *Eur Urol* 2001; 39: 268-271.
- 22 Andrich DE, Mundy AR. Substitution urethroplasty with buccal mucosal-free grafts. *J Urol*. 2001; 165: 1131-1134.
- 23 Barbagli G, De Angelis M, Palminteri E et al. Failed hypospadias repair presenting in adults. *Eur Urol* 2006; 49: 887-895.
- 24 Orandi A. One-stage urethroplasty. *Br J Urol* 1968; 40: 717-9
- 25 McAninch JW Reconstruction of extensive urethral strictures: circular fasciocutaneous penile flap. *J Urol*, 1993; 149: 488-491.
- 26 Asopa HS, Garg M, Singhal GG, Singh L, Asopa J and Nischal A. Dorsal free graft urethroplasty for urethral stricture by ventral sagittal urethrotomy approach. *Urology* 2001; 58:657-659
- 27 Barbagli G, Selli C, Tosto A, Palminteri E. Dorsal free graft urethroplasty. *J Urol* 1996: 155:123-6
- 28 Barbagli G, Palminteri E, De Stefani S, et al. Penile urethroplasty: techniques and outcomes using buccal mucosa grafts *Contemporary Urology* 2006; 16: 25-33.

- 29 Dubey D, Vijan V, KApoor R, Srivastava A, Mandhani A, Kumar A, Ansari MS. Dorsal Onlay Buccal Mucosa Versus Penile Skin Flap urethroplasty for Anterior Urethral Strictures: Results from a Randomised Prospective Trial. *J Urol*. 2007 (178): 2466-2469.
- 30 Patterson JM, Chapple CR. Surgical techniques in substitution urethroplasty using buccal mucosa for the treatment of anterior urethral strictures. *Eur Urol* 2008; 53: 1162-71.
- 31 Guralnick ML, Webster GD. The Augmented Anastomotic Urethroplasty: Indications and Outcome in 29 Patients. *J Urol* 2001; 165: 1496-501
- 32 Johanson B. Reconstruction of the male urethra in strictures. Application of the buried intact epithelium tube. *Acta Chir Scand, Suppl.* 1953; 176: 1-103.
- 33 Bracka A. Hypospadias repair: the two-stage alternative. *Br J Urol* 1995; 76 (suppl 3): 31- 41
- 34 Snodgrass W, Elmore J. Initial experience with staged buccal graft (Bracka) hypospadias reoperations. *J Urol* 2004; 172:1720-24
- 35 Rourke KF, Jordan GH. Primary urethral reconstruction: the cost minimized approach to the bulbous urethral stricture. *J Urol* 2005; 173: 1206-10
- 36 Greenwell TJ, Castle C, Andrich DE, MacDonald JT, Nicol DL, Mundy AR. Repeat urethrotomy and dilatation for the treatment of urethral stricture are neither clinically effective nor cost-effective. *J Urol* 2004; 172:275-7
- 37 Chapple CR, Bhargava S. The management of the failure of a permanently implanted urethral stent – a therapeutic challenge. *Eur Urol* 2008; 54: 665-670.
- 38 Andrich DE, Dunglison N, Greenwell TJ, Mundy AR. The long-term results of urethroplasty. *J Urol*. 2003;170:90-2
- 39 Eltahawy EA, Virasoro R, Schlossberg SM, McCammon KA, Jordan GH. Long-Term Followup for Excision and Primary Anastomosis for Anterior Urethral Strictures. *J Urol* 2007; 177: 1803-1806
- 40 Abouassaly R, Angelmeier KW. Augmented Anastomotic Urethroplasty. *J Urol* 2007; 177: 2211-2216
- 41 Bhargava S, Chapple CR. Buccal mucosal urethroplasty: is it the new gold standard? *BJU Int* 2004; 93: 1191-3
- 42 Elliott SP, Metro MJ and McAninch JW. Long-term followup of the ventrally placed buccal mucosa onlay graft in bulbar urethral reconstruction. *J Urol* 2003; 169: 1754.
- 43 Palminteri E, Manzoni G, Berdondini E, Di Fiore F, Testa G, Poluzzi M, Molon A Combined dorsal plus ventral double buccal mucosa graft in bulbar urethral reconstruction. *Eur Urol* 2008; 53: 81.
- 44 Barbagli G, Palminteri E, Guazzoni G, Montorsi F et al. Bulbar urethroplasty using buccal mucosa grafts placed on the ventral, dorsal or lateral surface of the urethra: are results affected by the surgical technique ? *J Urol* 2005; 174: 955.
- 45 Kellner DS, Fracchia JA, Armenakas NA. Ventral onlay buccal mucosal grafts for anterior urethral strictures: long-term follow up. *J Urol* 2004; 171: 726-9
- 46 Palminteri E, Lazzeri M, Guazzoni G et al. New 2-stage buccal mucosal graft urethroplasty. *J Urol* 2002; 167: 130-132.
- 47 Schreiter F, Noll F. Mesh graft urethroplasty using split thickness skin graft or foreskin. *J Urol* 1989; 142: 1223.
- 48 Peterson AC, Palminteri E, Lazzeri M, Guazzoni G, Barbagli G, Webster GD. Heroic measures may not always be justified in extensive urethral stricture due to lichen sclerosus (balanitis xerotica obliterans). *Urology* 2004 Sep; 64:565-568
- 49 Markiewicz M, Lukose MA, Margarone JE et al. The oral mucosal graft: a systematic review. *J Urol* 2007; 178: 387-394
- 50 Webster GD, Ramon J. Repair of pelvic fracture posterior urethral defects using an elaborated perineal approach: experience with 74 cases. *J Urol* 1991; 145: 744-748
- 51 Mundy AR. Anastomotic urethroplasty. *BJUI* 2005; 96: 921-44.
- 52 Palminteri E Stents and urethral strictures: a lesson learned ? *Eur Urol* 2008; 54: 498-500.

Capitolo 8

CARCINOMA DEL PENE

G. Pizzocaro

1. FONTI UTILIZZATE	pag	347
2. EPIDEMIOLOGIA ED EZIOLOGIA	pag	349
3. CLASSIFICAZIONE E PATOLOGIA	pag	351
4. DIAGNOSI E STADIAZIONE	pag	353
5. TRATTAMENTO	pag	357
6. FOLLOW-UP	pag	363
7. QUALITÀ DI VITA	pag	365
CONCLUSIONI	pag	367
TABELLE	pag	369
BIBLIOGRAFIA	pag	375

1. Fonti utilizzate

La struttura portante di queste linee guida si ispira principalmente alle linee guida dell'EAU, marzo 2009¹. Lo scopo è quello di dare un'informazione aggiornata e dettagliata, basata su conoscenze consolidate e sulle più significative novità della più recente letteratura internazionale. Molte cose sono cambiate in questi ultimi anni, tanto che attualmente circa l'80% di tutti i carcinomi del pene sono curabili con riduzione della morbidità e un netto miglioramento della qualità di vita.¹

Per aggiornare queste linee guida, è stata eseguita una meticolosa ricerca su Pub-Med fino al secondo trimestre del 2009, per un totale di 982 pubblicazioni.

Abbiamo trovato solo un "PDQ" relativo al trattamento del carcinoma del pene pubblicato dal National Cancer Institute, Bethesda, USA², molto povero di contenuti.

I livelli di evidenza (LE) ed i gradi di raccomandazione (GR) vengono riportati in Tabella 1 secondo l'Oxford Centre for Evidence-based Medicine Levels of Evidence³. Sebbene per il carcinoma spinocellulare (CSC) del pene non siano disponibili studi randomizzati né meta-analisi, abbiamo trovato molti studi di buona e ottima qualità. In Tabella 2 sono riportate le categorie di consenso NCCN e in Tabella 3 le abbreviazioni più comuni.

2. Epidemiologia ed Eziologia

Il carcinoma spino-cellulare del pene è raro ed origina di regola dall'epitelio del glande e della superficie interna del prepuzio. Questo tumore condivide la stessa eziologia e la stessa storia naturale del carcinoma spinocellulare dell'orofaringe, dei genitali femminili (cervice, vagina e vulva) e del canale anale. La fimosi, la cattiva igiene, il fumo di sigaretta e, più recentemente, l'infezione da HPV sono i maggiori fattori di rischio noti⁴.

Di regola, il carcinoma del pene è molto raro, ma nei Paesi con minor igiene e maggiore promiscuità l'incidenza può raggiungere fin 10 casi per 100.000 come in Uganda e in alcune zone dell'Africa e del Sud America⁴. In Europa, l'incidenza varia da 0.5 a 1.8 casi per 100.000 uomini all'anno, con evidenti differenze fra vari Paesi e regioni (fig.1).

Altri fattori prognostici importanti sono le abitudini culturali, igieniche e religiose⁴. Il cancro del pene è praticamente assente nelle comunità che praticano la circoncisione alla nascita (ebrei) e molto raro in chi pratica la circoncisione alla pubertà (musulmani e Ibos della Nigeria).

Di regola, l'incidenza del carcinoma del pene aumenta con l'età. Sporadicamente è riportato in giovane età.

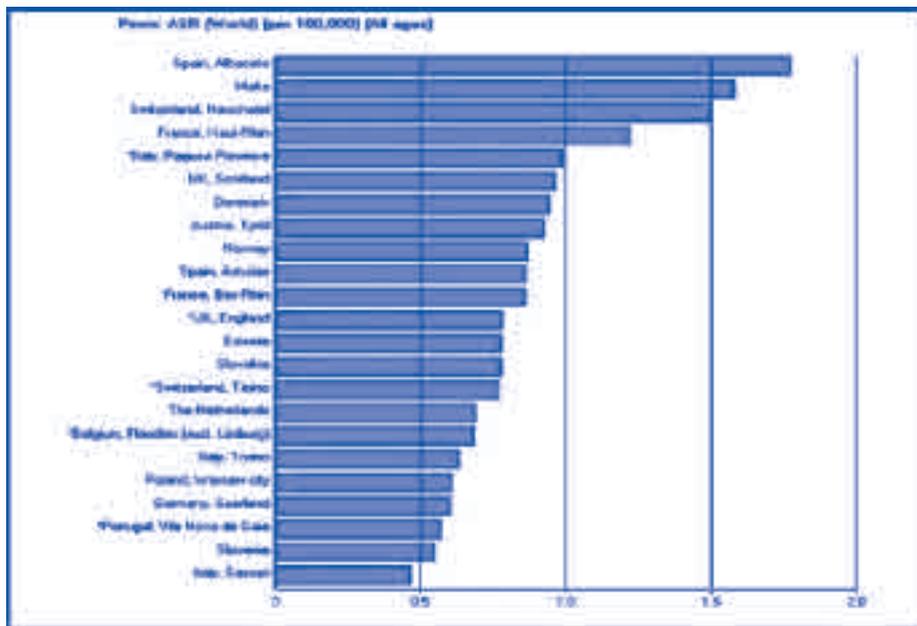


Figura 1

I fattori di rischio identificati mediante studio caso-controllo⁵ includono:

- la fimosi,
- l'infiammazione cronica: balanopostite, liken sclerosus e atroficus,
- trattamento con sporalene e raggi ultravioletti,
- costumi sessuali (coito precoce e promiscuità),
- condilomi, che aumentano il rischio da 3 a 5 volte,
- il fumo di sigaretta.

