

**ALMA MATER STUDIORUM UNIVERSITA DI BOLOGNA**

**DOTTORATO DI RICERCA IN**

**Scienze Mediche Generali e dei Servizi**

Ciclo XXIX Secondo Bando  
Settore Concorsuale 06H1  
Settore ScieNtifico-Disciplinare MED/40

**LE ALTERAZIONI DELLA ZONA GIUNZIONALE  
ENDOMETRIO-MIOMETRIO NELLE PAZIENTI  
CON ADENOMIOSI ED ENDOMETRIOSI PELVICA  
SONO CORRELATE AD OUTCOMES OSTETRICI  
SFAVOREVOLI?**

Presentata dalla Dott.ssa

GIULIA MONTANARI

Coordinatore Dottorato Chiar.mo Prof.

LUIGI BOLONDI

Relatore Chiar.mo Prof.

RENATO SERACCHIOLI

Esame finale anno 2017

**LE ALTERAZIONI DELLA ZONA**  
**GIUNZIONALE ENDOMETRIO-**  
**MIOMETRIO NELLE PAZIENTI**  
**CON ADENOMIOSI ED**  
**ENDOMETRIOSI PELVICA SONO**  
**CORRELATE AD OUTCOMES**  
**OSTETRICI SFAVOREVOLI?**

# Indice

## PARTE DESCRITTIVA

Endometriosi .....	3
Adenomiosi.....	6
La zona giunzionale .....	9

## PARTE SPERIMENTALE

Scopo dello studio.....	10
Materiali e metodi.....	10
Analisi statistica.....	17
Risultati.....	18
Discussione.....	24

BIBLIOGRAFIA.....	31
-------------------	----

# **PARTE DESCRITTIVA**

## ***ENDOMETRIOSI***

L'endometriosi è una patologia ginecologica benigna ad andamento cronico-progressivo, definita per la prima volta da Clement nel 1990 [1] come la presenza di ghiandole e stroma endometriali al di fuori della cavità uterina [2, 3, 4]. Le sedi preferenziali degli impianti endometriosici sono il peritoneo pelvico, le ovaie e il setto retto-vaginale, ma possono essere colpiti tutti gli organi e tessuti del nostro organismo, ad eccezione della milza [5, 6]. L'endometrio ectopico, alla pari della normale mucosa uterina, risente della stimolazione ormonale ovarica. Lo sfaldamento cellulare ed il sanguinamento che avvengono durante il periodo mestruale inducono a livello locale un processo flogistico cronico, che porta allo sviluppo nelle sedi ectopiche di fibrosi ed aderenze. Queste ultime determinano, a loro volta, un progressivo sovvertimento dell'architettura anatomica normale, da cui in parte derivano sia le manifestazioni cliniche che la ridotta fertilità di cui generalmente soffrono queste donne. Si tratta di una patologia estremamente imprevedibile nella sua evoluzione e nella sua manifestazione obiettiva e soggettiva. L'endometriosi sintomatica può essere caratterizzata a livello clinico dalla presenza di sintomi dolorosi invalidanti, in genere rappresentati dalla dismenorrea, dal dolore pelvico cronico, dalla dispareunia, dalla dischezia e dalla disuria. Questa condizione patologica, tipica dell'età fertile, rappresenta la causa principale di dolore pelvico ed infertilità [7]. L'Endometriosis Research Center stima che l'endometriosi colpisca

