REPRONEWS

Organo ufficiale della Società Italiana della Riproduzione®

Anno 18 • Dicembre 2016

Congresso Nazionale Congiunto

SIR Società Italiana della Riproduzione®

sipo Società Italiana Policistosi Ovarica

ROMA

26-27 maggio 2017

CG MKT eventi

A Strong Added Value

2017 - Calendario congressuale preliminare

FEBBRAIO

1-4
Alta Scuola di formazione in endoscopia ginecologica
Presidenti: S. Bettocchi, E. Cicinelli
BARI

20-22
XV "Corso di ginecologia dell'infanzia e dell'adolescenza"
1° Modulo
Presidente: V. Bruni
FIRENZE

24-25
III corso: "Aspetti ormonali e infettivologici nella donna"
Presidenti: F. De Seta, S. Lello
ROMA

MARZO

2-3-4
VIII Corso Nazionale Diagnosi e Terapia dell'infertilità involontaria di coppia
Presidente: G.B. La Sala
REGGIO EMILIA

3
VIII Workshop SIFIOG
Presidente: R. D'anna
TAORMINA

10
5° Giornata ginecologica di Pisa "PCOS-fertilità"
Presidenti: F. Fruzzetti, V. Cela
PISA

20-22
XV "Corso di ginecologia dell'infanzia e dell'adolescenza"
2° modulo
Presidente: V. Bruni
FIRENZE

30-31
Giornate di perfezionamento clinico in ginecologia ed ostetricia
Presidente: L. Fedele
MILANO

APRILE

7-8
II Corso di formazione FISS - SIGITE
FIRENZE

MAGGIO

3
1° Workshop Sigite: La gestione della donna in menopausa
Presidenti: S. Lello, E. Vizza
ROMA

5
6° giornata ginecologica di Pisa "Menopausa"
Presidenti: F. Fruzzetti, M. Gambacciani
PISA

MAGGIO

11-13
Corso di aggiornamento di ginecologia dell'infanzia e dell'adolescenza.
" Il pediatra e il ginecologo dall'infanzia all'età adulta"
Responsabili scientifici:
L. Barbaro, M.F. Messina, A. Pizzo
Presidente: G. Tridenti
MESSINA

16-18
Scuola permanente di perfezionamento in ginecologia ed ostetricia
"La terapia ormonale della donna"
Presidenti: G.B. La Sala, A. Volpe, S. Venturoli
SAN SERVOLO

19
La riserva ovarica
Presidente: A. La Marca
MODENA

26-27
Congresso Nazionale Congiunto SIdR-SIPO (Società Italiana della Riproduzione - Società Italiana Policistosi Ovarica)
ROMA

GIUGNO

8/10
XII Corso Nazionale di formazione permanente su "Terapie ormonali in ginecologia"
Presidente: A. Cianci
CATANIA

11-13
2° Congresso "The pelvis as a mother"
Presidente: G. D'Amato
BARI

16-17
7° Congresso Nazionale SIFIOG (Società Italiana di Fitoterapia ed Integratori in Ostetricia e Ginecologia)
ROMA

23
Dal passato al futuro. Radici ed Evoluzione della Ricerca Clinica
Presidente: A. Cagnacci
UDINE

SETTEMBRE

28-30
6° Congresso Nazionale AIPE (Associazione Italiana Preeclampsia)
Presidenti: S. Ferrazzani, A. Lanzone
ROMA

29
4° update in reproductive medicine
Presidente: M. Palumbo
CATANIA

SETTEMBRE/DICEMBRE

Corsi ginecologia endocrinologica
Presidenti: R. Seracchioli, M.C. Meriggiola
BOLOGNA

OTTOBRE

1-3
Scuola permanente di alimentazione e medicina della riproduzione
E. Colosi, A. Luchi
ISOLA DEL GIGLIO

5-7
Corso: terapie ormonali in ginecologia ed ostetricia
Presidenti: C. Di Carlo, C. Nappi
NAPOLI

12-14
Scuola permanente di formazione su: terapie ormonali in ginecologia ed ostetricia
Presidenti: V. De Leo, F. Petraglia
SIENA

20
Fertilità e benessere di coppia
Presidenti: V. De Leo, L. Mencaglia
AREZZO

20
1° Focus On: Osteoporosi
Presidenti: A. Capozzi, S. Lello
ROMA

26-28
9° Congresso Nazionale S.I.C. (Società Italiana della Contraccezione)
Presidenti: A. Cagnacci, F. Fruzzetti
LIDO DI CAMAIORE (LU)

NOVEMBRE

10-11
Novità in ginecologia endocrinologica: dalla ricerca alla pratica clinica
Presidente: A. Gambera
BRESCIA

17
1° Workshop "La contraccezione dalla teoria alla pratica"
Presidenti: C. Bastianelli, M. Farris
ROMA

24-25
Congresso Nazionale SIM (Società Italiana Menopausa)
NAPOLI

DICEMBRE

1-2
Office gynaecology: domande da fare, come fare l'esame ecografico, come arrivare alla diagnosi e proposte terapeutiche
Presidente: R. Seracchioli
BOLOGNA

15-16
4° European Fertility Meeting
Presidente: E. Greco
ROMA

CG MKT Via Cassia, 1110 • 00189 Roma • Tel. 0630090020 • Fax. 0630311303 • congressi@cgmkt.it • www.cgmkt.it

www.sidr.it

CONSIGLIO DIRETTIVO S.I.d.R.

Presidente:
L. Fedele

Past president:
V. De Leo

Vice presidente:
A. La Marca

Segretario tesoriere:
P. Piomboni

Consiglieri:
S.Giulini, G.B. La Sala, Tiboni

Revisori dei conti:
F. De Seta, L.Coppola

Direzione esecutiva: CG MKT
Via Igino Lega 12 - 00189 Roma
Tel. 06 30090020 - Fax 06 30311303
sidr@cgmkt.it

REPRONEWS

Editor in Chief: Piergiorgio Crosignani
Managing Editor: Felice Petraglia
Direttore Responsabile: Guido Rita

Comitato di redazione:
Carlo Alviggi - Paola Anserini
Rosanna Apa - Alessandro Bulfoni
Angelo Cagnacci - Lamberto Coppola
Vincenzo De Leo - Francesco De Seta
Anna Pia Ferraretti - Luca Gianaroli
Giovanni Grandi - Antonio La Marca
Carlo La Vecchia - Alberto Revelli
Giuseppe Ricci - Laura Rienzi
Edgardo Somigliana - Filippo Ubaldi
Annibale Volpe

ANNO XVIII

Stampa BC Graph • Pomezia
Iscr. Trib. Milano N. 655 del 13/10/99
Finito di stampare
Dicembre 2016

Ai sensi della legge sul diritto d'autore e del codice civile è vietata la riproduzione di questi articoli o di parte di essi con qualsiasi mezzo, elettronico, meccanico, per mezzo di fotocopie, microfilms, registrazioni o altro. La responsabilità del contenuto degli articoli è interamente ascrivibile agli Autori.

La SIdR è una libera Associazione interdisciplinare, apolitica, senza fini di lucro fondata nel 1999 a seguito di sollecitazioni e consensi provenienti da più parti, su iniziativa di un folto gruppo di medici e ricercatori.
La S.I.d.R. ha lo scopo di favorire lo sviluppo della clinica, della ricerca e dell'informazione, nonché di promuovere l'aggiornamento e l'educazione permanente in tema di medicina e biologia della riproduzione.
L'Associazione si rivolge al contesto scientifico Italiano della riproduzione in tutte le sue diverse connotazioni sia applicative che di base, anche attraverso le più ampie aperture verso le Società scientifiche affini, le Associazioni degli utenti ed il mondo della ricerca e della produzione farmaceutica. I suoi associati sono infatti per lo più medici, biologi e ricercatori che operano nei settori della medicina e della biologia della riproduzione compreso quello delle tecnologie e delle biotecnologie riproduttive applicate agli animali domestici e di laboratorio.
Organo ufficiale della Associazione è il periodico REPRONEWS.

SOMMARIO

5 **Il fallimento dell'impianto embrionario: meccanismi molecolari nelle principali patologie ginecologiche**

12 **Associazione tra i polimorfismi dei recettori del gusto (TASRs) e l'infertilità maschile**

19 **Efficacia e tollerabilità di un nuovo detergente intimo su secchezza vaginale e dispareunia**

Zoplex®

Integratore alimentare
Mio-inositolo, Vitamina D
Melatonina, Zinco e Acido folico

UN ALLEATO PER
il benessere riproduttivo

FERRING
FARMACEUTICI

Il fallimento dell'impianto embrionario: meccanismi molecolari nelle principali patologie ginecologiche

A. Capaldo [1], L. Boschi [1,2], L. Crifasi [2], A. Luddi [2], P. Piomboni [1,2]

[1]Centro per la Diagnosi ed il Trattamento della sterilità di Coppia, *Ospedale S.Maria alle Scotte, Siena;*
[2]Dip. Medicina Molecolare e dello Sviluppo, *Università di Siena*

RIASSUNTO

L'impianto dell'embrione umano consiste in un esclusivo fenomeno biologico attraverso cui la blastocisti lega intimamente l'endometrio materno e vi si annida per trarne nutrimento. Una differenziazione o proliferazione abnorme dell'endometrio può determinare in ambito riproduttivo il fallimento del processo d'impianto embrionale o l'interruzione di una gravidanza. Per tali motivi particolarmente interessante è la valutazione del rapporto tra alterazioni endometriali e sub fertilità femminile. L'assenza o soppressione di molecole essenziali per la recettività endometriale potrebbero essere una delle principale causa di ricorrenti fallimenti di impianto nelle più comuni patologie ginecologiche.