Il DNA del papilloma virus umano (HPV) è stato identificato nel 70-100% dei casi con neoplasia intraepiteliale e nel 40-50% dei casi di carcinoma infiltrante⁵.

Questi risultati sono stati confermati in uno studio caso-controllo con l'identificazione del DNA dell'HPV nell'80% dei campioni tumorali, nel 69% dei quali prevaleva l'HPV16⁵.

Anche i pazienti portatori di condiloma acuminato hanno un rischio di cancerizzazione⁷.

L'HPV18 ha un ruolo causale nel 70% dei carcinomi della cervice, della vagina e dell'ano, e nel 30-40% dei carcinomi della vulva, del pene e dell'orofaringe.

Dal giugno 2006 negli Stati Uniti la Food & Drugs Administration (FDA) ha messo in commercio il primo vaccino per la prevenzione del carcinoma cervicale e di altri HPV associati nella donna⁸. Questo vaccino protegge dalle infezioni di HPV 6, 11, 16 e 18 e la sua somministrazione è raccomandata già per le ragazzine di 11-12 anni. Anche se non è ancora programmata, la vaccinazione viene raccomandata anche per i giovani maschi.

E' molto importante notare che le infezioni da HPV nei pazienti portatori di carcinoma del pene sembrano essere associate ad una prognosi migliore: la sopravvivenza a 5 anni nei pazienti ad alto rischio è stata del 78% nei casi HPV negativi e del 93% nei casi HPV positivi⁹ (LE 2b). Il vantaggio sulla sopravvivenza è significativo ($p=0.03$). Inoltre, il virus ha un importante ruolo ontogenetico mediante interazione con oncogeni e i geni soppressori P53 e Rb¹⁰.

3. Classificazione e Patologia

3.1 CLASSIFICAZIONE INTERNAZIONALE TNM DELLA UICC (Tabelle 4-5).

L'ultima classificazione internazionale TNM per il carcinoma del pene risale al 2002¹¹ (Tabella 4), ma in realtà tale classificazione è rimasta invariata dal tempo della prima classificazione del 1987. Oggi si sente la necessità di un aggiornamento, particolarmente per la definizione delle categorie T2 e T3. Una pubblicazione recente ha dimostrato chiaramente che la prognosi dei pazienti con invasione del solo corpo spungioso è assai migliore di quella dei pazienti con invasione del corpo cavernoso¹². La proposta avanzata dal gruppo di Horenblas¹² per la categoria T è illustrata in Tabella 5: T2, invasione del solo corpo spungioso; T3, invasione del corpo cavernoso (LE: 2a). E' stata contestata anche la classificazione della categoria N1, a causa di un malinteso: gli olandesi hanno interpretato N1 "metastasi in un singolo linfonodo inguinale" come "metastasi inguinale unica di qualsiasi tipo, anche fissa"¹². Pertanto bisogna specificare "N1: metastasi in un singolo linfonodo inguinale, mobile". Questo consente di migliorare la vecchia classificazione TNM con prognosi ottima per la categoria N1, pessima per N3 ("metastasi inguinali fisse e/o ulcerate; metastasi ai linfonodi pelvici") ed intermedia per la categoria N2 (Tabella 5).

3.2 ANATOMIA PATOLOGICA

Il carcinoma spinocellulare (CSC) del pene rappresenta oltre il 95% di tutti i tumori di quest'organo; gli altri tumori più frequenti sono il melanoma maligno e il carcinoma basocellulare, che rappresentano un altro 3%. Si presume che il CSC sia preceduto da lesioni preneoplastiche. Il corno cutaneo e la papulosi bowenoide sono lesioni solo sporadicamente associate al CSC; la balanite xerotica obliterante (lichen sclerosus et atrophicus) è una lesione a rischio intermedio di degenerare in CSC. La lesione più a rischio di sviluppare un cancro del pene (circa 30% dei casi) è il carcinoma in situ, sia sotto forma di eritroplasia di Queyrat che di malattia di Bowen¹³.

3.3. BIOPSIA DEL PENE

Una biopsia excisionale viene richiesta quando ci siano dubbi in relazione all'esatta natura della malattia. Inoltre, sottotipi istologici comportano rischi differenti in relazione alla comparsa di metastasi linfonodali¹³:

- Carcinoma condilomatoso: 18,2%
- CSC: 56,7%
- Carcinoma sarcomatoide: 89%

Anche le maggiori caratteristiche di invasività si correlano ad una più elevata frequenza di metastasi linfonodali: 23.1% di metastasi linfonodali associate a un pattern di crescita nodulare e 64,6% per tumori infiltranti¹³.

4. Diagnosi e Stadiazione

Una stadiazione corretta del tumore primitivo e delle metastasi ai linfonodi regionali consente di attuare un trattamento appropriato (Tabella 6).

4.1 TUMORE PRIMITIVO (Tabelle 7 e 8)

L'esame fisico comprende:

- dimensione della lesione del pene e delle superfici circostanti;
- localizzazione della lesione;
- numero di eventuali lesioni multiple;
- morfologia della lesione: papillare, nodulare, ulcerata, piatta;
- rapporti della lesione con altre strutture: sottomucosa, albuginea, uretra, corpo spongioso e corpo cavernoso;
- colore e confini della lesione;
- lunghezza del pene

In particolare, una erezione artificiale ottenuta con l'iniezione di prostaglandina E1 (Alprostadil) in combinazione con la risonanza magnetica (MRI) è di grande aiuto per identificare la profondità dell'infiltrazione del corpo spongioso e del corpo cavernoso in modo da consentire l'impiego della chirurgia conservativa quando è indicata¹⁴.

4.2 LINFONODI REGIONALI

Il carcinoma del pene ha il suo drenaggio primario nei linfonodi inguinali, che sono stati suddivisi in 5 regioni da Daseler nel lontano 1948¹⁵ per il carcinoma della vulva. Tale suddivisione è stata applicata anche al carcinoma del pene¹⁶ (LE: 2a). I linfonodi centrali intorno allo sbocco della vena safena nella femorale drenano dal pene. Una suddivisione a quadranti centrata su questa zona circolare suddivide i linfonodi inguinali in: supero-mediali, che drenano la maggior

parte della linfa del pene, i linfonodi supero-laterali che drenano circa il 15% e le 2 zone inferiori che non drenano direttamente dal pene. Questa dimenticata descrizione anatomica di Daseler e ripresa da Cabanas¹⁶ spiega il fallimento della chirurgia del linfonodo sentinella introdotta da Catalona nel 1988¹⁷ che limitava la dissezione ai soli linfonodi superomediali. Questo quadro anatomico è stato confermato recentemente dal gruppo olandese con la SPECT-CT abbinata alla tecnica del linfonodo sentinella: nessun drenaggio linfatico diretto è stato visualizzato con questa tecnica né ai linfonodi pelvici, né ai linfonodi delle due regioni inguinali inferiori¹⁸(LE: 2a).

4.2.1 Linfonodi non palpabili, fattori di rischio e linfonodo sentinella

La presenza di malattia linfonodale è il fattore prognostico più importante nel carcinoma del pene. All'incirca il 25% dei pazienti con linfonodi non palpabili presentano micrometastasi al momento della diagnosi, per cui in questi casi, è indicata una ecografia inguinale con una sonda di 7,5 mHz che può mettere in evidenza linfonodi sospetti e sottoporli a una biopsia ecoguidata¹⁹.

La biopsia dinamica del linfonodo sentinella è una tecnica mini-invasiva per la stadiazione locale dei linfonodi non palpabili; inizialmente era ritenuta inattendibile a causa dei numerosi falsi negativi che variavano dal 12 al 24%²⁰⁻²¹⁻²², il più delle volte dovuti ad errori tecnici della procedura od a ostruzione neoplastica del linfatico che drenava il linfonodo sentinella (salto del linfonodo). Attualmente tale bias è stato corretto al 4,8%²³ per un miglioramento tecnico dovuto all'integrazione sinergica della biopsia ecoguidata con ago sottile (I step) e la biopsia dinamica (II step)²³(LE: 2a). E' vicariante un'elevata referenzialità dei centri erogatori definita in termini di alta specializzazione ed integrazione multidisciplinare. Questo standard raccomandato può essere garantito da almeno un training minimo di 20 procedure/anno/centro.²²(GR: B)

In particolare la biopsia dinamica ha documentato:

1. il miglioramento della sopravvivenza con la biopsia del linfonodo sentinella a confronto con il "wait & see"²⁴(LE: 2a ; GR: B)
2. minore morbilità post-operatoria in relazione alla linfoadenectomia inguinale con diagnosi di malattia linfonodale²⁵(LE: 2 a; GR: B).

Gli aggiornamenti della tecnica della biopsia del linfonodo sentinella²³⁻²⁴ hanno dimostrato una specificità del 100% e una sensibilità del 95%; queste esperienze ripresentate ancora più recentemente ed associate alla biopsia ecoguidata hanno dimostrato una sensibilità del 91% ed un valore prognostico negativo del 97.5%²⁶⁻²⁷.

La presenza di linfonodi metastatici in pazienti con linfonodi non palpabili può essere predetta anche da altri fattori di rischio quali ad esempio la stratificazione dei pazienti in gruppi di rischio: alto, basso ed intermedio che rappresenta una pratica fortemente raccomandata²⁸(GR: B). Analogamente, la valutazione del punteggio di Cubilla o il grado di Broder's integrano vari parametri patologici e costituiscono un valido ausilio prognostico: i parametri considerati fondamentali sono le categorie T, G e l'invasione vascolare¹³(GR: B) associati ad altri fattori di rischio quali: il sottotipo istologico, la profondità e il fronte di invasione, l'invasione perineurale, lo spessore del tumore, la sede anatomica, le dimensioni e il pattern di crescita, i margini positivi e l'interessamento dell'uretra distale¹³; questi fattori di rischio possono costituire la base per nomogrammi atti a valutare e determinare in modo sincrono la capacità predittiva di questi indicatori clinici e patologici²⁹(LE: 2b; GR: C), migliorando così la predittività dei fattori di rischio.