più di 70 milioni di donne adulte e adolescenti nel mondo [8], mentre in Letteratura vengono riportate le seguenti percentuali: il 10-15% delle donne nella popolazione generale [9], il 50% delle adolescenti con dismenorrea intrattabile [10,11,12], il 30-50% di tutte le donne con infertilità [3, 13] ed il 71-87% delle donne con dolore pelvico cronico con o senza dismenorrea. Sono state formulate diverse teorie sull'eziopatogenesi dell'endometriosi, ma nessuna di queste può chiarire da sola l'origine di tutte le possibili localizzazioni di malattia [14,15]. Il tessuto endometrioso si può impiantare in qualsiasi organo e struttura della pelvi. Si riconoscono tre tipi di endometriosi: superficiale, ovarica e profonda (DIE) [16]. Per quanto riguarda l'endometriosi profonda, questa può essere distinta in anteriore e posteriore in base alla localizzazione. La prima è rappresentata dall'endometriosi vescicale [17, 18] e rappresenta l'1-5% dei casi di endometriosi pelvica [19]. L'endometriosi profonda posteriore può interessare: i legamenti utero-sacrali, la porzione superiore della cervice posteriore (torus uterinus) [20], il fornice vaginale posteriore, la parte superiore della parete vaginale posteriore ed il setto retto-vaginale. Nell'ambito dell'endometriosi profonda posteriore, meno frequente è l'interessamento dell'intestino (nel 6-30% delle pazienti con DIE) e degli ureteri (10-14% delle pazienti con DIE) [21]. La presentazione clinica dell'endometriosi è molto varia sia per quanto riguarda la gravità dei sintomi, andando da quadri asintomatici fino a quadri molto severi, sia per quanto riguarda la tipologia degli stessi. I sintomi riportati con maggior frequenza sono la dismenorrea (dolore durante la mestruazione), la dispareunia profonda (dolore durante i rapporti sessuali) e il dolore pelvico cronico (dolore di durata maggiore a 3 o 6 mesi localizzato primariamente alla pelvi e senza

alcuna ciclicità) [22,23,24]. I problemi clinici principali nelle donne affette da endometriosi sono rappresentati da una sintomatologia dolorosa spesso invalidante e dall'infertilità. La diagnosi di endometriosi può essere difficile data la natura aspecifica di molti suoi sintomi, la frequente comparsa di dolore pelvico in donne senza endometriosi e la notevole sovrapposizione con altre condizioni patologiche. [23]. Per questa ragione, spesso possono trascorrere diversi anni tra la comparsa dei sintomi e la diagnosi definitiva. Gli strumenti diagnostici più utilizzati in una donna con sospetta endometriosi sono: un'accurata anamnesi, l'esame obiettivo ginecologico, l'ecografia pelvica e la laparoscopia. Per quanto riguarda l'esame obiettivo, il rilievo alla visita ginecologica di dolorabilità pelvica e/o dei legamenti utero-sacrali, utero retroverso fisso, ovaie palpabili per la presenza di cisti voluminose o poco mobili per la formazione di aderenze, è suggestivo di endometriosi. Ancora più suggestiva di endometriosi è la palpazione di noduli profondamente infiltranti i legamenti utero-sacrali o lo scavo del Douglas e/o l'identificazione di lesioni visibili in vagina o sulla cervice. Tali noduli se compressi, stirati o trazionati, hanno la caratteristica di esacerbare il dolore [25]. Per quanto riguarda le tecniche di imaging, l'ecografia rappresenta l'indagine di prima scelta poiché unisce la semplicità e rapidità dell'esecuzione e un'ottima tollerabilità da parte delle pazienti ad una buona sensibilità nel riscontro dell'endometriosi. E' riconosciuta infatti la sua validità nel porre o escludere la diagnosi di endometriosi, soprattutto in caso di endometriomi ovarici [26,27]. Ad ogni modo, se eseguita da operatori esperti e con una buona conoscenza di questa patologia, l'ecografia consente la valutazione di tutte le strutture della pelvi con una buon

grado di accuratezza diagnostica [28]. L'ecografia trans-vaginale consente di diagnosticare anche noduli di DIE del comparto posteriore, con un'accuratezza che dipende non solo dalla abilità dell'ecografista, ma anche dalle dimensioni del nodulo [29]. Consente anche di valutare la dolorabilità di tali sedi alla pressione mirata della sonda. Secondo le linee guida del ESHRE 2005 [30], il gold-standard per la diagnosi definitiva di endometriosi è rappresentato dalla visualizzazione laparoscopica delle lesioni endometriosiche, a meno che la patologia non sia visibile direttamente in vagina o in altra sede (livello di evidenza 3). In sede laparoscopica si eseguono prelievi biotici, sottoposti poi ad esame istologico. Un referto istologico positivo conferma la diagnosi di endometriosi; se negativo non la esclude.