INTRODUZIONE

Il ruolo dell'endometrio è quello di stabilire e mantenere la gravidanza. Normalmente, l'ambiente endometriale non è recettivo all'embrione, eccetto in un periodo estremamente breve detto "finestra d'impianto", durante la fase secretiva media, ossia tra il 20°-24° giorno di un ciclo uterino ideale. Questo periodo ha una durata di circa 4 giorni al termine del quale l'endometrio torna ad essere refrattario (Bergh et al., 1992). La recettività endometriale gioca un ruolo chiave nello stabilire un impianto di successo e una sua alterazione contribuisce a limitare un buon esito delle pratiche di PMA ed è responsabile approssimativamente di 2/3 dei fallimenti d'impianto, mentre la qualità dell'embrione è responsabile per solo 1/3 di questi fallimenti (Ledee-Bataille et al., 2002). Il fallimento dell'impianto embrionario rimane un problema irrisolto della medicina riproduttiva ed è definibile come la principale causa d'infertilità in donne altrimenti sane. Nonostante le innovative tecniche di PMA a disposizione delle coppie sterili, il tasso d'impianto embrionale è ancora basso (intorno al 25%) (Andersen et al., 2005).
In alcuni casi di infertilità o aborti ricorrenti, il mancato impianto è dovuto all'assenza o soppressione dell'espressione di specifiche proteine; infatti, numerose molecole di adesione cellulare (comprese integrine, selectine e caderine) sono espresse dall'endometrio e si ritengono essere fondamentali per l'interazione embrione-endometrio (**Tabella 1**).

Le donne con disturbi ginecologici benigni, quali l'endometriosi, l'idrosalpinge, il leiomioma, i polipi endometriali, l'adenomiosi, l'endometrite e la sindrome dell'ovaio policistico dimostrano una diminuita recettività uterina e alterata espressione di biomarcatori endometriali. (Donaghay et al., 2007) (**Tabella 2**).

Endometriosi

L'Endometriosi è una patologia cronica benigna caratterizzata dalla presenza di tessuto endometriale al di fuori della cavità uterina. Tale tessuto endometriale mantiene le caratteristiche di responsività agli stimoli ormonali ed è perciò in grado di subire modificazioni cicliche (Petraglia et al., 2011).
Le principali sedi colpite da endometriosi sono: ovaie, legamenti uterini, setto rettova-

ginale, cavo del Douglas, peritoneo pelvico, intestino crasso e tenue, appendice, mucosa di cervice, vagina e tube di Falloppio.
L'incidenza dell'endometriosi è in costante aumento e raggiunge una percentuale del 8-10% nelle donne in età riproduttiva. In menopausa si assiste a una sua graduale regressione e scomparsa.
Si ipotizzano diversi meccanismi responsabili di infertilità nella donna con endometriosi, tra cui un'alterazione della follicologenesi e della fecondazione, una scarsa qualità dell'ovocita, difetti dell' impianto embrionario.
È stato osservato che in donne con endometriosi, l'impianto di embrioni derivati da ovociti di donatrici senza endometriosi, si dimostrava efficiente; al contrario l'impianto di embrioni derivati da ovociti provenienti da donatrici con endometriosi in donne non affette dalla malattia risultava il più delle volte inefficiente (Diaz et al., 2000).
Vari markers endometriali risultano avere un'espressione anomala in pazienti con endometriosi.
In uno studio prospettico randomizzato in doppio cieco (Lessey et al., 1997) le biopsie endometriali di 89 donne affette da endometriosi, eseguite in corrispondenza della finestra di impianto, evidenziavano ridotti livelli di integrina $\alpha V\beta 3$.
Inoltre, a livello dell'epitelio ghiandolare endometriale è stata dimostrata una significativa riduzione dei livelli di Leukemia Inhibitory Factor (LIF) nelle donne sterili affette da endometriosi, quando comparate a donne normalmente fertili (Dimitriadis et al., 2006).
Infine, nelle pazienti con endometriosi è stata dimostrata una riduzione della responsività endometriale al progesterone; è stato ipotizzato che alla base di tale resistenza possa esserci a un alterato rapporto dei livelli di espressione di Progesteron Receptor Type B/ Progesteron Receptor Type A (Lee et al., 2009).
A conferma di questo dato, durante la finestra di impianto è stata dimostrata l'alterazione di un gran numero di geni coinvolti nella regolazione ormonale progestinica, tale da determinare un ambiente uterino inospitale per l'impianto della blastocisti (Kao et al., 2003).
In particolare, sono state rilevate specifiche alterazioni epigenetiche del gene Homeobox A Cluster (HOXA), che implicano conseguenti alterazioni di altri importanti mediatori di recettività endometriale, come pinopodi e Insulin-like Growth Factor-Binding Protein-1 (IGFBP-1), i cui livelli sono ridotti rispetto a controlli fertili (Vitiello et al., 2007).
In conclusione, l'infertilità in donne con endometriosi non è esclusivamente dovuta a una scarsa qualità degli ovociti o difetti dello sviluppo dell'embrione, ma anche ad una compromessa recettività endometriale.
Il trattamento dell'endometriosi è altamente individualizzato e dipendente dal desiderio di maternità della donna.
Le opzioni di trattamento medico, oggi a disposizione, includono la terapia ormonale con estroprogestinici orali, analoghi del GnRH o inibitori delle aromatasi. Lo scopo della terapia farmacologica è di prevenire la produzione di estrogeni e/o opporsi alla loro azione biologica. È interessante notare che il trattamento di tali pazienti con analoghi del GnRH ripristina normali livelli di integrina $\alpha V\beta 3$, con conseguente aumento dei tassi di impianto .

Idrosalpinge

L'idrosalpinge è una condizione patologica, ad eziologia eterogenea, caratterizzata da ostruzione e distensione della tuba da parte di un eccesso di trasudato.
E'una patologia relativamente comune con una prevalenza variabile dal 10% al 13%, quando diagnosticata con ecografia transvaginale (Andersen et al., 1994), fino al 30%, se diagnosticata mediante isterosalpingografia, laparoscopia o laparotomia esplorativa.
La comparazione di due metanalisi ha mostrato che donne con idrosalpinge hanno un più basso tasso di impianto e un più alto tasso di incidenza di aborti spontanei IVF (In Vitro Fertilization), se comparato con quello di donne con infertilità tubarica (Camus et al., 1999).
In aggiunta alle alterazioni anatomo-strutturali della tuba, altri fattori interferiscono con l'annidamento della blastocisti: una ridotta espressione endometriale della integrina $\alpha V\beta 3$ (Meyer et al., 1997) e del LIF (Seli et al., 2005), nel corso della finestra di impianto.
Il 70% delle donne con idrosalpinge, sottoposte a intervento di salpingectomia, mostrano

un ripristino dei normali valori di tali markers (Bildirici et al., 2001).

Leiomioma

Il leiomioma uterino è un tumore benigno che origina dalla componente muscolare liscia della parete uterina e si può presentare in forma singola, ma spesso anche multipla. E' definibile come la neoplasia più comune nelle donne in età riproduttiva (Day Baird et al., 2003) e il 5-10% delle donne sterili ne è affetta (Donnez et al., 2002). Recenti studi hanno dimostrato che il leiomioma potrebbe compromettere la ottimale recettività dell'endometrio durante la finestra di impianto; in particolare è stato riconosciuto una riduzione dell'espressione dei geni coinvolti nella regolazione del processo di impianto, come il gene HOXA10 (Rackow et al., 2010).

Polipi endometriali

I polipi endometriali sono masse esofitiche di dimensioni variabili, che protrudono nella cavità uterina e sono stati identificati mediante isteroscopia nel 16-26% delle donne con infertilità inspiegata (Kim et al., 2003). I meccanismi responsabili dell'infertilità in donne con polipi endometriali sono poco conosciuti, ma potrebbero essere collegati a interferenze meccaniche nel trasporto dello sperma, difficoltà nell'impianto dell'embrione o espressione aberrante di marcatori di recettività endometriale.
Sono stati identificati, nel liquido di lavaggio uterino, bassi livelli di IGFBP-1 e osteopontina, in fase secretoria intermedia; un significativo aumento di tali markers è stato osservato dopo intervento di polipectomia (Ben-Nagi et al., 2009).

Adenomiosi

L'adenomiosi è definibile come la presenza di tessuto endometriale eterotopico, nel contesto delle fibre muscolari lisce del miometrio. Si riscontra nel 20% degli uteri di donne di età superiore ai 40 anni. L'infertilità risulta essere meno frequente, dato che è una patologia di solito diagnosticata in post-menopausa. Nelle donne più giovani, è probabile che l'adenomiosi riduca la recettività endometriale in maniera non dissimile dall'endometriosi. La terapia medica si giova dell'uso di agonisti del GnRH; l'alternativa chirurgica si effettua mediante laparoscopia o laparotomia esplorativa (Campo et al., 2012).