Tuttavia, tutti questi metodi non raggiungono la specificità e la sensibilità della biopsia dinamica del linfonodo sentinella con ^{99m}Tc - colloid sulphur^{30,24} (LE: 2a; GR: B) che non pare neanche migliorata (dati ancora preliminari e parziali) dalla Risonanza Magnetica con nanoparticelle linfotrope³¹ o dalla PET/TC, dove addirittura è dimostrata una significativa minore sensibilità³² (GR: B). Inoltre, dal momento che non si riscontrano metastasi iliaco-pelviche in assenza di metastasi inguinali, non è obbligatorio né consigliabile ricorrere a sistemi costosi di imaging in mancanza di una documentata presenza di metastasi inguinali¹⁸ (LE: 2a; GR:B).

In conclusione la biopsia dinamica del linfonodo sentinella ed un rigoroso e serrato follow-up può essere raccomandata come una ragionevole procedura di staging nei pazienti con carcinoma del pene. L'associazione con la biopsia ecoguidata riduce drasticamente i falsi negativi e migliora la sensibilità della procedura sino a risultati ottimali consentendo di evitare linfadenectomie inguinali inutili e gravate da notevole morbilità²⁶ (GR: B).

4.2.2. Linfonodi inguinali palpabili

La diagnosi di metastasi in linfonodi inguinali palpabili può essere ottenuta semplicemente con un ago-biopsia percutanea seguita da esame citologico e/o istologico.

Al momento della diagnosi del cancro del pene, circa il 50% dei linfonodi inguinali palpabili sono dovuti ad una reazione infiammatoria e pertanto le biopsie negative devono essere ripetute dopo qualche settimana. Invece, durante il follow-up, circa il 100% dei linfonodi ingrossati risultano essere positivi all'agobiopsia³³ (LE: 2a). Inoltre, in ogni caso di biopsie negative con linfonodi inguinali sospetti, è d'obbligo ripetere l' agobiopsia (o ricorrere alla biopsia escisionale).

Si fa molto uso della CT e/o della RMI per la stadiazione dei linfonodi inguinali con scarsi risultati se non per metastasi di un certo volume. Le nanoparticelle linfotropiche potenziano l'MRI (LN-MRI) e la tomografia ad emissione di positroni (PET-CT) migliora i risultati della TAC. Si tratta di tecniche promettenti ma molto costose^{31,32} (LE: 2b).

4.3 METASTASI A DISTANZA

La ricerca di metastasi a distanza dovrebbe essere eseguita dopo documentazione della presenza di metastasi inguinali, perché le seconde non possono esistere senza le prime³⁴. Una TAC addomino pelvica è pertanto indicata nei soli casi con documentate metastasi ai linfonodi inguinali. La presenza di metastasi pelviche ha un notevole impatto negativo sulla prognosi e comporta un impegno terapeutico molto maggiore³⁵ (LE: 2a). Metastasi retro peritoneali, mediastiniche e sopraclaveari, così come metastasi ematogene (polmone, encefalo) sono sporadiche e di regola iatrogene in tempi brevi.

L'impiego della PET-TC è molto promettente nei casi avanzati, mentre il valore diagnostico dell'antigene CSC non è ancora ben definito e non può essere pertanto raccomandato per un impiego routinario.

5. Trattamento

5.1 TUMORE PRIMITIVO

5.1.1 Categorie Tis e Ta

Tis e Ta sono lesioni superficiali che vengono trattate con terapia conservativa.

- La chirurgia laser (CO₂ o Nd: Yag) è il trattamento di elezione^{36, 37} sia per la radicalità dell'exeresi che per la conservazione dell'organo (LE: 2a.; GR: B).
- La chirurgia micrografica secondo Mohs è indicata per neoplasie di categoria Ta ma il risultato estetico non è equivalente ed è maggiore il rischio di ricadute³⁸(GR: C).
- La terapia fotodinamica e la terapia topica con 5-fluorouracile o la crema di imiquimod 5% sono state soggette a frequenti ricadute in tante piccole casistiche.

La terapia conservativa di lesioni multifocali è gravata da circa il 15% da ricadute. Il trattamento di tutta la superficie del glande con laser CO₂ associato alla circoncisione è fortemente raccomandato per evitare recidive multiple³⁶(GR: B).

5.1.2 Categorie T1 G1

Per lesioni limitate al prepuzio e al solco balano prepuziale è sufficiente un'ampia escissione locale associata alla circoncisione. Ovviamente, è importante un'accurata analisi istologica dei margini chirurgici: attualmente per carcinomi di categoria T1-G1 si considera sufficiente un margine di tessuto sano di 3 mm³⁹(LE: 2a; GR: B). Per i carcinomi di categoria T1 del glande, la totale escissione con laser CO₂ sotto controllo peniscopico è stata in grado di guarire l'86% di 78 pazienti con una profondità di infiltrazione neoplastica inferiore a 1 mm e con margini in tessuto sano di almeno 2-3 mm.³⁶(LE: 2a ,GR: B). Nei 40 pazienti con infiltrazione in profondità superiore a 1 mm è stata impiegata preoperatoriamente la chemioterapia neoadiuvante VBM (vedi paragrafo 6.2.3) per 8-12 settimane, ottenendo margini negativi e un perfetto ripristino cosmetico nell' 82% dei casi³⁶(GR:B). In particolare, il rischio di ricaduta dopo chirurgia laser CO₂ è correlabile con lo stato dei margini, la profondità dell'infiltrazione e l'estensione del tumore⁴⁰. In alternativa alla laser terapia, alcuni autori preferiscono la decorticazione dell'epitelio del glande seguita da resurfacing con innesto dermo-epidermico prelevato con dermatomo dalla coscia⁴¹(GR: B).

5.1.3 Categoria T1G2-3

In questi casi è raccomandata una strategia conservativa del pene, mediante chirurgia laser radicale³⁷ seguita da chirurgia ricostruttiva, in alternativa alla glansectomia⁴²⁻⁴³ (LE: 2a, GR: B). La scelta del trattamento è influenzata dalle dimensioni del tumore e dalla sua posizione sul glande⁴⁴.

Non c'è una sostanziale differenza nella frequenza delle recidive locali (circa il 15%) fra chirurgia laser o una ampia resezione locale. Tuttavia la glandulectomia ha la minore incidenza di recidive locali: 2%^{42,43} (GR: B).

E' inoltre importante lo studio dei margini di resezione chirurgica⁴⁵ (GR: B).

5.1.4 Categoria T2 del glande

Viene caldamente raccomandata una strategia conservativa con glansectomia totale e ricostruzione di neo-glande con innesto cutaneo^{42,43} (GR: B). Si riserva l'amputazione parziale nei pazienti non idonei ad una chirurgia conservativa e ricostruttiva⁴⁴ (GR: B).

5.1.5 Recidiva locale dopo chirurgia conservativa

Si consiglia una nuova procedura conservativa in assenza di interessamento dei corpi cavernosi⁴¹⁻⁴⁴; GR: B. Se invece c'è una profonda o ampia recidiva infiltrante, si raccomanda una amputazione parziale o totale, secondo necessità⁴⁵ (GR: B).

5.1.6 Categoria T2 (dell'asta) e T3

Per tumori che coinvolgono la parte distale dei corpi cavernosi è indicata l'amputazione parziale del pene come terapia standard⁴⁴ (LE 2a). Questi pazienti possono essere candidati alla successiva fase ricostruttiva, che nulla toglie alla radicalità oncologica⁴³; LE 2a. Per estesi tumori che coinvolgono più della parte distale dei corpi cavernosi, è indicata l'amputazione, parziale o totale⁴⁵. Un margine di tessuto sano di 5-10 mm. è ora considerato sufficiente per una amputazione radicale del pene⁴⁴ (LE 2a; GR B), le recidive locali dopo amputazione del pene hanno una prognosi severa⁴⁵.

5.1.7 Categoria T4

La chirurgia standard è l'amputazione totale del pene con uretrostomia perineale (livello di evidenza 2a e raccomandazione B). Lo spatolamento dell'uretra previene la stenosi dell'uretra. In casi di malattia estesa si può tentare un downstaging con la chemioterapia prima di procedere all'amputazione. Un'altra alternativa può essere la chirurgia in associazione con la radioterapia adiuvante post-operatoria⁴⁶.

5.1.8 Radioterapia

La radioterapia sul tumore primitivo è una alternativa di trattamento conservativo che può dare eccellenti risultati in pazienti selezionati di categoria T1-2 con una neoplasia < 4 cm di diametro⁴⁶⁻⁴⁷ (LE 2a; GR B). Si può ottenere il controllo locale della neoplasia in circa il 60% di questi pazienti con la radioterapia dall'esterno (ERT) con dosi frazionate per un totale di

60 Gy⁴⁶. La brachiterapia (BRT) ha ottenuto anche risultati migliori con un controllo della malattia compreso fra il 70% e il 90%⁴⁷. I pazienti con neoplasie superiori a 4 cm non sono candidabili alla brachiterapia.

Alla dose minima di 60 Gy può essere aggiunto un boost di BRT⁴⁷.

Con la radioterapia è possibile conservare il pene in circa l'80% dei pazienti trattati.

Tuttavia, la percentuale dei fallimenti dopo radioterapia è superiore alla percentuale di fallimenti dopo chirurgia, e la chirurgia di salvataggio può ripristinare il controllo locale della malattia⁴⁸ (LE 2b; GR B). La stenosi uretrale (20-35%), la necrosi del glande (10-20%) e la fibrosi dopo radioterapia possono compromettere la funzionalità del pene.

5.2. TRATTAMENTO DEI LINFONODI REGIONALI

La linfadenectomia (LAD) è il trattamento di prima scelta per i pazienti con metastasi linfonodali. L'intervento richiede un trattamento corretto dei lembi cutanei, una dissezione accurata e meticolosa dei linfonodi regionali, una profilassi antibiotica, una medicazione compressiva e una deambulazione precoce. Una prolungata secrezione sierosa, l'edema dello scroto o dell'arto inferiore, l'ischemia cutanea, l'infezione della ferita e l'emorragia dai grossi vasi esposti dalla necrosi possono verificarsi nel 30-70% dei pazienti. E' pertanto necessario che solo chirurghi esperti si occupino di questi interventi.

5.2.1 Trattamento dei pazienti senza linfonodi inguinali palpabili

Tutte le metodiche non invasive riescono ad individuare non più dell'80% delle metastasi microscopiche. Anche la sensibilità di un nomogramma pubblicato recentemente non supera l'80%²⁹. Soltanto la biopsia dinamica del linfonodo sentinella (DSNB) ha dimostrato di avere una sensibilità maggiore²³.