Sindrome dell' ovaio policistico

La sindrome dell'ovaio policistico (Polycystic Ovarian Syndrome, PCOS) è considerata il disturbo endocrino più comune del sesso femminile, interessando più del 10% delle donne in età fertile.
E' una condizione complessa, caratterizzata da: oligo-amenorrea, dovuta a oligo-anovulazione; un quadro ecografico di ovaie di volume aumentato e aspetto micropolicistico; elevati livelli circolanti di LH e androgeni ovarici (androstenedione e deidroepiandrosterone), con relativi segni di iperandrogenismo (Petraglia et al., 2011). Inoltre, circa il 75% delle donne con PCOS presenta insulino-resistenza, iperinsulinemia e obesità.
In donne con PCOS anovulatorie o oligo-ovulatorie, la regolazione endocrinologica mediata dal progesterone è carente o assente e questo risulta in una esuberante e non contrapposta azione proliferativa estrogenica a livello endometriale, che potrebbe interferire negativamente con la recettività durante la finestra di impianto (Giudice et al., 2006).
In pazienti con PCOS, ovulatorie, l'espressione endometriale della integrina $\alpha V\beta 3$, del gene HOXA10 e di IGFBP-1 è ridotta durante la fase secretiva. Studi in vitro hanno dimostrato che l'espressione di HOXA10 potrebbe essere direttamente ridotta dal testosterone (Cermik et al., 2003).
L'endometrio sovraesprime recettori androgenici e fallisce nel down-regolare la espressione di recettori estrogenici ($ER\alpha$) durante la finestra di impianto (Gregory et al., 2003).
Ciò suggerisce un possibile ruolo di antagonisti androgenici nel migliorare la recettività endometriale in donne affette da PCOS.
Un corretto regime dietetico e la pronta somministrazione di insulino-sensibilizzanti, come la metformina, è essenziale nella corretta gestione clinica di queste pazienti.

Endometrite

L'endometrite può essere causa di infertilità per la possibile azione dei prodotti microbio-

logici rilasciati in cavità uterina da parte di agenti infettivi (Devi Wold et al.,2006).
Mentre le endometriti croniche possono essere causate da una varietà di patogeni, come batteri, virus e parassiti, le endometriti acute hanno perlopiù una eziologia batterica e sono raramente associate ad infertilità permanente. Le donne con endometrite cronica hanno mostrato tassi di gravidanza e di impianti significativamente più bassi rispetto a quelle con biopsie negative (Romero et al, 2004).

RIASSUNTO

La recettività endometriale durante la finestra di impianto richiede un complesso network di molteplici attori interdipendenti.
Anche se molti di questi fattori sono stati individuati, il loro ruolo non è ancora pienamente compreso. Tali limitazioni dipendono dal fatto che gli studi in vivo sono eseguiti in condizioni patologiche di non concepimento, mentre gli studi su animali o in colture in vitro forniscono solo una prova indiretta delle reali funzioni dei markers oggetto di studio.
Le nostre conoscenze riguardo agli innumerevoli meccanismi responsabili di "implantation failure" sono insufficienti ed è essenziale un ampliamento di informazioni in modo da rendere possibile un miglioramento significativo nel trattamento della infertilità femminile.
Soltanto attraverso l'ottimizzazione delle condizioni favorenti l'impianto della blastocisti, sarà possibile implementare le performance riproduttive e curare, in maniera mirata, le patologie endometriali che implicano infertilità.

Tabella 1: Principali modulatori endometriali dell'impianto, morfologici, associati a cellule e di secrezione, che svolgono un ruolo potenziale nella formazione di un endometrio recettivo.

Fattori con un ruolo potenziale nella determinazione di un endometrio recettivo		Fase secretiva precoce	Fase secretiva intermedia	Fase secretiva tardiva
Morfologici	Pinopodi	-	+	-
Associati a cellule	αVβ3	-	+	+
	MECA-79	-	+	-
	E-caderina	+	-	-
	MUC-1	+	++	-
	ICAM-1	+	+	++
	CCR5	-	+	-
Di secrezione	LIF	+	++	++
	IL-1	+	++	+
	IL-6	+	++	+
	TGFβ	-	-	+

Tabella 2: Meccanismi di fallimento dell'impianto e terapia delle principali patologie ginecologiche.

Patologie ginecologiche	Meccanismi di fallimento dell'impianto	Terapia
Endometriosi	Ridotta espressione endometriale di integrina αVβ3 e LIF nella finestra di impianto	Escissione chirurgica o diatermoablazione laser
	Assenza del picco di HOXA-10 in fase secretoria	
	Resistenza al progesterone e alterazione del rapporto PRB/PRA	
	Ipermetilazione del promotore del gene HOXA-10	
Idrosalpinge	Interferenza meccanica all'apposizione della blastocisti	Salpingectomia
	Ridotta espressione endometriale di integrina αVβ3 e LIF nella finestra di impianto	Occlusione tubarica prossimale
	Assenza del picco di HOXA-10 in fase secretoria	
Leiomioma	Alterazioni anatomo-strutturali dell'utero	Miomectomia
	Ostruzione dell'ostio tubarico o del canale cervicale	
	Ridotta espressività del gene HOXA10	
Polipi endometriali	Interferenza meccanica con il trasporto di sperma e con l'impianto della blastocisti	Polipectomia isteroscopica
	Ridotti livelli di IGFBP-1e di osteopontina in fase secretoria	
	Ridotta espressione dei recettori del progesterone in fase secretoria	
PCOS	Ridotta espressione endometriale di integrina αVβ3, del gene HOXA10 e del IGFBP-1 durante la fase secretoria	
	Aumentata espressione endometriale di recettori per gli androgeni	Perdita di peso
	Fallimento nel down-regolare ERα durante la finestra di impianto	Insulino-sensibilizzanti

Bibliografia

1. Andersen AN, Gianaroli L, Felberbaum R, de Mouzon J, Nygren KG. Assisted reproductive technology in Europe, 2001. Results generated from European registers by ESHRE. Hum Reprod 2005;20:1158–1176

2. Andersen AN, Yue Z, Meng FJ, Petersen K. Low implantation rate after in-vitro fertilization in patients with hydrosalpinges diagnosed by ultrasonography. Hum Reprod 1994;9:1935–1938

3. Ben-Nagi J, Miell J, Yazbek J, Holland T, Jurkovic D. The effect of hysteroscopic polypectomy on the concentrations of endometrial implantation factors in uterine flushings. Reprod Biomed Online 2009;19:737–744

4. Bergh PA, Navot D. The impact of embryonic development and endometrial maturity on the timing of implantation. Fertil Steril 1992; 58; 537-542

5. Bildirici I, Bukulmez O, Ensari A, Yarali H, Gurgan T. A prospective evaluation of the effect of salpingectomy on endometrial receptivity in cases of women with communicating hydrosalpinges. Hum Reprod 2001;16:2422–2426

6. Campo S, Campo V, Benagiano G. Adenomyosis and infertility Reprod BioMed Online 2012;24:35–46

7. Camus E, Poncelet C, Goffinet F, Wainer B, Merlet F, Nisand I, Philippe HJ. Pregnancy rates after in-vitro fertilization in cases of tubal infertility with and without hydrosalpinx: a meta-analysis of published comparative studies. Hum Reprod 1999;14:1243–1249

8. Cermik D, Selam B, Taylor HS. Regulation of HOXA-10 expression by testosterone in vitro and in the endometrium of patients with polycystic ovary syndrome. J Clin Endocrinol Metab 2003;88:238–243

9. Day Baird D, Dunson DB, Hill MC, Cousins D, Schectman JM. High cumulative incidence of uterine leiomyoma in black and white women: ultrasound evidence. Am J Obstet Gynecol 2003;188:100–107

10. Devi Wold AS, Pham N, Arici A. Anatomic factors in recurrent pregnancy loss. Semin Reprod Med 2006;24:25–32

11. Diaz I, Navarro J, Blasco L, Simon C, Pellicer A, Remohi J. Impact of stage III-IV endometriosis on recipients of sibling oocytes: matched case-control study. Fertil Steril 2000;74:31-34

12. Dimitriadis E, Stoikos C, Stafford-Bell M, Clark I, Paiva P, Kovacs G, Salamonsen LA. Interleukin-11, IL-11 receptoralpha and leukemia inhibitory factor are dysregulated in endometrium of infertile women with endometriosis during the implantation window. J Reprod Immunol 2006;69:53–64

13. Donaghay M, Lessey BA. Uterine receptivity: alterations associated with benign gynecological disease.Semin Reprod Med. 2007;25:461–475.

14. Donnez J, Jadoul P. What are the implications of myomas on fertility? A need for a debate? Hum Reprod 2002;17:1424–1430

15. Giudice LC. Endometrium in PCOS: Implantation and predisposition to endocrine CA. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab 2006;20:235–244

16. Gregory CW, Wilson EM, Apparao KB, Lininger RA, Meyer WR, Kowalik A, Fritz MA, Lessey BA. Steroid receptor coactivator expression throughout the menstrual cycle in normal and abnormal endometrium. J Clin Endocrinol Metab 2002;87:2960–2966

17. Kao LC, Germeyer A, Tulac S, Lobo S, Yang JP, Taylor RN, Osteen K, Lessey BA, Giudice LC. Expression profiling of endometrium from women with endometriosis reveals candidate genes for disease-based implantation failure and infertility. Endocrinology 2003;144:2870–2881

18. Kim MR, Kim YA, Jo MY, Hwang KJ, Ryu HS. High frequency of endometrial polyps in endometriosis. J Am Assoc Gynecol Laparosc 2003;10:46–48

19. Ledee-Bataille N, Lapree-Delage G, Taupin JL, Dubanchet S, Frydman R and Chaouat G (2002) Concentration of leukaemia inhibitory factor (LIF) in uterine flushing fluid is highly predictive of embryo implantation. Hum Reprod 17,213–218

20. Lee B, Du H, Taylor HS. Experimental murine endometriosis induces DNA methylation and altered gene expression in eutopic endometrium. Biol Reprod 2009;80:79–85

21. Lessey BA, Castelbaum AJ, Sawin SW, Buck CA, Schinnar R, Bilker W, Strom BL. Aberrant integrin expression in the endometrium of women with endometriosis. J Clin Endocrinol Metab. 1994;79:643–649

22. Lessey BA, Young SL. Integrins and other cell adhesion molecules in endometrium and endometriosis. Semin Reprod Endocrinol 1997;15:291–299

23. Meyer WR, Castelbaum AJ, Somkuti S, Sagoskin AW, Doyle M, Harris JE, LesseyBA. Hydrosalpinges adversely affect markers of endometrial receptivity. Hum Reprod 1997;12:1393–1398

24. Petraglia F, Pelusi G, Bocchi C, Meriggiola M, 2011. Disturbi del ciclo mestruale. In: Ginecologia e Ostetricia (ed. Poletto) pag. 40

25. Petraglia F, Pelusi G, Bocchi C, Meriggiola M, 2011. Endometriosi. In: Ginecologia e Ostetricia (ed. Poletto) pag. 74

26. Rackow BW, Taylor HS. Submucosal uterine leiomyomas have a global effect on molecular determinants of endometrial receptivity. Fertil Steril 2010; 93:2027–2034

27. Romero R, Espinoza J, Mazor M. Can endometrial infection/inflammation explain implantation failure, spontaneous abortion, and preterm birth after in vitro fertilization?. Fertil Steril. 2004;82:799–804.

28. Seli E, Kayisli UA, Cakmak H, Bukulmez O, Bildirici I, Guzeloglu-Kayisli O, Arici A. Removal of hydrosalpinges increases endometrial leukaemia inhibitory factor (LIF) expression at the time of the implantation window. Hum Reprod 2005; 20:3012–3017

29. Ulukus M, Cakmak H, Arici A. The role of endometrium in endometriosis. J Soc Gynecol Investig 2006;13:467–476

30. Vitiello D, Kodaman PH, Taylor HS. HOX genes in implantation. Semin Reprod Med 2007;25:431–436

Neocloril®-H

Gel Vaginale

Sistema innovativo per modalità di utilizzo e formulazione

7 APPLICATORI PRERIEMPITI

Nuova strategia contro le infezioni vaginali

gofarma

Associazione tra i polimorfismi dei recettori del gusto (TASRs) e l'infertilità maschile

L. Crifasi [1], P. Piomboni [1], D. Campa [2], Bertocci [2], M. Gentiluomo [2], D. Locci [2], A. Luddi [1], A. Capaldo [1], R. Barale [2]

[1]Dpt. di Biologia Molecolare e dello Sviluppo, *Università di Siena;*
[2]Dpt. di Biologia, Sezione di Genetica, *Università di Pisa*

ABSTRACT

Numerosi studi hanno dimostrato l'espressione dei geni del gusto sia a livello testicolare che a livello dello spermatozoo, suggerendo un loro possibile ruolo nella fertilità maschile L'alta frequenza di polimorfismi (*single nucleotide polymorphism, SNP*) dei geni che codificano per i recettori del gusto determina un'ampia variabilità individuale alla percezione di sapori, con pazienti da "*super-taster* a "*non-taster*", nei quali il recettore è inattivo.

Scopo del presente lavoro è stato quello di dimostrare se e come gli SNPs dei recettori del gusto abbiano un ruolo significativo nel manifestarsi della condizione di infertilità nell'uomo. Pertanto abbiamo analizzato il ruolo di 14 polimorfismi di 11 geni dei recettori del gusto, in 163 pazienti afferenti al Centro di Sterilità di Coppia, del Policlinico Le Scotte di Siena, valutando la loro eventuale associazione ai principali parametri di qualità spermatica, quali concentrazione, morfologia, motilità progressiva e totale. I risultati ottenuti hanno dimostrato un'associazione statisticamente significativa tra alcuni polimorfismi dei geni del gusto e la concentrazione e la motilità spermatica. Questi risultati, se replicati su un numero maggiore di pazienti, potrebbero essere d'aiuto per meglio comprendere le cause di infertilità maschile che in molti casi rimangono inspiegate.

INTRODUZIONE

L'infertilità è un fenomeno in forte crescita, che riguarda circa il 15% delle coppie in età riproduttiva. Solamente in Italia ogni anno più di 60.000 coppie chiedono un consulto per problemi di fertilità per poi sottoporsi a tecniche di procreazione medicalmente assistita (PMA). Le cause dell'infertilità, sia femminile che maschile sono numerose e di diversa natura. Nel 30% circa delle coppie infertili viene diagnosticato un fattore maschile. Circa il 40% degli uomini infertili sono olizoospermici o azoospermici, nonostante un normale profilo ormonale e la assenza di altri fattori conosciuti di infertilità.

La fecondazione è un processo biologico che implica una sequenza coordinata di interazioni tra i gameti maschili e femminili, i cui meccanismo molecolari sono ancora oggetto di studio . Milioni di spermatozoi devono attraversare le vie genitali femminili fino a raggiungere e fecondare la cellula uovo. Nei mammiferi, è stato ipotizzato che meccanismi chemiotattici possano favorire il movimento degli spermatozoi per raggiungere il sito di fecondazione, in aggiunta alla spinta passiva esercitata dalle contrazioni della tuba uterina. Molte sostanze presenti nel fluido tubarico e follicolare sono state proposte come chemioattrattori dei gameti maschili (Jackson et al., 2003). In qualche modo le cellule spermatiche devono essere in grado di poter distinguere tra le differenti componenti del microambiente che li circonda ed in base a queste modificare la loro direzione. Restano varie controversie riguardanti i recettori dei vari composti chimici presenti nei differenti fluidi del tratto riproduttivo femminile, che guidano gli spermatozoi verso l'ovocita (Jones et al., 2007).

Vari studi hanno dimostrato la presenza dei recettori del gusto negli spermatozoi dei mammiferi, mettendo in luce un loro possibile ruolo sia nella maturazione che nell'indirizzare tramite stimoli chemiotattici lo spermatozoo verso l'ovocita e quindi indurre la reazione acrosomiale (Deshpande et al., 2010; Behrens, 2006; Li and Zhou, 2012). Nei mammiferi, i recettori del gusto sono presenti sulla superficie di cellule epiteliali specializzate, dette taste receptors cells, che si trovano nelle papille gustative, localizzate principalmente sulla lingua, e permettono la distinzione dei cinque sapori principali: salato, acido, amaro, dolce e umami. Nei mammiferi, il gusto amaro è riconosciuto da una famiglia costituita da più di trenta recettori detti di tipo2 (T2Rs), invece i sapori dolce e umami sono percepiti da una piccola famiglia di recettori di tipo1 (T1R1, T1R2, T1R3), che possono formare eterodimeri (T1R2/T1R3; T1R1/T1R3) oppure omodimeri (T1R3/T1R3). La totale incapacità di percepire il sapore dolce dei topi knockout $T1R2^-$ e $T1R3^-$ dimostra che l'eterodimero T1R2/T1R3 è il principale recettore del gusto dolce nei mammiferi (Damak et al., 2003; Zhao et al., 2003).
La trasduzione del segnale stimolata dai sapori amaro, dolce e umami è mediata da recettori accoppiati a proteine G, che attivano specifiche subunità Gα, α-gustducina e α-transducina (Perez et al., 2002; Zhang et al., 2003; Spinaci et al 2014). Al contrario, i sapori acido e salato attivano recettori del gusto espressi su cellule specializzate che stimolano canali ionici transmembrana (Horio et al., 2011). Numerosi studi hanno dimostrato l'espressione dei recettori appartenenti alle famiglie T2R e T1R in diversi tessuti: a livello gastrico (Ronzergurt, 2007), polmonare (Tizzano et al., 2011), pancreatico (Nakagawa 2011) e testicolare (Max et al., 2001; Fehr et al., 2007; Li et Zhou 2013; Meyer et al., 2012, Xu, 2013). Quindi la visione originaria sulla loro funzione prevalentemente gustativa e difensiva per evitare l'assunzione di sostanze tossiche (recettori per le sostanze amare) o per stimolare l'assunzione di sostanze caloriche (zuccheri) tramite la stimolazione dei recettori per il dolce, si sta velocemente evolvendo.
Più recentemente è stato scoperto che i diversi geni coinvolti nella cascata del segnale del gusto sono espressi nel testicolo di topo, dove controllano varie fasi della meiosi e della spermatogenesi (Li and Zhou, 2012). Questi geni, ampiamente polimorfici, sono: gustducina, T1R1, T2R3, T2R5, T2R8.
La percezione gustativa può variare tra gli individui in funzione delle varianti polimorfiche dei geni che codificano per i recettori del gusto. Variazioni genetiche sono ben note per quanto riguarda i gusti amaro e dolce (Garcia-Bailo et al., 2009).
Le più conosciute sono le variazioni a carico del gene TAS2R38, associate a differenze nella capacità di percepire composti come il feniltiocarbamide e il 6-n-propiltiouracile (Kim et al., 2003).

MATERIALI E METODI

Selezione dei pazienti

Per questo studio sono stati arruolati 163 pazienti afferenti al Centro Sterilità di Coppia dell'UOC Ostetricia e Ginecologia, dell'Azienda Ospedaliera Universitaria Senese nel periodo Ottobre 2014- Aprile 2015 per problemi di fertilità. I maschi selezionati, di età compresa tra i 18 e i 56 anni, all'anamnesi non presentavano alcuna patologia correlabile a problemi di fertilità (criptorchidismo, varicocele, infezioni alle ghiandole accessorie maschili). Tutti i pazienti arruolati sono stati inclusi nel presente studio previo consenso informato approvato dal comitato etico locale.
I soggetti selezionati sono stati sottoposti ad analisi spermatologica mediante spermiogramma.
Il campione di liquido seminale, ottenuto mediante masturbazione dopo un'astinenza sessuale di 3-5 giorni e successivamente lasciato liquefare a 37°C per circa 30 minuti, è stato analizzato per valutarne le caratteristiche macroscopiche (volume, pH, liquefazione) e microscopiche (concentrazione spermatica, morfologia, motilità progressiva e totale), in accordo con i parametri del WHO (2010). Dopo aver attentamente esaminato il numero degli spermatozoi, le particolarità morfologiche e la motilità, è stata definita la situazione spermatologica secondo la terminologia in accordo con il manuale WHO 2010.