Il concetto della biopsia del linfonodo sentinella parte dal presupposto che c'è una progressione graduale e ordinata delle metastasi dal drenaggio primario dei linfonodi a quello secondario¹⁸ (LE 2a; GR B).

Ci può essere più di un linfonodo sentinella. Per identificare il linfonodo sentinella viene iniettato intorno al tumore il nanocolloide 99 MTC il giorno prima dell'intervento. Il linfonodo sentinella viene identificato intraoperatoriamente con la gamma camera a raggi X. Inoltre viene iniettato appena prima dell'intervento il colorante vitale Patent Blue Violet intorno alla lesione tumorale o alla sua cicatrice. Il linfonodo sentinella viene identificato intraoperatoriamente con la sonda della gamma camera e con l'identificazione del colorante vitale iniettato prima dell'intervento. L'associazione con la biopsia ecoguidata riduce drasticamente i falsi negativi e migliora la sensibilità della procedura sino a risultati ottimali consentendo di evitare linfadenectomie inguinali inutili²⁶ (LE: 2a; GR: B). La linfadenectomia inguinale viene eseguita soltanto nei pazienti con linfonodi sentinella positivi. Il protocollo attualmente in atto ha una sensibilità del 95%²³.

5.2.2 Trattamento dei pazienti con linfonodi inguinali palpabili

Un'agobiopsia guidata con una sonda ad ultrasuoni consente di ottenere un metodo rapido, eccellente e facile di identificazione dell'interessamento linfonodale metastatico. In casi sospetti con esito negativo è indicata la ripetizione dell'agobiopsia per aspirazione. La biopsia del linfonodo sentinella non è adatta per la biopsia dei linfonodi palpabili e pertanto non deve essere

usata a questo scopo⁴⁹(GR: B). Nei casi con linfonodi positivi viene eseguita la linfadenectomia inguinale. Nei casi con linfonodi controlaterali non palpabili viene raccomandata la biopsia del linfonodo sentinella dinamico.

La linfadenectomia inguinale radicale ha una morbilità elevata. Nei casi avanzati è frequentemente necessario l'impiego di lembi cutanei o miocutanei di rotazione per riparare le aree cruenta esposte⁵⁰(LE 2a; GR B).

La linfadenectomia inguinale modificata è una procedura meno estesa che si associa a una minore morbilità rispetto ad una linfadenectomia standard. Tuttavia, riducendo il campo della dissezione linfonodale aumenta il rischio di risultati falsi negativi¹⁷. Le conoscenze attuali sul drenaggio linfatico del pene possono suggerire una modificazione della linfadenectomia inguinale radicale asportando i linfonodi della zona centrale e di entrambe le zone superiori di Daseler evitando la dissezione delle due zone inferiori^{15, 18}. Questa è una tecnica che deve essere ancora sperimentata e quindi non raccomandabile.

Poiché non c'è alcun drenaggio linfatico diretto dal pene ai linfonodi pelvici¹⁸ non c'è indicazione alla linfadenectomia pelvica se non c'è alcun interessamento dei linfonodi inguinali. Inoltre, la linfadenectomia pelvica omolaterale è raccomandata se è interessato il linfonodo di Cloquet o altri due linfonodi inguinali dallo stesso lato³³⁻³⁵(LE: 2a; GR: B). La linfadenectomia pelvica può essere eseguita secondariamente se non è evidente intraoperatoriamente la situazione precedentemente illustrata³³⁻³⁵. Se è indicata la linfadenectomia pelvica bilaterale, questa può essere eseguita attraverso un'incisione mediana sovrapubica extraperitoneale. La frequenza di metastasi pelviche positive è stata del 23% nei casi con non più di 2 linfonodi inguinali interessati e nel 56% per un interessamento superiore a 2 linfonodi inguinali o con estensione extracapsulare della malattia in almeno un linfonodo⁵¹.

La tecnica recentemente proposta di linfadenectomia inguinale laparoscopica è stata eseguita solo in alcuni piccoli studi pilota. Sembra che detta tecnica diminuisca il rischio delle complicazioni cutanee ma comporta un rischio più elevato di linfocele rispetto alla chirurgia aperta. Inoltre la chirurgia laparoscopica è gravata da un 23% di complicazioni⁵². E' ancora troppo presto per dare un giudizio valido su questa metodica.

La linfadenectomia pelvica bilaterale in caso di metastasi bilaterali può essere eseguita con un accesso laparoscopico bilaterale in unica seduta da parte di laparoscopisti esperti che possono garantire l'asportazione di un equivalente quantità di tessuto linfatico come in chirurgia aperta.

5.2.3 Chemioterapia adiuvante

La chemioterapia adiuvante dopo asportazione delle metastasi linfonodali è stata praticata da pochi autori⁵³⁻⁵⁹. La prima esperienza è stata pubblicata nel 1988⁵³. Essa riportava la somministrazione ambulatoriale settimanale di 12 cicli di chemioterapia adiuvante VBM (Vincristina, Bleomicina, Methotrexate) nel periodo 1979-1985 su 12 pazienti e successivamente continuata fino al 1990 su un totale di 25 pazienti trattati per metastasi più o meno estese, tutti sottoposti a linfadenectomia inguinopelvica. Di questi 25 pazienti, solo 4 sono ricaduti (16%) dopo un lungo follow-up⁵⁴. Questi risultati si confrontano favorevolmente (84% di sopravvivenza libera da malattia) con la precedente serie di pazienti operati con la stessa tecnica dal 1960 al 1978, senza chemioterapia adiuvante, con una sopravvivenza a 5 anni del 37%⁵³.

Nella seconda serie, iniziata nel 1991, sono stati trattati con chemioterapia adiuvante PF (cisplatino e fluoro-uracile) solo pazienti di categoria pN2 e pN3 (TNM - UICC), che hanno ricevuto rispettivamente 2 o 3 cicli di chemioterapia. Le ricadute di malattia nei primi 30 casi sono state soltanto 2 (6,7%)^{54, 59}.

5.2.4 Trattamento dei pazienti con metastasi linfonodali fisse o ulcerate

Sono stati provati diversi schemi di chemioterapia in piccoli gruppi di pazienti: lo schema a lungo più accreditato è stato quello messo a punto al Memorial Hospital di New York a cavallo fra gli anni '80 e '90⁵⁵ consistente in una associazione di bleomicina, methotrexate e cisplatino (BMP). Dopo il primo report lusinghiero⁵⁵, detta associazione è risultata essere poco efficace e soprattutto gravata da una così elevata tossicità che lo SWOG (South West Oncology Group) ne ha sconsigliato l'uso⁵⁶.

Leijte et al.⁵⁷ hanno recentemente riportato i risultati su 20 casi trattati con 5 differenti schemi di chemioterapia dal 1972 al 2005 ed è risultato che i pazienti responsivi alla chemioterapia e conseguentemente sottoposti alla chirurgia di salvataggio, hanno avuto una lunga sopravvivenza se la chirurgia era stata radicale.

All' Istituto Nazionale Tumori di Milano⁵⁴ sono stati ottenuti i seguenti risultati nei pazienti con metastasi inguinali fisse, ulcerate o recidivate: dei 13 pazienti trattati con VBM, 7 (54%) hanno avuto una risposta parziale; 5 (38%) hanno potuto avere una chirurgia radicale e 3 sono lungo sopravvissuti (23%).

Per quanto riguarda i risultati della chemioterapia PF, sono stati trattati 25 pazienti consecutivi dal 1991 al 1999 compreso: 22 (88%) sono stati sottoposti a chirurgia dopo chemioterapia, 13 (52%) hanno avuto un intervento radicale, e 10 (40%) risultano vivi, liberi da malattia⁵⁹.

Recentemente, visti i buoni risultati nel carcinoma spino-cellulare della testa e collo, sono stati introdotti i taxani nel trattamento del carcinoma del pene^{58, 59}. Al MD Endeson Cancer Center di Huston⁵⁸ una combinazione di taxolo e cisplatino, con o senza ifosfamida e seguita da chirurgia, ha ottenuto la remissione completa della malattia in 4 su 7 pazienti trattati in fase avanzata. Più recentemente, uno studio pilota su 6 pazienti con metastasi loco-regionali fisse o ulcerate aveva previsto un trattamento con 4 cicli di chemioterapia neo-adiuvante con taxolo, cisplatino e 5FU, seguita da chirurgia. Un solo paziente è risultato essere refrattario al trattamento. Dei 5 pazienti responsivi, 4 hanno avuto una risposta clinica completa e 1 una risposta parziale: sono vivi liberi da malattia solo i 3 pazienti che hanno eseguito l'intervento chirurgico dopo la chemioterapia⁵⁹. Ne consegue che la chirurgia dopo chemioterapia è categoricamente indicata in tutti i casi di CSC del pene in fase avanzata responsivi alla chemioterapia.

In conclusione:

- la chemioterapia adiuvante post-operatoria è raccomandata nei casi di categoria pN2-3;
- la chemioterapia neoadiuvante è indicata nei pazienti non operabili o recidivati, ed è categoricamente indicata la chirurgia dopo la chemioterapia, anche nei casi con apparente risposta clinica completa (LE: 2a; GR: B).

5.2.5 Il ruolo della radioterapia

La radioterapia precauzionale in stadio clinico N0 è sconsigliata⁶⁰(LE: 2 a; GR: B) perché:

- non è efficace nel prevenire lo sviluppo delle metastasi linfonodali,
- c'è un rischio iatrogeno con la radioterapia,
- il follow-up diventa più difficile per la fibrosi post-attinica.

La radioterapia adiuvante potrebbe migliorare il controllo della malattia loco-regionale nei pazienti operati con malattia estesa, ma il vantaggio che si ricava va a scapito della fibrosi post attinica, con conseguente edema fibroso e dolori iatrogeni.

6. Follow-up

Lo scopo del follow-up è diagnosticare precocemente eventuali ricadute della malattia in una fase curabile. L'ecografia moderna è molto utile per una diagnosi precoce così come la PET-TC e la MRI. Il tipo di follow-up dipende dai fattori di rischio correlati al trattamento iniziale. In ogni modo, la stragrande maggioranza delle recidive (92%) si manifesta nei primi 5 anni⁶¹ e la gran parte delle riprese di malattia dopo tale termine sono in realtà nuove cancerizzazioni.

6.1 TUMORE PRIMITIVO

Recidive locali sono state riportate fino al 30% dei pazienti trattati con conservazione del pene, di solito entro i primi 2 anni. La frequenza di queste recidive, a parte la glandulectomia per tumori limitati al glande, è indipendente dal tipo di trattamento locale effettuato. Tali recidive sono facilmente identificabili dai pazienti, dalla partner o dal medico curante e, se trattate tempestivamente e correttamente, non impattano con la sopravvivenza⁶¹ (LE: 2 a; GR: B).