Selezione dei geni e dei polimorfismi
I pazienti arruolati nello studio sono stati genotipizzati per 14 polimorfismi dei geni TAS2Rs, TAS1R e GNAT3 (**Tabella 1**).

Tabella 1: geni e polimorfismi selezionati

Gene	SNP	Alleli	Posizione bp	Funzione	Allele minore	MAF EUR
GNAT3	rs7792845	A/G	80151369	regione intronica	A	0,41
TAS1R2	rs35874116	A/G	19181393	missenso ILE-VAL	G	0,32
TAS1R2	rs4920566	A/G	19179824	regione intronica	G	0,36
TAS2R1	rs41467	C/T	9628089	non-codificante	T	0,44
TAS2R3	rs11763979	G/T	141462537	non-codificante	T	0,46
TAS2R4	rs2233998	C/T	141478308	missenso PHE-SER	C	0,47
TAS2R5	rs2227264	G/T	141490238	missenso SER-ILE	T	0,47
TAS2R14	rs11610105	A/G	11088981	non-coding	A	0,24
TAS2R44	rs10845293	C/T	11183005	missenso ALA-VAL	T	0,51
TAS2R48	rs10772420	C/T	11174026	missenso ARG-CYS	T	0,51
TAS2R49	rs10772408	A/G	11151599	non-codificante	A	0,41
TAS2R49	rs7301234	C/T	11150133	non-codificante	T	0,38
TAS2R49	rs7135018	A/G	11149990	missenso LYS-GLU	G	0,21
TAS2R50	rs1376251	C/T	1138852	missenso CYS-TYR	T	0,36

Estrazione del DNA e genotipizzazione.
Il DNA è stato estratto dalle cellule di sfaldamento della mucosa buccale prelevate per sfregamento mediante scovolino sterile. Il DNA è stato estratto tramite il Kit Wizard® Genomic DNA Purification (Promega).
L'analisi dei polimorfismi è stata effettuata dal gruppo del professore Barale del Dipartimento di Genetica dell'Università di Pisa.

Genotipizzazione
La genotipizzazione è stata eseguita mediante PCR allele specifica utilizzando KASPAR (KBiosciences Competitive AlleleSpecif PCR SNP genotyping system, Regno Unito) come marcatore per l'identificazione di SNP.
La mix di reazione è stata preparata con 720 µl di master mix, 20,16 µl di sonda e 720 µl di acqua. Alla PCR è seguita la fase di lettura che avviene per misurazione della fluorescenza emessa, mediante l'utilizzo del Software Omega (Ω).
Successivamente è stato utilizzato il Software Kluster Caller BMG.LABTECH® che esegue una scansione e produce un grafico dove sull'asse delle ordinate si trova l'intensità di VIC e sull'asse delle ascisse quella di FAM.
I campioni compaiono sul grafico come dei punti e le loro coordinate dipendono dalla fluorescenza rilevata durante la lettura.,
Nelle piastre alcuni campioni sono stati ripetuti per assicurare un controllo di qualità (Qc) delle

procedure sperimentali.
Il Qc dovevano mostrare lo stesso genotipo del loro campione corrispondente.

Analisi statistica

L'equilibrio di Hardy Weinberg è stato valutato attraverso il software COUNT. Per ogni campione si è valutata la possibile associazione tra i polimorfismi dei geni del gusto ed i dati relativi ai parametri spermatici (motilità progressiva e totale,morfologia) attraverso il test del Chi2. L' analisi statistica è stata eseguita facendo riferimento a due modelli, codominante e dominante. Nel modello codominante i tre genotipi (omozigote comune, eterozigote ed omozigote raro) vengono considerati separatamente, mentre nell' altro modello si suppone che gli eterozigoti e gli omozigoti rari abbiano lo stesso fenotipo, quindi insieme sono confrontati con gli omozigoti comuni.

I dati sono stati considerati significativi per un p *value* ≤ 0.05 al 95.0% del livello di confidenza. L'analisi statistica è stata effettuata utilizzando il software STATA versione 12.

RISULTATI

I risultati ottenuti dimostrano che tre polimorfismi presentano un'associazione statisticamente significativa con i parametri seminali.
Abbiamo trovato un'associazione statisticamente significativa tra la concentrazione spermatica ed i polimorfismi rs35874116 del gene TAS1R2 (p=0.049) e rs7135018 del gene TAS2R49 (p= 2.7x10-6).
Abbiamo inoltre osservato un'associazione statisticamente significativa tra la motilità totale e il polimorfismo rs11610105 del gene TAS2R14 (p=0.036) (**Tabella 2**).

Tabella 2: Associazione tra gli SNPs ed i parametri di concentrazione, motilità e morfologia spermatica.

Gene	SNP	Sperm Concentration		Sperm Motility		Sperm Morphology	
		CHI²	*P Value*	*CHI²*	*P Value*	*CHI²*	*P Value*
GNAT3	rs7792845	3.8838	0.692	1.7233	0.943	0.2968	0.990
TAS1R2	rs35874116	12.6724	0.049	12.1797	0.058	1.3608	0.851
TAS1R2	rs4920566	3.6356	0.726	6.6988	0.350	1.1316	0.889
TAS2R14	rs11610105	11.4951	0.074	13.4466	0.036	3.9375	0.415
TAS2R5	rs2227264	5.4940	0.482	3.3927	0.758	4.1916	0.381
TAS2R49	rs7135018	36.0645	$2.7x10^{-6}$	5.2594	0.511	3.4485	0.486
TAS2R44	rs10845293	6.0505	0.418	5.3301	0.502	4.4325	0.351
TAS2R50	rs1376251	7.5885	0.270	10.0370	0.123	3.8144	0.432
TAS2R1	rs41467	10.2803	0.113	8.4385	0.208	2.4408	0.655
TAS2R48	rs10772420	5.1916	0.519	3.7646	0.708	3.8041	0.433
TAS2R49	rs7301234	8.7318	0.189	9.6685	0.139	1.7592	0.780
TAS2R4	rs2233998	2.7731	0.837	3.0740	0.800	4.6658	0.323
TAS2R3	rs11763979	2.8365	0.829	4.0413	0.671	5.0169	0.286
TAS2R49	rs10772408	7.2346	0.300	4.9039	0.556	5.2819	0.260

DISCUSSIONE

La scoperta dei recettori gustativi e dei componenti della cascata di segnalazione nei testicoli e negli spermatozoi maturi ha consolidato una nuova area di ricerca.

I recettori del gusto sono espressi sugli spermatozoi a diversi livelli ed i loro ligandi sono caratterizzati da singoli aminoacidi, nucleotidi, zuccheri, proteine, acidi e altre molecole che andrebbero a costituire una parte del complesso ambiente vaginale, suggerendo l'ipotesi che questi recettori possano agire come molecole "sensore" durante il passaggio dello sperma nel tratto genitale femminile. Per esempio la concentrazione di glutammato è molto alta nell'utero e diminuisce via via che ci si avvicina alla regione ampollare delle tube di Falloppio, anche altri aminoacidi mostrano un gradiente di concentrazione (Harris et al., 2005), indicando così la possibilità che gli spermatozoi risentano proprio di questo gradiente grazie ai recettori del gusto.

E' stato riportato che i recettori per il sapore amaro, T2Rs, sono espressi nelle fasi post-meiotiche e che spermatidi e spermatozoi murini rispondono ai composti amari aumentando le concentrazioni di calcio intracellulare a livello acrosomiale, nel tratto intermedio e principale della coda (Xu et al., 2012).

Il ruolo cruciale dei recettori del gusto nel processo spermatogenetico è' stato inoltre dimostrato in topi knockout TAS1R3^{-} e GNAT3^{-} (subunità α della Gustducina) che risultano sterili (Mosinger et al., 2013).

Queste evidenze nel complesso suggeriscono che l'inattivazione dei geni del gusto o la loro desensibilizzazione farmacologica possa essere alla base di alcune forme di infertilità maschile.

I nostri risultati indicano che anche i polimorfismi dei geni del gusto possono essere correlati ad anomalie degli spermatozoi e causare di infertilità.

Obiettivo futuro di questo studio sarà quello di ampliare la casistica al fine di validare i nostri risultati per meglio comprendere l'infertilità idiopatica che ad oggi rappresenta una percentuale importante delle cause di infertilità maschile.