Dopo trattamento conservativo del pene, è consigliata una visita di follow-up ogni 3 mesi per i primi 2 anni. Per i successivi 3 anni è consigliato un follow-up semestrale, purché il paziente e la partner siano stati ben istruiti su come esaminare il pene regolarmente e si rivolgano allo specialista per qualsiasi anomalia rilevata. Inoltre i pazienti devono continuare regolarmente l'autoesame anche dopo 5 anni di follow-up. Invece, dopo la amputazione totale o parziale, si raccomanda un follow-up semestrale, perché il rischio di recidiva non supera il 5%⁶¹ (LE: 2 a; GR: B).

6.2 RECIDIVE REGIONALI (LINFONODALI)

Le recidive regionali dopo chirurgia sono piuttosto rare (2,3 %) e la maggior parte si manifesta entro 2 anni, sia dopo biopsia del linfonodo sentinella che dopo linfadenectomia. E' raccomandato un follow-up ravvicinato con esame clinico ed ecografico trimestrale per i primi 2 anni⁶¹.

I pazienti sottoposti a "vigile attesa" (wait and see) hanno un maggior rischio di ricaduta (9%) ed i pazienti che sono stati operati per metastasi linfonodali hanno un rischio ancora maggiore (19%)⁶¹ (LE: 2 a; GR: B).

7. Qualità della vita

7.1 SESSUALITÀ E CARCINOMA DEL PENE

Poiché sempre più pazienti godono di una maggiore sopravvivenza dopo essere stati malati di cancro, le disfunzioni sessuali e l'infertilità sono stati sempre più riconosciuti come fattori negativi della qualità di vita.

7.1.1. Attività sessuale e qualità di vita dopo trattamento laser

In Svezia sono state eseguite valutazioni annuali ripetute sulla qualità di vita di un gruppo di pazienti trattati con laser terapia per carcinomi non avanzati del pene nel periodo 1986-2000⁶². Inizialmente, diversi pazienti hanno ritardato di rivolgersi al medico, nonostante la consapevolezza dei primi sintomi. Tuttavia, i pazienti trattati con laser terapia per carcinomi circoscritti sono stati capaci di riassumere l'attività sessuale. Fatta eccezione per l'aspetto estetico, una buona parte dei pazienti si dichiarava soddisfatta della loro qualità di vita, compresa l'attività sessuale⁶²(LE: 2 a; GR: B).

7.1.2 Attività sessuale dopo amputazione parziale del pene

Un gruppo di pazienti brasiliani, dopo amputazione parziale del pene per malattia più avanzata, sono stati chiamati a rispondere al questionario dell' International Index of Erectile Function (IIEF) per valutare: la funzione erettile, l'intensità dell'orgasmo, il desiderio sessuale, la soddisfazione del rapporto sessuale e la vita sessuale⁶³. L'età media dei pazienti era di 52 anni. Tutti i punteggi pre e post operatori erano statisticamente inferiori in tutti i domini della vita sessuale dopo amputazione del pene, specialmente per monconi penieni che non consentivano la penetrazione⁶³(LE: 2 a; GR: B).

Conclusioni

Allo stato attuale, circa l' 80 % dei pazienti con carcinoma del pene possono essere guariti, specialmente se vengono inviati a centri di eccellenza. Pertanto l'invio a questi centri, almeno per una consulenza, è fortemente raccomandato (GR: B). Il supporto psicologico è molto importante. La radioterapia dà ottimi risultati entro i suoi limiti e la chirurgia conservativa consente una qualità di vita migliore e deve essere presa in considerazione tutte le volte che sia possibile (GR: B).

La chemioterapia preoperatoria VBM ambulatoriale può consentire l'appianamento della lesione in grossi tumori esofitici del glande e una conseguente chirurgia laser CO₂, cosmetica e radicale purché si conservi un margine di tessuto sano ≥ 2 mm.³⁶(LE: 2 a; GR: B). I margini in tessuto sano per l'amputazione sono stati ridotti ad almeno 5 mm³⁹(LE: 2 a; GR: B).

Dopo amputazione del glande (e della parte distale dei corpi cavernosi) è possibile il resurfacing⁴¹⁻⁴³(LE: 2 a; GR: B). La RM associata alla PGE1 è fondamentale per valutare i margini fra glande e corpo cavernoso¹⁴(LE: 2 a; GR: B). La biopsia linfonodale per ago-aspirazione dei linfonodi palpabili o evidenziati ecograficamente e la biopsia dinamica del linfonodo sentinella per i linfonodi non palpabili consentono una diagnosi precoce e corretta (LE: 2 a; GR: B). Le indicazioni alla linfadenectomia sono più chiare, così come le indicazioni alla chemioterapia adiuvante e neo-adiuvante. Infine, una maggiore igiene, la vaccinazione precoce e una minore promiscuità possono ridurre l'incidenza di questo tumore anche nei Paesi sottosviluppati o in via di sviluppo.

Tabella 1. Livelli di evidenza e gradi di raccomandazione delle linee guida secondo EAU⁵

LIVELLI DI EVIDENZA

- 1a Evidenza ottenuta da metanalisi di studi randomizzati
- 1b Evidenza ottenuta da almeno uno studio randomizzato
- 2a Evidenza ottenuta da uno studio controllato ben disegnato senza randomizzazione
- 2b Evidenza ottenuta da almeno un altro tipo di studio ben disegnato quasi sperimentale
- 3 Evidenza ottenuta da studi non sperimentali ben disegnati, come gli studi comparativi di correlazione ed i case report
- 4 Evidenza ottenuta da report di commissioni di esperti del settore oppure da opinioni od esperienza clinica di persone autorevoli nel settore

GRADI DI RACCOMANDAZIONE

- A Basata su studi clinici di buona qualità e consistenza che affrontino specifiche raccomandazioni e che includano almeno uno studio randomizzato
- B Basata su studi clinici ben condotti ma senza la presenza di studi randomizzati
- C Emessa nonostante l'assenza di studi clinici di buona qualità cui ispirarsi

Tabella 2. Categorie di consenso NCCN

- Categoria 1:** Vi è consenso unanime, basato su evidenza di alto livello, che la raccomandazione sia appropriata.
- Categoria 2:** Vi è consenso unanime, basato su un basso livello di evidenza compresa l'esperienza clinica, che la raccomandazione sia appropriata.
- Categoria 2b:** Non vi è consenso unanime (ma neppure significativo disaccordo), basato su un basso livello di evidenza compresa l'esperienza clinica, che la raccomandazione sia appropriata.
- Categoria 3:** Vi è significativo disaccordo circa l'appropriatezza della raccomandazione.

Tabella 3. Legenda delle abbreviazioni

1. **LE:** livelli di evidenza
2. **GR:** gradi di raccomandazione
3. **CSC:** carcinoma spinocellulare
4. **HPV:** human papilloma virus
5. **TNM:** tumore, linfonodi, metastasi (a distanza)
6. **UICC:** Unione Internazionale Contro il Cancro
7. **PG.E1:** prostaglandine E1
8. **MRI:** risonanza magnetica
9. **TC:** tomografia computerizzata
10. **SPECT-CT:** single-photon emission computed tomography- computed tomography
11. **PET-TC:** tomografia computerizzata con emissione di positroni
12. **DSNB:** biopsia dinamica del linfonodo sentinella
13. **ERT:** radioterapia dall'esterno
14. **BRT:** brachiterapia

Tabella 4. Classificazione TNM del carcinoma del pene, UICC 2002.

T Tumore primitivo

- TX** Il tumore primitivo non può essere classificato
T0 Nessuna evidenza del tumore primitivo
Tis Carcinoma in situ
Ta Carcinoma verrucoso non invasivo
T1 Il tumore invade il connettivo sotto epiteliale
T2 Il tumore invade il corpo spongioso o cavernoso
T3 Il tumore invade l'uretra o la prostata
T4 Il tumore invade le strutture adiacenti

N Linfonodi regionali

- Nx** I linfonodi regionali non possono essere valutati
NO Non evidenza di metastasi linfonodali
N1 Metastasi in un singolo linfonodo inguinale
N2 Metastasi in linfonodi superficiali, multipli o bilaterali
N3 Metastasi in linfonodi profondi o pelvici, uni o bilaterali

M Metastasi a distanza^(*)

- Mx** La presenza di metastasi a distanza non può essere stabilita
MD Non evidenza di metastasi a distanza
MI Metastasi a distanza^(*)

^(*) Da linfonodi retroperitoneali compresi in su.

Tabella 5. Modificazione proposta per la classificazione TNM 1987-2002 (12)

T Tumore primitivo

- T0, TX, Tis e T1** Invariati
T2 Il tumore invade solo il corpo spongioso
T3 Il tumore invade anche i corpi cavernosi
T4 Il tumore invade le strutture adiacenti: uretra soprameatale, prostata, etc.

N Linfonodi regionali¹

- Nx, NO** Invariati
N1 Metastasi in un singolo linfonodo inguinale, mobile
N2 Metastasi multiple, uni o bilaterali, mobili
N3 Metastasi inguinali fisse o ulcerate; metastasi ai linfonodi pelvici

Tabella 6. Linee guida per la diagnosi e la stadiazione del carcinoma spinocellulare del pene

Tumore primitivo

- Esame fisico, segnalando ogni caratteristica fisica della lesione
- Diagnosi citologica o istologica
- Risonanza magnetica con PG E1 per valutare i corpi cavernosi

Linfonodi regionali

- Esame clinico-fisico di entrambi gli inguini
- In caso di linfonodi non palpabili: ecografia ed agobiopsia mirata
- Agobiopsia negativa o non fattibile: linfonodo sentinella dinamico
- In caso di linfonodi palpabili: segnalare sede e caratteristiche ed eseguire agobiopsia per esame citologico
- TC pelvica in caso di metastasi inguinali

Metastasi extraregionali (oltre i linfonodi pelvici)

- TC addome ed RX Torace se TC pelvica positiva
- Lo scan osseo è indicato per paziente M1
- Gli esami di laboratorio sono solo in fase di ricerca

Tabella 7. Lesioni precancerose

Lesioni sporadicamente associate al CSC del pene

- Corno cutaneo
- Papulosi Bowenoidi

Lesioni a rischio intermedio di cancerizzazione

- Balanite xerotica obliterante (lichen sclerosus et atrophicus)

Lesioni ad alto rischio di cancerizzazione

- Neoplasia intraepiteliale (ca. in situ)
 - Eritroplasia di Queyrat
 - Malattia di Bowen

Tabella 8. Classificazione anatomico-patologica del carcinoma spinocellulare del pene

Tipi di carcinoma spinocellulare (CSC) del pene

- Classico
- Basaloide
- Verrucoso nelle sue varietà:
 - condilomatoso
 - verrucoso
 - papillare
 - ibrido
 - misto
- Sarcomatoide
- Adenomasquamoso

Pattern di crescita

- A diffusione superficiale
- Nodulare o a crescita verticale
- Verrucoso

Grado di differenziazione del CSC del pene

- Sistema di Broder
- Punteggio di Maiche

Bibliografia

- 1 Pizzocaro G, Algaba F, Horenblas S, Solsona E., Tana S., Van Der Poel H., Watkin N. EAU guidelines on penile cancer. *Eur Urol* 2009 in press.
- 2 National Cancer Institute. Penile Cancer Treatment (PDQ). Health Professional Version. US National Institutes of Health, 2008, pp. 1-13.
- 3 Oxford Centre for Evidence-based Medicine Levels of Evidence (May 2001). Produced by Bob Phillips, Chris Ball, Dave Sackett, Doug Badenoch, Sharon Straus, Brian Haynes, Martin Dawes since November 1998.
- 4 Parkin DM, Whelan SL, Ferlay J, Teppo L, Thomas DB, editors. *Cancer Incidence in Five Continents*. Vol. VIII. IARC Scientific Publications. No. 155. Lyon, France: IARC, 2002.
- 5 Dillner J, von Krogh G, Horenblas S, Meijer CJ. Etiology of squamous cell carcinoma of the penis. *Scand J Urol Nephrol Suppl* 2000;205:189-93.
- 6 Daling JR, Madeleine MM, Johnson LG, et al. Penile cancer: importance of circumcision, human papillomavirus and smoking for in situ and invasive disease. *Int J Cancer* 2005;116:606-16.
- 7 Nordenvall C, Chang ET, Adami HO, Ye W. Cancer risk among patients with condylomata acuminata. *Int J Cancer* 2006;119:888-93.
- 8 Huang CM. Human papillomavirus and vaccination. *Mayo Clin Proc* 2008;83:701-6.
- 9 Lont AP, Kroon BK, Horenblas S, et al. Presence of high risk human papillomavirus DNA in penile carcinoma predicts favorable outcome in survival. *Int J Cancer* 2006;119:1078-81.
- 10 Kayes O, Ahmed HU, Arya M, Minhas S. Molecular and genetic pathways in penile cancer. *Lancet Oncol* 2007;8:420-9.
- 11 Sobin LH, Wittekind C. *TNM Classification of Malignant Tumours*. Philadelphia, PA: Wiley-Liss, 2002.
- 12 Leijte JA, Gallee M, Antonini N, Horenblas S. Evaluation of current TNM classification of penile carcinoma. *J Urol* 2008;180:933-8.
- 13 Cubilla AL. The role of pathologic prognostic factors in squamous cell carcinoma of the penis. *World J Urol* 2008;27:169-77.
- 14 Kayes O, Minhas S, Allen C, Harc C, Freeman A, Ralph D. The role of magnetic resonance imaging in the local staging of penile cancer. *Eur Urol* 2007;51:1313-8.
- 15 Daseler EH, Anson BJ, Reimann AF. Radical excision of inguinal and iliac lymph glands: a study based upon 450 anatomical dissections and upon supportive clinical observations. *Surg Gynecol Obstet* 1948;87:679-94.
- 16 Cabanas RM. An approach for treatment of penile carcinoma. *Cancer* 1977; 39: 456-66.
- 17 Catalona WJ Modified inguinal lymphadenectomy for carcinoma of the penis with preservation of saphena vein: technique and preliminary results. *Journal of Urology*, 1988; 140: 306-10
- 18 Leijte JA, Valdés Olmos RA, Nieweg OE, Horenblas S. Anatomical mapping of lymphatic drainage in penile carcinoma with SPECT-CT: implications for the extent of inguinal lymph node dissection. *Eur Urol* 2008;54:885-90.
- 19 Saisorn I, Lawrentschut N, Leewansangtong S, Bolton DM. Fine-needle aspiration cytology predicts inguinal lymph node metastases without antibiotic pretreatment in penile carcinoma. *BJU Int* 2006;97:1125-8.
- 20 Pettaway CA, Pisters LL, Dinney CPN, et al. Sentinel lymph node dissection for penile carcinoma: the MD Anderson Cancer Center Experience. *J Urol* 1995;154:1999-2003.
- 21 Kroon BK, Horenblas S, Lont A, et al: Patients with penile carcinoma benefit from immediate resection of clinically occult lymph node metastases. *J Urol* 2005;173:816-19.
- 22 Ficarra V, Galfano A : Should the dynamic sentinel node biopsy be considered the gold standard in the evaluation of lymph node status in patients with penile carcinoma? *Eur Urol* 2007;52:17-21.
- 23 Leijte JAP, Kroon BK, Valdes Olmos RD, Nieweg OE, Horenblas S. Reliability and safety of current dynamic sentinel node biopsy for penile carcinoma. *Eur Urol* 2007;52:170-7.
- 24 Lont AP, Horenblas S, Tanis PJ, Gallee MP, Van Tinteren H, Nieweg OE. Management of clinically node negative penile carcinoma: improved survival after the introduction of dynamic sentinel node biopsy. *J Urol* 2003;170:783-6.
- 25 Perdonà S, Autorino A, De Sio M, et al: Dynamic sentinel node biopsy in clinically node-negative penile cancer versus radical inguinal lymphadenectomy: a comparative study. *Urology* 2005; 66:1282-6.
- 26 Jensen JB, Jensen KM, Ulhøi BP, et al: Sentinel lymph-node biopsy in patients with squamous cell carcinoma of the penis. *BJU Int* 2009; 103: 1199-203.

- 27 Crawshaw JW, Hadway P, Hoffland D, et al: Sentinel lymph node biopsy using dynamic lymphoscintigraphy combined with ultrasound-guided fine needle aspiration in penile carcinoma. *Br J Radiol* 2009; 82:41-8.
- 28 Solsona E, Algaba F, Horenblas S et al: EAU guidelines on penile cancer. *Eur Urol* 2004; 46:1-8.
- 29 Ficarra V, Zattoni F, Artibani W, et al; GUONE Penile Cancer Project Members. Nomogram predictive of pathological inguinal lymph nodes involvement in patients with squamous cell carcinoma of the penis. *J Urol* 2006;175:1700-5.
- 30 Pettaway CA, Jularbal FA, Babaian RJ, Dinney CPN, Pisters LL. Intraoperative lymphatic mapping to detect inguinal metastases in penile carcinoma: results of a pilot study. *J Urol* 1999;161:159 (abstr 612).
- 31 Tabatabaei S, Harisinghani M, McDougal WS. Regional lymph node staging using lymphotropic nanoparticle enhanced magnetic resonance imaging with ferumoxtran-10 in patients with penile cancer. *J Urol* 2005;174:923-7.
- 32 Leijte JA, Graafland NM, Valdés Olmos RA: Prospective evaluation of hybrid (18)F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography/computed tomography in staging clinically node-negative patients with penile carcinoma. *BJU Int* 2009; 5: 1-5
- 33 Ornellas AA, Seixas AL, Marota A, Wisnesky A, Campos F, de Moraes JR. Surgical treatment of invasive squamous cell carcinoma of the penis: retrospective analysis of 350 cases. *J Urol* 1994;151:1244-9.
- 34 Zhu Y, Zhang SL, Ye DW, Yao XD, Jiang ZX, Zhou XY Predicting pelvic lymph node metastases in penile cancer patients: a comparison of computed tomography, Cloquet's node, and disease burden of inguinal lymph nodes. *Onkologie* 2008;31:37-41.
- 35 Lont AP, Kroon BK, Gallee MP, van Tinteren H, Moonen LM, Horenblas S. Pelvic lymph node dissection for penile carcinoma: extent of inguinal lymph node involvement as an indicator for pelvic lymph node involvement and survival. *J Urol* 2007;177:947-52; discussion 952.
- 36 Bandieramonte G, Colecchia M, Mariani L, et al. Penoscopically controlled CO2 laser excision for conservative treatment of in situ and T1 penile carcinoma: report on 224 patients. *Eur Urol* 2008;54:875-84.
- 37 Windahl T, Andersson SO. Combined laser treatment for penile carcinoma: results after long-term follow up. *J Urol* 2003;169:2118-21.
- 38 Shindel AW, Mann MW, Lev RY, et al. Mohs micrographic surgery for penile cancer: management and long-term followup. *J Urol* 2007;178:1980-5.
- 39 Minhas S, Kayes O, Hegarty P et al.: What surgical resection margins are required to achieve oncological control in men with primary penile cancer? *BJU Int.* 2005; 96: 1040-4
- 40 Colecchia M, Nicolai N., Secchi P. et al. pT1 penile squamous cell carcinoma: a clinical pathological study on 56 cases treated with CO2 laser therapy. *Annal Quant Cytol.Histol.* 2009; 31: 153-160.
- 41 Hadway P, Corbishley CM, Watkin NA. Total glans resurfacing for premalignant lesions of the penis: initial outcome data. *BJU Int* 2006;98:532-6.
- 42 Smith Y, Hadway P, Biedrzycki, Perry MJA, Corbishley C, Watkin NA. Reconstructive surgery for invasive squamous cell carcinoma of the glans penis. *Eur Urol* 2007;52:1179-85.
- 43 Palminteri E., Bernardini E., Lazzari M. et al. Resurfacing and reconstruction of the glans penis. *Eur.Urol.* 2007; 52: 893-900.
- 44 Lont AP, Gallee MP, Meinhardt W, van Tinteren H, Horenblas S. Penis conserving treatment for T1 and T2 penile carcinoma: clinical implications of a local recurrence. *J Urol* 2006;176:575-80; discussion 580.
- 45 Gotsadze D, Matveev B, Zak B, Mamaladze V. Is conservative organ-sparing treatment of penile carcinoma justified? *Eur Urol* 2000;38:306-12.
- 46 Azrif M, Logue GP, Swindell R, Cowan RA, Wylie JP, Livsey JE. External-beam radiotherapy in T1-2 N0 penile carcinoma. *Clin Oncol (R Coll Radiol)* 2006;18:320-5.
- 47 Crook J, Esche B, Pond G. Penile brachytherapy: results for 60 patients. *Brachytherapy* 2007; 6:82-2.
- 48 Zouhair A, Coucke PA, Jeanneret W, et al. Radiation therapy alone or combined surgery and radiation therapy in squamous-cell carcinoma of the penis? *Eur J Cancer* 2001;37:198-203.
- 49 Horenblas S. Lymphadenectomy for squamous cell carcinoma of the penis. Part 1: diagnosis of lymph node metastasis. *BJU Int* 2001;88:467-72.
- 50 Horenblas S. Lymphadenectomy for squamous cell carcinoma of the penis. Part 2: the role and technique of lymph node dissection. *BJU Int* 2001;88:473-83.