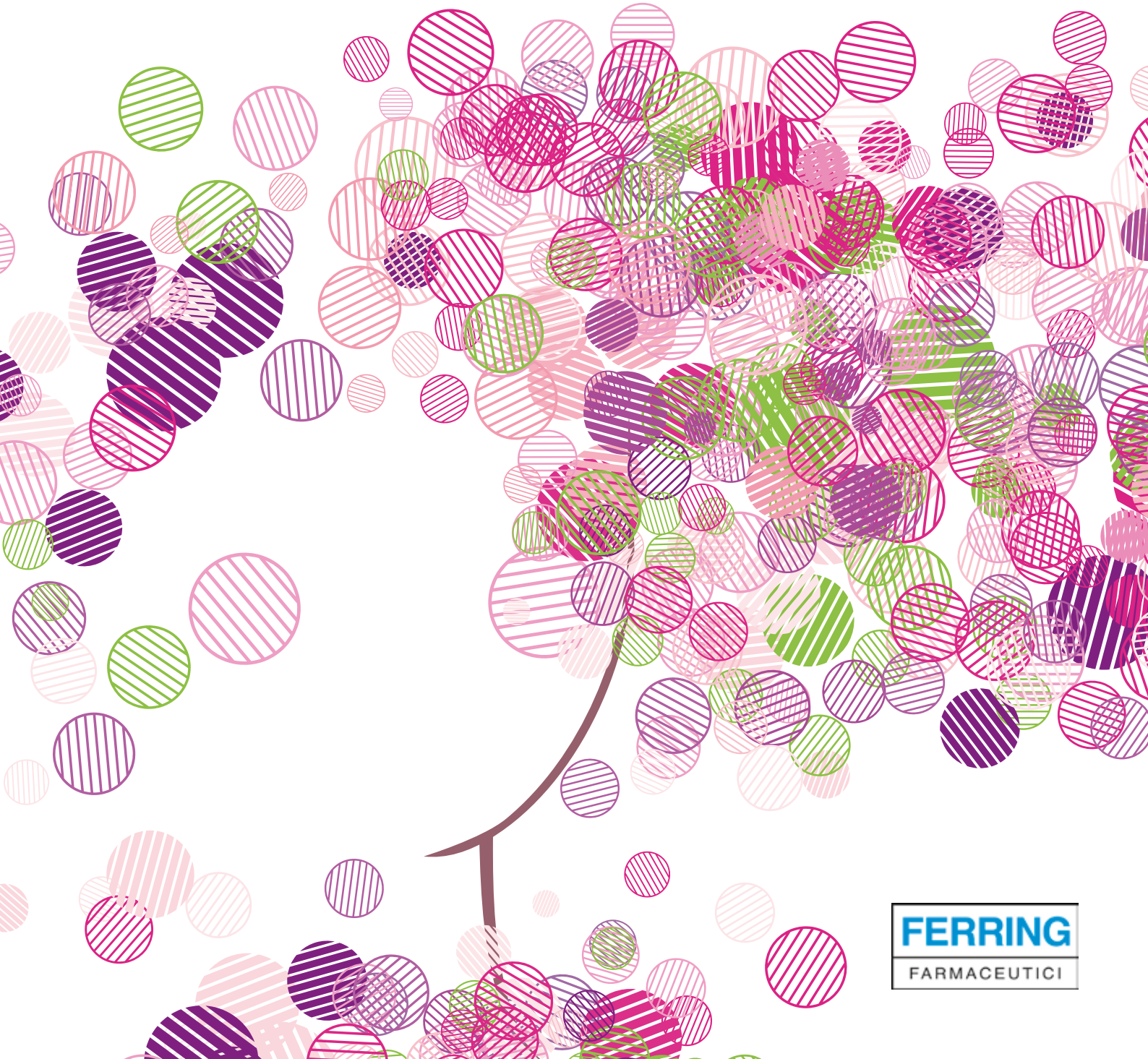
Bibliografia

1. Behrens M, Bartelt J, Reichling C, Winnig M, Kuhn C, Meyerhof W. (2006) Members of RTP and REEP gene families influence functional bitter taste receptor expression J Biol Chem. Jul 21,281.
2. Damak S, Rong M, Yasumatsu K, Kokrashvili Z, Varadarajan V, Zou S, Jiang P, Ninomiya Y, Margolskee RF. (2003) Detection of sweet and umami taste in the absence of taste receptor T1r3. Science,301:850–853.
3. Deshpande DA, Wang WC, McIlmoyle EL, Robinett KS, Schillinger RM, An SS, Sham JS, Liggett SB. (2010) Bitter taste receptors on airway smooth muscle bronchodilate by localized calcium signaling and reverse obstruction. Nat Med, Nov,16.
4. Fehr J, Meyer D, Widmayer P, Borth HC, Ackermann F, Wilhelm B, Gudermann T, Boekhoff I. (2007) Expression of the G-protein alpha-subunit gustducin in mammalian spermatozoa J Comp Physiol A Neuroethol Sens Neural Behav Physiol. Jan,193:21-34.
5. Garcia-Bailo B, Toguri C, Eny KM, El-sohemy A (2009) Genetic variation in taste and its influence on food selection. OMICS.
6. Harris SE, Gopichandran N, Picton HM, Leese HJ, Orsi NM (2005) Nutrient concentrations in murine follicular fluid and the female reproductive tract. Theriogenology, 64:992–1006.
7. Horio N, Yoshida R, Yasumatsu K, Yanagawa Y, Ishimaru Y, Matsunami H, Ninomiya Y. Sour (2011) Taste responses in mice lacking PKD channels. PloSone, 6:20-27.
8. Jackson C, Kirkman-Brown, Keith A. Sutton and Harvey M. Florman (2003) Nature Cell Biology 5:93-96
9. Jones R, James PS, Howes L, Bruckbauer A. and Klenerman D (2007) Supramolecular organization of the sperm plasma membrane during maturation and capacitation. Asian J Androl 9:438-444
10. Kim U.K., Jorgenson E, Coon H, Leppert M, Drayna D. (2003) Positional cloning of the human quantitative trait locus underlying taste sensitivity to phenylthiocarbamide. Science.
11. Li F, Zhou M. (2012) Depletion of bitter taste transduction leads to massive spermatid loss in transgenic mice. Mol Hum Reprod. Jun,18:289-97.
12. Li F. (2013) Taste perception: from the tongue to the testis. Human Molecular Reproduction,19:349-360.
13. Meyer D, Voigt A, Widmayer P, Borth H, Huebner S, Breit A, Marschall S, de Angelis MH, Boehm U, Meyerhof W, Gudermann T, Boekhoff I (2012) Expression of Tas1 taste receptors in mammalian spermatozoa: functional role of Tas1r1 in regulating basal Ca^{2+} and cAMP concentrations in spermatozoa. PLoS One.
14. Max M, Shanker YG, Huang L, Rong M, Liu Z, Campagne F, Weinstein H,Damak S, Margolskee RF. (2001) Tas1r3, encoding a new candidate taste receptor, is allelic to the sweet responsiveness locus Sac. Nat Genet, 28:58–63.
15. Mosinger B, Redding KM, Parker MR, Yevshayeva V, Yee KK, Dyomina K, Li Y, Margolskee RF (2013) Genetic loss or pharmacological blockade of testes-expressed taste genes causes male sterility. Proc Natl Acad Sci U S A, 110:12319-24.
16. Nakagawa Y. (2011) Function of sweet taste receptor in pancreatic beta-cells. Seikagaku, 83:647–651.
17. Perez CA, Huang L, Rong M, Kozak JA, Preuss AK, Zhang H, Max M, Margolskee RF. (2002) A transient receptor potential channel expressed in taste receptor cells. Nat Neurosci, 5:1169–1176.
18. Spinaci M, Bucci D, Mazzoni M, Giaretta E, Bernardini C, Vallorani C, Tamanini C, Clavenzani P, Galeati G (2014) Expression of α-gustducin and α -transducin, G proteins coupled with taste receptors, in boar sperm. Theriogenology, 82:144–151.
19. Tizzano M, Cristofoletti M, Sbarbati A, Finger TE. (2011) Expression of taste receptors in solitary chemosensory cells of rodent airways. BMC Pulm Med;11:3.
20. Xu J, Cao J, Iguchi N, Riethmacher D, Huang L (2013) Functional characterization of bitter-taste receptors expressed in mammalian testis. Mol Hum Reprod. Jan;19:17-28.
21. Zhang Y, Hoon MA, Chandrashekar J, Mueller KL,Cook B,WuD, Zuker CS, Ryba NJ. (2003) Coding of sweet, bitter, and umami tastes: different receptor cells sharing similar signaling pathways. Cell, 112:293–301.
22. Zhao GQ, Zhang Y, Hoon MA, Chandrashekar J, Erlenbach I, Ryba NJ, Zuker CS. (2003) The receptors for mammalian sweet and umami taste. Cell,115:255–266.

VSL#3® *20 capsule*

INTEGRATORE ALIMENTARE

Per favorire l'equilibrio della flora batterica



FERRING
FARMACEUTICI

Efficacia e tollerabilità di un nuovo detergente intimo su secchezza vaginale e dispareunia

V. De Leo, A. Di Sabatino

Istituto d Ginecologia e Ostetricia, Dipartimento di Medicina Molecolare e dello sviluppo,
Policlinico Le Scotte, Università di Siena

ABSTRACT

Introduzione

Nell'igiene intima quotidiana delle donne non più in età fertile ipersensibili ai detergenti aggressivi o con tendenza alla secchezza dell'area genitale, è razionale l'impiego di un nuovo detergente specifico (ND) contenente tensioattivi naturali che stimolano il rinnovamento epidermico dei cheratinociti come la Melaleuca, che aumenta la bioadesività e assicura una maggiore permanenza degli attivi idratanti ed umettanti, estratto di Melissa che svolge una efficace azione antinfiammatoria, lenitiva del prurito e riepitelizzante ed estratto di Rusco e Tiglio che esplicano una naturale attività antimicrobica, antinfiammatoria e antiossidante, aiutando a prevenire l'insorgenza di infezioni batteriche e/o micotiche nel rispetto dell'ecosistema vaginale.

Scopo del presente studio clinico è stato quello di valutare efficacia e accettabilità di questo nuovo detergente in confronto ad un normale detergente in donne in post menopausale con secchezza vaginale e atrofia vaginale.