- 51 Culkin DJ, Beer TM. Advanced penile carcinoma. *J Urol* 2003;170:359–65.
- 52 Tobias-Machado M, Tavares A, Silva MN, et al. Can video endoscopic inguinal lymphadenectomy achieve a lower morbidity than open lymph node dissection in penile cancer patients? *J Endourol* 2008;22:1687–91.
- 53 Pizzocaro G, Piva L. Adjuvant and neoadjuvant vincristine, bleomycin, and methotrexate for inguinal metastases from squamous cell carcinoma of the penis. *Acta Oncol* 1988;27:823–4.
- 54 Pizzocaro G, Piva L, Bandieramonte G, Tana S. Up-to-date management of carcinoma of the penis. *Eur Urol* 1997;32:5–15.
- 55 Dexeus F, Logothetis C, Sella A, et al. Combination chemotherapy with methotrexate, bleomycin and cisplatin for advanced squamous cell carcinoma of the male genital tract. *J Urol* 1991;146: 1284–7.
- 56 Haas G, Blumenstein B, Gagliano R, et al. Cisplatin, methotrexate and bleomycin for the treatment of carcinoma of the penis: a Southwest Oncology Group study. *J Urol* 1999;161:1823–5.
- 57 Leijte JA, Kerst JM, Bais E, Antonini N, Horenblas S. Neoadjuvant chemotherapy in advanced penile carcinoma. *Eur Urol* 2007;52:488–94.
- 58 Barmejo C, Busby JK, Spiess PE, Heller L, Pagliaro LC, Pettaway CA. Neoadjuvant chemotherapy followed by aggressive surgical consolidation for metastatic penile squamous cell carcinoma. *J Urol* 2007;177:1335–8.
- 59 Pizzocaro G, Nicolai N, Milani A. Taxanes in combination with cisplatin and fluorouracil for advanced penile cancer: preliminary results. *Eur Urol* 2009; 55:546–51.
- 60 Kulkarni JN, Kamat MR. Prophylactic bilateral groin node dissection versus prophylactic radiotherapy and surveillance in patients with NO and N1-2A carcinoma of the penis. *Eur Urol* 1994;26:123–8.
- 61 Leijte JAP, Kirrander P, Antonini N, Windahl T, Horenblas S. Recurrence patterns of squamous cell carcinoma of the penis: recommendations for follow-up based on a two-centre analysis of 700 patients. *Eur Urol* 2008;54:161–8.
- 62 Skeppner E, Windahl T, Andersson S, Fugl-Meyers KS. Treatment-seeking, aspects of sexual activity and life satisfaction in men with laser-treated penile carcinoma. *Eur Urol* 2008;54:631–9.
- 63 Romero FR, Romero KR, Mattos MA, Garcia CR, Fernandes Rde C, Perez MD. Sexual function after partial penectomy for penile cancer. *Urology* 2005;66:1292–5.

APPENDICE

CARCINOMA DELLA PROSTATA
aggiornamento 2009

G. Albo, A. Pagliarulo

Screening nel tumore della prostata

Lo screening di massa o della popolazione è definito come l'esame di uomini asintomatici (a rischio). Di solito lo screening ha luogo nel contesto di una sperimentazione o di uno studio, ed è avviato dal medico sperimentatore. Al contrario, l'esame precoce o lo screening mirato è attivato da colui che si sottopone all'indagine (paziente) e/o dal suo dottore. In entrambi i casi lo scopo è duplice: la riduzione della mortalità specifica del carcinoma prostatico e il miglioramento della qualità della vita.

I trend per mortalità da carcinoma prostatico mostrano una grande varietà da nazione a nazione in tutto il mondo industrializzato¹. Un decremento nel tasso di mortalità dovuto al carcinoma prostatico è correntemente visto negli USA e in Austria, ma anche nel Regno Unito e in Francia¹. Allo stesso modo in Svezia, il tasso relativo di sopravvivenza a 5 anni è cresciuto nel periodo dal 1960 al 1988; questo dato è stato attribuito alle accresciute attività diagnostiche e alla scoperta di altri tumori non letali². Però questo trend non è stato confermato da uno studio simile condotto in Olanda.³

La riduzione della mortalità vista ultimamente negli USA è spesso attribuita a una politica diagnostica fortemente aggressiva adottata. Però non c'è ancora alcuna prova assoluta che il concetto dell'indagine con l'antigene specifico della prostata (PSA) sia la causa per la riduzione della mortalità cancro specifica del carcinoma prostatico^{4,5}.

Un progetto di screening non randomizzato condotto in Tirolo (Austria) può supportare l'ipotesi che lo screening possa essere efficace nella riduzione della mortalità per carcinoma prostatico: nello studio condotto si è osservato un decremento del 33% nel tasso di mortalità per CaP osservato rispetto al resto dell'Austria. La spiegazione data a questa riduzione è stata la disponibilità del programma di prevenzione associato alla disponibilità di trattamento gratuito⁶ (livello di evidenza: 2b). In un altro studio, Latrie e coll. hanno osservato un tasso di mortalità più basso negli uomini randomizzati per uno screening attivo per carcinoma prostatico, anche se questi risultati sono stati messi in discussione⁸. Altri studi hanno contraddetto i dati positivi attribuiti allo screening: Lu-Yao e coll⁹ che hanno condotto uno studio comparativo tra l'area di Seattle (popolazione fortemente esaminata) e quella del Connecticut (popolazione raramente esaminata). Lo studio ha mostrato che, nonostante la grandissima diversità nei test di PSA e nell'uso di trattamenti curativi, non c'era alcuna differenza nella riduzione del tasso di mortalità per carcinoma prostatico (livello di evidenza: 2b).

Per poter valutare realmente l'efficacia di uno screening per carcinoma prostatico sono necessari studi prospettici randomizzati.

Nel 2009 sono stati pubblicati due trial randomizzati multicentrici (livello di evidenza 1b): lo studio PLCO (Prostate, Lung, Colorectal and Ovary)¹² e lo studio ERSPC (European Randomized Screening for Prostate Cancer)¹³.

Nello studio PLCO¹² sono stati arruolati 76693 pazienti con età compresa tra 55 e 74 anni nel periodo 1993-2001 di cui 38343 nel gruppo screening e 38350 nel gruppo controllo.

I pazienti nel gruppo screening hanno eseguito un dosaggio annuale del PSA per 6 anni, e una esplorazione rettale annuale per 4 anni. A 7 anni dall'arruolamento, sono stati diagnosticati 2820 casi nel gruppo screening rispetto a 2322 nel gruppo controllo (rate ratio, 1.22; 95% confidence interval [CI], 1.16 to 1.29). A 10 anni dall'arruolamento tale differenza si consolida con 3452 diagnosi nel gruppo screening rispetto a 2974 nel gruppo controllo (rate ratio, 1.17; 95% CI, 1.11 to 1.22).

Valutando i dati relativi alla mortalità cancro specifica, a 7 anni si sono registrati 50 casi nel gruppo screening rispetto a 44 nel gruppo controllo (rate ratio, 1.13; 95% CI, 0.75 to 1.70). Con un follow up di 10 anni i casi di morte cancro specifica sono 92 nel gruppo screening, e 82 nel gruppo controllo (rate ratio, 1.11; 95% CI, 0.83 to 1.50). Lo screening dunque non ha comportato una riduzione della mortalità cancro specifica. I dati pubblicati sono relativi ad un follow up probabilmente non lungo a sufficienza per ricavarne una raccomandazione clinica, in quanto sono necessari 12.3 anni di follow up per pazienti con età di 55 anni e 6 per pazienti con età di 75 anni¹². I dati potrebbero invece essere maturi per non raccomandare uno screening per uomini con età superiore a 75 anni.

Nello studio ERSPC¹³ sono stati arruolati 182160 pazienti con età compresa tra 50 e 74 anni di cui 82816 nel gruppo screening, 99184 nel gruppo controllo. Selezionando la fascia di età tra 55 e 69 anni i pazienti arruolati sono 162387, di cui 72890 nel gruppo screening, 89353 nel gruppo controllo.

I pazienti nel gruppo screening hanno eseguito il test del PSA con un cut off tra 3 e 4 ng/ml in base alla sede di arruolamento.

Nel gruppo screening sono stati diagnosticati 6830 casi di tumore prostatico (5990 nella fascia d'età 55-69), rispetto ai 4781 casi del gruppo controllo (4307 nella fascia d'età 55-69). L'incidenza cumulativa di tumore prostatico localizzato è stata maggiore nel gruppo screening rispetto a quello controllo: i pazienti con localizzazione ossea di malattia sono stati 0.23 ogni 1000 nel gruppo screening rispetto a 0.39 ogni 1000 del gruppo controllo. La percentuale di pazienti con Gleason score uguale o inferiore a 6 è stata del 72.2% nel gruppo screening rispetto al 54.8% nel gruppo controllo, mentre la percentuale di pazienti con Gleason score maggiore di 7 è stata del 27.8% nel gruppo screening rispetto al 45.2% nel gruppo controllo.

Con un follow up medio di 8.8 anni per il gruppo screening e di 9 anni per il gruppo controllo si sono registrati 214 casi di morte cancro specifica nel gruppo screening rispetto a 326 nel gruppo controllo. La differenza tra i due gruppi emerge dopo almeno 7 anni di follow up. Nell'analisi intention to screen la differenza assoluta tra gruppo controllo e gruppo screening è di 0.71 morti per cancro prostatico su 1000 pazienti: in pratica per prevenire una morte cancro specifica si devono eseguire 1410 screening e trattare 48 soggetti.

I due studi analizzati non forniscono dati inequivocabili a favore o contro i programmi di screening, ma comunque non portano alla conclusione che l'utilizzo del PSA debba essere abbandonato. La tendenza, che deve essere confermata da follow up più lunghi, è che lo screening sia di maggiore importanza nei pazienti giovani (con età inferiore a 74 anni) e che nella popolazione soggetta a screening sono necessari strumenti per distinguere i tumori indolenti rispetto agli altri per evitare che alla overdiagnosi corrisponda l'overtreatment.