Metodi

Donne in età fertile con secchezza vaginale o sensibili ai normali detergenti sono state arruolate in uno studio clinico controllato, bilanciato, per gruppi paralleli e randomizzate al trattamento con ND (Akademy pharma) oppure con C (detergente standard) due volte al giorno (mattina e sera) per 4 settimane.

All'ammissione e ogni settimana sono state effettuate le valutazioni cliniche.

Risultati

Sono state trattate 40 donne, 20 per trattamento, età media (±DS) di 52.6 (±6.4) anni, con secchezza vaginale e dispareunia da carenza ormonale per 4 settimane.

La gravità della sintomatologia è stata gradualmente ridotta al termine del trattamento si è osservata una differenza significativa a favore di ND per bruciore (-65.3% vs-36.9% , p< 0.05), eritema (-80.3% vs-39.2%, p< 0.05), secchezza (-52.9% vs -16.2%, p< 0.001), dispareunia (-44.9% vs -16.7%, p< 0.05). In modo correlato con l'andamento dei sintomi, il pH vaginale si è significativamente ridotto con ND rispetto a C (p< 0.001).

Conclusioni

La combinazione di sostanze naturali i cui estratti esplicano una funzione di protezione cutanea insieme ad un complesso di sostanze attive mirate ad una corretta idratazione dei genitali esterni , ha permesso di ottenere un risultato clinico superiore rispetto all'uso di un detergente standard nelle donne con secchezza vulvo-vaginale e dispareunia.

INTRODUZIONE

L'utilizzo di prodotti per l'igiene intima mirati a contrastare una specifica condizione fisiopatologica, è in grado di migliorare alcuni sintomi locali che condizionano la qualità della salute femminile.

Occorre, inoltre, tenere conto della multifattorialità e delle differenze interindividuali, e, in considerazione di questa complessità, seguire un approccio organico e sistematico nell'igiene intima finora mai

realizzato.
Fino ad oggi erano disponibili detergenti contenenti principi attivi di provata efficacia e con un pH compatibile con l'età della donna dall'adolescenza alla postmenopausa con l'obiettivo di mantenere o ripristinare un pH consono all'età della donna, sapendo che un pH meno basico anche in post-menopausa è in grado di contrastare alcuni sintomi della donna in questa fascia d'età.
La studio di nuove sostanze naturali e la combinazione tra loro permette di allargare gli obiettivi di impiego dei detergenti e dare risposte cliniche a donne che per vari motivi non desiderano trattare questi sintomi con farmaci o preparati ormonali che alla lunga ritengono pericolosi per la salute.
Nelle donne in menopausa, lo sviluppo di alcuni sintomi a carico delle mucose genitali che vanno incontro a secchezza e di conseguenza rendono difficoltosa l'attività sessuale è legata ai bassi livelli di 17betaestradiolo che provocano un assottigliamento della mucosa vaginale ed un'alterazione del pH che determinano l'insorgenza dei sintomi sopra descritti.

Va ricordato che l'inizio di questi sintomi dopo la menopausa varia da donna a donna ed il modo più fisiologico per rallentarne l'insorgenza è quello di trovare un prodotto per l'igiene intima quotidiana in grado di contrastare in maniera fisiologica l'insorgenza di tale sintomatologia.
La differenza tra i vari prodotti per l'igiene intima si nota a lungo andare, spesso il giudizio da parte delle donne si limita ad una sensazione di freschezza e di profumo subito dopo l'uso mentre una valutazione più obiettiva dovrebbe essere espressa almeno dopo un mese d'uso per capire se oltre a quanto descritto , l'uso continuato di questi prodotti produce benefici più importanti e durevoli.
Un buon approccio al problema dell'igiene intima delle donne in postmenopausa può essere l'uso di un detergente, la cui formulazione a base di sostanze naturali, assicuri una detersione particolarmente delicata e una prolungata idratazione. Infatti, questi prodotti stimolano il rinnovamento epidermico dei cheratinociti e sono, quindi, in grado di ristrutturare la cute danneggiata e ripristinare lo strato lipidico cutaneo che viene asportato durante la normale routine dell'abluzione svolgendo così, funzione di protettori della barriera cutanea.
La forte attività idratante ed emolliente è assicurata dalla presenza di sostanze attive naturali (Melissa, Njouly o Melaleuca, Rusco e Tiglio) che contribuiscono a ripristinare e/o mantenere il corretto contenuto in acqua e, quindi, la fisiologica elasticità cutanea a livello dei genitali esterni.

La presenza di alcuni estratti delle varie sostanze presenti in questo ND , garantisce una maggiore permanenza degli attivi idratanti ed umettanti in loco, anche durante e dopo la detersione. La maggiore viscosità e capacità di adesione al substrato biologico concorre a garantire un basso profilo di asportabilità, con una minor rimozione dal sito di applicazione e possibilità di prolungare l'attività locale di protezione (1). Infatti molte donne riferiscono, dopo il risciacquo, di avvertire una sensazione di idratazione delle mucose simile a quella dell'uso di una crema.

La formulazione comprende l'estratto di Melissa che svolge una efficace azione antinfiammatoria, lenitiva del prurito e riepitelizzante (2,3,4) e l'estratto di Njouly che esplica una naturale attività antimicrobica, antinfiammatoria e antiossidante, aiutando a prevenire l'insorgenza di infezioni batteriche e/o micotiche nel rispetto dell'ecosistema vaginale (5). L'attività antimicrobica è potenziata dal Rusco , che svolge una documentata azione antiedemigena con riprcussioni positive anche su prurito e bruciore. Infine l'estratto di tiglio assicura un'azione lenitiva, rinfrescante ed emolliente in grado di assicurare a delle mucose sensibili come quelle vulvari e vaginali una buona tonicità(6,7,8,9,10).

Il presente studio è stato condotto per valutare l'efficacia clinica e l'accettabilità di questo nuovo detergente a base di estratti naturali in confronto a un trattamento standard in donne in età fertile che presentano sintomi di secchezza vaginale.

MATERIALI E METODI

Il disegno sperimentale prevedeva uno studio clinico controllato tra 2 gruppi di donne in post-menopausa.
Sono state ammesse allo studio donne in età post-menopausale che presentavano sintomi di secchezza vaginale, selezionate tra donne sensibili ai normali detergenti con tendenza alla secchezza dell'area genitale e, quindi, che rispondevano alla necessità d'uso di un detergente intimo idratante
Le donne sono state assegnate in modo randomizzato al trattamento con ND (Akademy Pharma) oppure con un detergente standard disponibile sul mercato (C, controllo). I prodotti sono stati utilizzati come un normale detergente per l'igiene intima due volte al giorno (mattina e sera).
La durata dell'osservazione è stata di 4 settimane.
All'ammissione venivano raccolti i dati individuali anamnestici e la sintomatologia basale, quindi era consegnato loro il prodotto previsto dalla lista di randomizzazione e un diario promemoria per la registrazione quotidiana di segni e sintomi. Successivamente, dopo 4 settimane, la donna ritornava al controllo, riconsegnando il diario compilato.
Sono state valutate la secchezza vaginale e la dispareunia mediante un punteggio semi quantitativo compreso tra 0 e 4, dove 0= assente, 1= lieve, 2= moderato, 3= intenso, 4= molto intenso.
L'analisi statistica è stata eseguita sulla modificazione del punteggio complessivo dei sintomi durante il trattamento.

RISULTATI

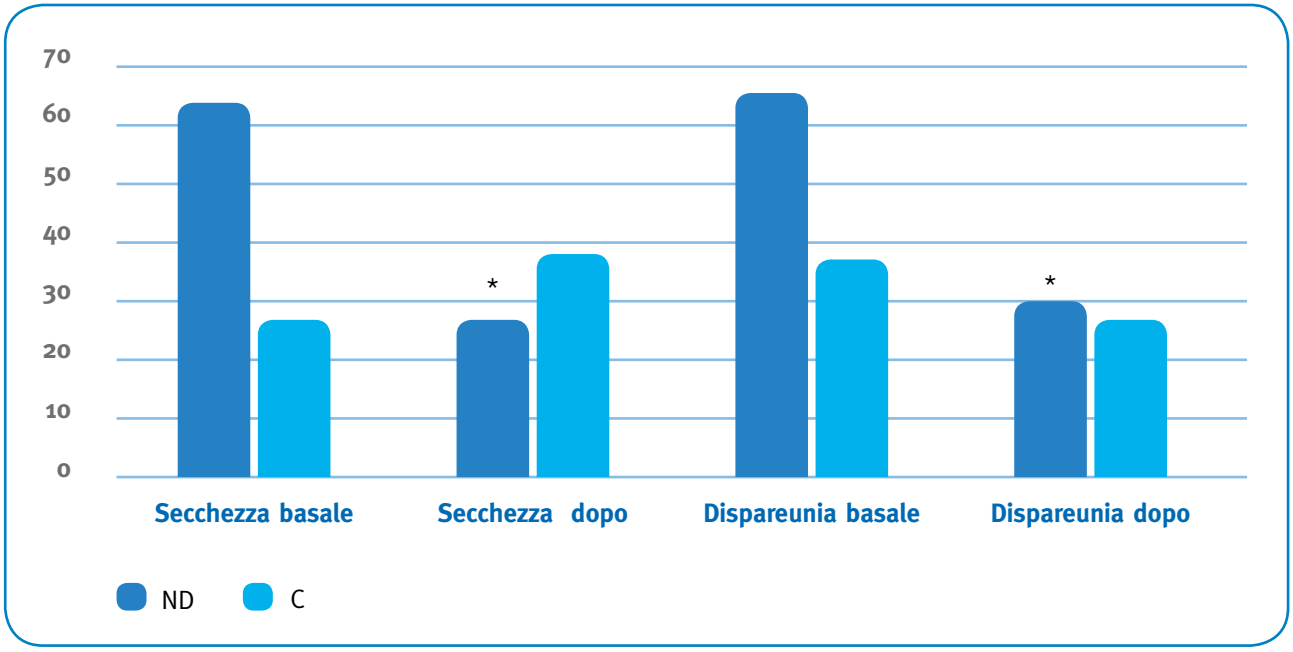
Sono state trattate 40 donne, 20 per ogni gruppo di trattamento, con età media (±DS) di 52.6 (±9.4) anni, più specificamente 54.4 anni (±10.7) con ND e 50.7 anni (±7.6) con C.
La casistica era costituita da donne con secchezza da carenza ormonale in postmenopausa e dispareunia.
Tutte le donne trattate con il nuovo detergente hanno riferito un'ottima tollerabilità con una compliance che ha fatto dire alla totalità delle donne che questo detergente è stato di loro gradimento e che avrebbero continuato ad usarlo una volta in commercio.
La gravità della sintomatologia è risultata migliorata nel corso delle 4 settimane di trattamento con una differenza statisticamente significativa a favore del nuovo prodotto (ND) rispetto al gruppo Controllo per secchezza (64 3 a 28 5 p‹ 0.001 vs 48.4 3 a 40 4) e dispareunia (66.4 3.6 a 32 5 p‹ 0.001 vs 38.6 3.2 31 3) (**Fig. 1**).