Bibliografia

1. Oliver SE, May MT, Gunnell D. International trends in prostate-cancer mortality in the 'PSA-ERA'. *Int J Cancer* 2001;92(6):893-8.
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=pubmed&dopt=Abstract&list_uids=11351313
2. Helgesen F, Holmberg L, Johansson JE, Bergstrom R, Adami HO. Trends in prostate cancer survival in Sweden, 1960 through 1988, evidence of increasing diagnosis of non-lethal tumours. *J Natl Cancer Inst* 1996;88(17):1216-1221.
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=pubmed&dopt=Abstract&list_uids=8780631
3. Post PN, Kil PJ, Coebergh JW. Trends in survival of prostate cancer in southeastern Netherlands 1971-1989. *Int J Cancer* 1999;81(4):551-554.
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=pubmed&dopt=Abstract&list_uids=10225443
4. Mettlin C. Impact of screening on prostate cancer rates and trends. *Microsc Res Tech* 2000;51(5):415-418. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=pubmed&dopt=Abstract&list_uids=11074610
5. Potosky AL, Feuer EJ, Levin DL. Impact of screening on incidence and mortality of prostate cancer in the United States. *Epidemiol Rev.* 2001;23(1):181-186.
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=pubmed&dopt=Abstract&list_uids=11588846
6. Bartsch G, Horninger W, Klocker H, et al. Prostate cancer mortality after introduction of prostatespecific antigen mass screening in the Federal State of Tyrol, Austria. *Urology* 2001;58(3):417-424.
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=pubmed&dopt=Abstract&list_uids=11549491
7. Labrie F, Candas B, Dupont A, et al. Screening decreases prostate cancer death: first analysis of the 1988 Quebec prospective randomized controlled trial. *Prostate* 1999;38(2):83-91.
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=pubmed&dopt=Abstract&list_uids=9973093
8. Boer R, Schroeder FH. Quebec randomized controlled trial on prostate cancer screening shows no evidence of mortality reduction. *Prostate* 1999;40(2):130-134.
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=pubmed&dopt=Abstract&list_uids=10386474
9. Lu-Yao G, Albertsen PC, Stamford JL, Stukel TA, Walker-Corkery ES, Barry MJ. Natural experiment examining impact of aggressive screening and treatment on prostate cancer mortality in two fixed cohorts from Seattle area and Connecticut. *BMJ* 2002;325(7367):740.
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=pubmed&dopt=Abstract&list_uids=12364300
10. De Koning HJ, Liem MK, Baan CA, Boer R, Schroder FH, Alexander FE. Prostate cancer mortality reduction by screening: power and time frame with complete enrolment in the European Randomized Screening for Prostate Cancer (ERSPC) trial. *Int J Cancer.* 2002;98(2):268-273.
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=pubmed&dopt=Abstract&list_uids=11857418
11. Schmid H-P, Riesen W, Prikler L. Update on screening for prostate cancer with prostate-specific antigen. *Crit Rev Oncol Hematol* 2004;50(1):71-78.
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=pubmed&dopt=Abstract&list_uids=15094160
12. Gerald L. Andriole, M.D., E. David Crawford, M.D., Robert L. Grubb III, M.D., Sandra S. Buys, M.D., David Chia, Ph.D., Timothy R. Church, Ph.D., Mona N. Fouad, M.D., Edward P. Gelmann, M.D., Paul A. Kvale, M.D., Douglas J. Reding, M.D., Joel L. Weissfeld, M.D., Lance A. Yokochi, M.D., Barbara O'Brien, M.P.H., Jonathan D. Clapp, B.S., Joshua M. Rathmell, M.S., Thomas L. Riley, B.S., Richard B. Hayes, Ph.D., Barnett S. Kramer, M.D., Grant Izmirlian, Ph.D., Anthony B. Miller, M.B., Paul F. Pinsky, Ph.D., Philip C. Prorok, Ph.D., John K. Gohagan, Ph.D., and Christine D. Berg, M.D., for the PLCO Project Team* "Mortality Results from a Randomized Prostate-Cancer Screening Trial" *N Engl J Med* 2009 360;13, 1310-1319

13. Fritz H. Schröder, M.D., Jonas Hugosson, M.D., Monique J. Roobol, Ph.D., Teuvo L.J. Tammela, M.D., Stefano Ciatto, M.D., Vera Nelen, M.D., Maciej Kwiatkowski, M.D., Marcos Lujan, M.D., Hans Lilja, M.D., Marco Zappa, Ph.D., Louis J. Denis, M.D., Franz Recker, M.D., Antonio Berenguer, M.D., Liisa Määttänen, Ph.D., Chris H. Bangma, M.D., Gunnar Aus, M.D., Arnaud Villers, M.D., Xavier Rebillard, M.D., Theodorus van der Kwast, M.D., Bert G. Blijenberg, Ph.D., Sue M. Moss, Ph.D., Harry J. de Koning, M.D., and Anssi Auvinen, M.D., for the ERSPC Investigators* "Screening and Prostate-Cancer Mortality in a Randomized European Study" *N Engl J Med* 2009 360;13 1320 -1328

Prevenzione del tumore prostatico

Le maggiori evidenze a favore della chemioprevenzione sono osservate nei tumori ormono-responsivi: il tumore della mammella con il tamoxifene ed il raloxifene^{1,2} ed il tumore della prostata con gli inibitori delle 5 alfa redattasi (5ARI)³.

Dei vari studi che hanno analizzato come end point secondario l'incidenza del tumore prostatico in pazienti trattati con 5ARI^{4,7}, il PCPT⁵ è l'unico trial randomizzato che ha definito come end point primario la riduzione della prevalenza del tumore prostatico in una popolazione trattata con 5ARI. Nel PCPT trial sono stati randomizzati 18882 pazienti, di cui 9423 nel braccio placebo e 9423 nel braccio trattamento. Questi ultimi hanno assunto 5 mg di finasteride al giorno per 7 anni. Il disegno dello studio ha previsto l'indicazione alla biopsia prostatica in caso di valore del PSA > 4 ng/ml e/o esplorazione rettale sospetta per neoplasia. E' inoltre stata prevista una biopsia al termine dello studio.

In totale sono state eseguite 9060 biopsie, di cui 803/4368 (18.4%) positive nel gruppo trattato rispetto a 1147/4692 (24.4%) del gruppo placebo. I tumori diagnosticati nel gruppo trattato presentano più frequentemente le caratteristiche di rischio elevato: il 37% dei casi (6.4% di tutta la popolazione trattata) sono Gleason score uguale o maggiore di 7 nel gruppo trattato rispetto al 22.2% (5.1% di tutta la popolazione trattata) del gruppo placebo.

Sulla base di questo studio le linee guida congiunte ASCO-AUA considerano che gli uomini asintomatici con un PSA ≤ 3.0 ng/ml, che si sottopongono regolarmente a screening del PSA o prevedono di eseguire ogni anno il test del PSA per l'identificazione precoce del tumore alla prostata, possono beneficiare di una terapia per 7 anni con i 5-ARI nella prevenzione del tumore alla prostata, pur ammettendo i suoi potenziali rischi (inclusa la possibilità di tumori alla prostata di alto grado). Osservando poi i pazienti già in trattamento con un inibitore della 5-alfa-reduttasi per condizioni benigne come il trattamento dei LUTS anche questi possono beneficiare di una simile terapia per la prevenzione del tumore prostatico.

Recentemente lo studio REDUCE (Reduction by Dutasteride of Prostate Cancer Events) ha confrontato l'inibitore della 5-alfa-reduttasi Dutasteride con placebo per un periodo di 4 anni.

I risultati di questo studio, presentati in anteprima al congresso AUA 2009, hanno in primo luogo confermato l'entità della riduzione del rischio relativo di sviluppare un tumore della prostata, che è risultata pari al 23% al termine dei 4 anni di osservazione. Tale riduzione era altamente significativa dal punto di vista statistico. La riduzione del rischio assoluto è risultata pari al 5.2%.

Inoltre nei pazienti inclusi nello studio REDUCE non è stato riscontrato alcun aumento significativo dei tumori di alto grado (Gleason 7).

Va altresì ricordato che la popolazione dello studio REDUCE differiva da quella del PCPT in quanto presentava un rischio maggiore di sviluppare un tumore (uomini tra i 50-75 anni con valori sierici di PSA tra 2.5 e 10 ng/ml e biopsia negativa nei mesi precedenti la terapia).

Questi risultati hanno rafforzato pertanto le raccomandazioni espresse da ASCO e AUA, in particolare quella di informare i pazienti della riduzione del rischio di tumore della prostata che i 5-ARI hanno dimostrato. Lo studio REDUCE ha inoltre permesso di attenuare le preoccupazioni, basate sui dati dello studio PCPT, di un aumento dei tumori di alto grado.

Come lo studio PCPT, anche lo studio REDUCE non fornisce informazioni utili sulla eventuale riduzione di mortalità legata all'utilizzo dei 5-ARI.

Bibliografia

1. Fisher B, Costantino JP, Wickerham DL, et al: Tamoxifen for prevention of breast cancer: Report of the National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project P-1 Study. *J Natl Cancer Inst* 1998; 90: 1371
2. Fisher B, Costantino JP, Wickerham DL, et al: Tamoxifen for the prevention of breast cancer: Current status of the National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project P-1 study. *J Natl Cancer Inst* 2005; 97: 1652.
3. Thompson IM, Goodman PJ, Tangen CM, et al: The influence of finasteride on the development of prostate cancer. *N Engl J Med* 2003; 349: 215.
4. AUA guideline on management of benign prostatic hyperplasia: (2003). Chapter 1: Diagnosis and treatment recommendations. *J Urol* 2003; 170: 530.
5. Roehrborn CG, Boyle P, Nickel JC, et al: Efficacy and safety of a dual inhibitor of 5-alpha-reductase types 1 and 2 (dutasteride) in men with benign prostatic hyperplasia. *Urology* 2002; 60: 434.
6. Kaplan S, Garvin D, Gilhooly P, et al: Impact of baseline symptom severity on future risk of benign prostatic hyperplasia-related outcomes and longterm response to finasteride: The Pless Study Group. *Urology* 2000; 56: 610.
7. McConnell JD, Roehrborn CG, Bautista OM, et al: The long-term effect of doxazosin, finasteride, and combination therapy on the clinical progression of benign prostatic hyperplasia. *N Engl J Med* 2003; 349: 2387.

INDICE LINEE GUIDA • EDIZIONE SETTEMBRE 2008

1. CARCINOMA DELLA PROSTATA	pag	11
2. CARCINOMA DEL RENE	pag	189
3. TUMORE VESCICALE NON MUSCOLO INVASIVO	pag	219
4. INFEZIONI DELLE VIE URINARIE	pag	247
5. INCONTINENZA URINARIA	pag	355
6. DISFUNZIONE ERETTILE	pag	453
7. TRAUMI DELL'APPARATO URINARIO	pag	477
8. TERAPIA DEL DOLORE IN UROLOGIA	pag	507
9. SINTOMI DEL BASSO TRATTO URINARIO (LUTS) NEL MASCHIO ANZIANO: VALUTAZIONE E TRATTAMENTO	pag	527