DISCUSSIONE

Il presente studio ha dimostrato che l'impiego di un detergente appropriato in donne con secchezza vulvo-vaginale da carenza ormonale in donne in postmenopausa, ha determinato un miglioramento della sintomatologia e del pH vaginale in modo significativamente superiore rispetto all'utilizzo di un detergente intimo standard.
Questo detergente specifico può rappresentare una valida alternativa ai prodotti ormonali locali per il problema dell'igiene intima quotidiana nelle donne in post-menopausa con secchezza e dispareunia.
Il risultato ottenuto è stato determinato da un'innovativa formulazione a base di sostanze naturale che ha come principale obiettivo idratare le mucose vulvo-vaginali in modo da miglioarne la sintomalogia e prevenire l'insorgenza di ulteriori sintomi legati alla carenza ormonale nelle donne in postmenopausa che non fanno terapia ormonale sostitutiva.
Negli ultimi anni, le donne di questa fascia d'età, chiedono ai ginecologi prodotti non farmacologici in grado di migliorare i problemi dell'apparato genitale legati alla carenza ormonale.
La paura di utilizzare terapie ormonali anche a livello locale , ha determinato un aumento dei sintomi a livello dell'apparato genitale e pertanto l'utilizzo di prodotti specifici per l'igiene intima in grado di migliorare tali sintomi rappresenta lo strumento ideale per la prevenzione.
L'elevata efficacia di questo nuovo detergente è dovuta all'originale associazione tra 4 sostanze naturali che attraverso un'azione sinergica determinano una maggiore idratazione delle mucose genitali.
Questa forte attività idratante ed emolliente è determinata dalla presenza di sostanze attive naturali (Melissa, Njaouly o Melaleuca, Rusco

e Tiglio) che contribuiscono a ripristinare e/o mantenere il corretto contenuto in acqua e, quindi, la fisiologica elasticità cutanea a livello dei genitali esterni.
In conclusione si può affermare che questo nuovo detergente è in grado di garantire alle donne in postmenopausa che ne fanno uso un'ottima protezione delle mucose genitali in grado di correggere i principali sintomi da carenza ormonale e nello stesso tempo esercitare un'azione di prevenzione nei confronti di altri sintomi dell'apparato genito-urinario che con il tempo vedono la loro comparsa.

Figura 1: geni e polimorfismi selezionati



Bibliografia

1. Esposito P, Colombo I, Lovrecich M. Investigation of surface properties of some polymers by a thermodynamic and mechanical approach: possibility of predicting mucoadhesion and biocompatibility. Biomaterials.15(3): 177-82, 1994.

2. Lievre M. Controlled study of three ointments for the local management of 2nd and 3rd degree burns. Clin Trials Meta-Anal 28: 9-12, 1992

3. Astani A1, Navid MH, Schnitzler P. Attachment and penetration of acyclovir-resistant herpes simplex virus are inhibited by Melissa officinalis extract. Phytother Res. 2014 Oct;28(10):1547-52.

4. Mencherini T1, Picerno P, Russo P, Meloni M, Aquino R. Composition of the fresh leaves and stems of Melissa officinalis and evaluation of skin irritation in a reconstituted human epidermis model. J Nat Prod. 2009 Aug;72(8):1512-5.

5. Mantil E1, Daly G, Avis TJ. Effect of tea tree (Melaleuca alternifolia) oil as a natural antimicrobial agent in lipophilic formulations. Can J Microbiol. 2015 Jan;61(1):82-8.

6. Radtke OA, Foo LY, Lu Y, Kiderlen AF, Kolodziej H. Evaluation of sage phenolics for their antileishmanial activity and modulatory effects on interleukin-6, interferon and tumour necrosis factor-a-release in RAW 264.7 cells. Z. Naturforsch 58c: 395-400; 2003.

7. Choi HR, Choi JS, Han YN, Bae SJ, Chung HY. Peroxynitrite scavenging activity of herb extracts. Phytother Res 16 (4): 364-367; 2002

8. Saller R, Buechi S, Meyrat R, Schmidhauser C, Combined herbal preparation for topical treatment of Herpes labialis. Forsch Komplementarmed K Natur 8: 373-382; 2001

9. Serkedjieva J. Inhibition influenza virus reproduction by combined preparations of medicinal plants. Antiviral Res 1994.

10. Kaij-a-Kamb M, Amoros M, Girre L. Search of new antiviral agents of plant origin. Pharm Acta Helv 67 (5-6): 130-147; 1992.

11. Guex JJ, Avril L, Enrici E, Enriquez E, Lis C, Taïeb C. Quality of life improvement in Latin American patients suffering from chronic venous disorder using a combination of Ruscus aculeatus and hesperidin methyl-chalcone and ascorbic acid (quality study). Int Angiol. 2010 Dec;29(6):525-32.

12. Huang YL, Kou JP, Ma L, Song JX, Yu BY. Possible mechanism of the anti-inflammatory activity of ruscogenin: role of intercellular adhesion molecule-1 and nuclear factor-kappa B. J Pharmacol Sci. 2008 Oct;108(2):198-205.

S.I.C.
Società Italiana della Contraccezione

8° CONGRESSO NAZIONALE

Presidenti:
A. Cagnacci
F. Fruzzetti

Lido di Camaiore

26/28 *Ottobre* **2017**

SEGRETERIA ORGANIZZATIVA
♦**CG MKT**
Via Cassia, 1110 • 00189 Roma
Tel. 0630090020 • Fax. 0630311303
E-mail: congressi@cgmkt.it • www.cgmkt.it

PROVIDER
FOR.MED. S.r.l.
I.D. n° 4695
dell'Albo Nazionale Provider

Società Italiana della Riproduzione®

Richiesta di Associazione alla Società Italiana della Riproduzione (S.I.d.R.)

Da far pervenire compilato in stampatello in ogni sua parte alla segreteria SIdR:
CG MKT S.r.l. Via Cassia, 1110 - 00189 Roma - Tel.06 30090020 - Fax 06 30311303 - e-mail: sidr@cgmkt.it

Il/la sottoscritto/a

Cognome e Nome

Qualifica

Tel. Fax

E-mail

Recapito postale

Via/Piazza n°

Cap. Città Prov.

Eventuale ente di appartenenza

chiede, sulla base degli specifici interessi scientifico-professionali appresso indicati, di essere ammesso a far parte della Società Italiana della Riproduzione in qualità di Socio ordinario.

PRINCIPALI AREE DI INTERESSE SCIENTIFICO-PROFESSIONALE

Data Firma

La domanda verrà sottoposta all'approvazione.
Il Socio ammesso dovrà versare la quota associativa annua di 75,00 €da versare con bonifico bancario intestato a: Società Italiana della Riproduzione - S. I. d. R. IBAN: IT 72 E057 2803 2228 7757 0000 501 della Banca Popolare di Vicenza Ag.14 Roma - Via Cassia , 901 - 00189 Roma. Le informazioni e i dati riportati nel presente modulo sono tutelati dalla Legge n. 675 del 31.XII.1996 ("tutela della privacy") e successive modifiche. Il loro utilizzo da parte della Società, necessita di specifica autorizzazione scritta.

©2015 LABOREST COMMUNICATION

Perché **ogni anno**
il rischio aumenta

Linkover®

BUSTINE

SENZA GLUTINE

MIOINOSITOLO
ACIDO α-LIPOICO
MONACOLINA K
ACIDO FOLICO
VITAMINA D_3

LINKOVER® è un integratore alimentare utile per contrastare eventuali carenze che possono interessare la donna che si avvicina al periodo peri-menopausale.

2 BUSTINE contengono:

2000 mg	**di MIOINOSITOLO**
800 mg	**di ACIDO α-LIPOICO**
10 mg	**di MONACOLINA K**
400 mcg	**di ACIDO FOLICO**
25 mcg (1000 U.I.)	**di VITAMINA D_3**

MODO D'USO:

2 bustine al giorno per **almeno 2 mesi** seguito da un uso continuativo di **1 bustina** al giorno.

LABOREST

follow us on

laborest.com