## ***ADENOMIOSI***

L'adenomiosi è una patologia ginecologica molto diffusa, caratterizzata dall'invasione benigna del miometrio da parte di ghiandole e stroma endometriale [31]. Studi recenti stimano che la sua prevalenza sia circa il 20%. In particolare l'adenomiosi interessa nel 20% dei casi donne in età fertile di età inferiore ai 39 anni, mentre nell'80% dei casi sono affette donne tra i 40 e i 50 anni [32].

In 1/3 dei casi può essere totalmente asintomatica; nei restanti 2/3 i sintomi più frequenti sono la menorragia (50%), la dismenorrea (30%) e la metrorragia (20%); si rilevano anche, meno frequentemente, dolore pelvico cronico, dispareunia e infertilità [33,34]. Non sempre è il sospetto clinico di adenomiosi ad indirizzare la paziente all'imaging

diagnostico. Quando il sospetto esiste, l'indagine usualmente richiesta in prima battuta è l'ecografia transvaginale (ETV), poco costosa e di più facile disponibilità. Tuttavia, la RM risulta utile sia a completamento dei casi ecografici dubbi che per l'inquadramento completo della malattia, in base alle note caratteristiche di elevata risoluzione di contrasto, per la capacità di tipizzazione delle lesioni a contenuto ematico e adiposo e per la panoramicità. Talora sono le metodiche di imaging, eseguite per motivi diversi, a suggerire la diagnosi di adenomiosi. Ad esempio, nel dolore pelvico che può sottendere l'adenomiosi ma anche molte altre cause, è l'ecografia l'indagine di prima istanza a poter porre il sospetto diagnostico di adenomiosi. Per meglio comprendere gli aspetti dell'imaging diagnostico è bene ricordare che l'adenomiosi può interessare l'utero in maniera diffusa o focale e che proprio per il suo polimorfismo può manifestarsi con quadri più o meno insidiosi. La diagnosi ecografica di adenomiosi in tecnica B-mode si basa sulle alterazioni dell'ecostruttura, ben apprezzabili con lo studio ecografico endocavitario e che rispecchiano le modificazioni istologiche. Gli elementi di semeiotica elementare sono:

- aumentata ecogenicità miometriale o strie lineari iperecogene che si approfondano nel miometrio, espressione della presenza di isole di tessuto endometriale ectopico;
- aree ipoecogene nel contesto del miometrio che rispecchiano l'iperplasia del tessuto muscolare che circonda il tessuto ectopico;
- aree anecogene dovute ad ectasia ghiandolare o cisti miometriali;
- scarsa definizione della giunzione endometrio/miometrio;

- aumento dimensionale dell'utero
- ispessimento asimmetrico di una delle pareti (*pseudowidening*).

Rilevare almeno 3 di questi segni è molto suggestivo per adenomiosi [35]. La sensibilità, specificità e accuratezza diagnostica della ETV sulla base dei segni descritti varia tra 80%–86%, 50%–96% e 68%–86% [36]. Tuttavia, specie se i segni sono di modesta entità, la forma diffusa di adenomiosi uterina può essere confusa con la fibromatosi. Le forme focali di adenomiosi sono particolarmente insidiose da diagnosticare mediante ETV, in quanto lo *pseudowidening* o l'adenomioma possono facilmente essere confusi con i fibromi e le cisti adenomiosiche possono essere scambiate per fibromi caratterizzati da fenomeni di tipo colliquativo. I seguenti segni morfologici possono essere di aiuto nella diagnosi di adenomiosiosi focale: aspetto ellittico della formazione, margini sfumati, assenza di calcificazioni. Lo studio eco-color o power Doppler può riscontrare uno stato di iper-vascularizzazione nel caso di adenomiosi diffusa o focale, ma soprattutto fornisce un segno importante attraverso l'analisi del decorso dei vasi intra-uterini a livello lesionale: nell'adenomiosi il decorso vascolare è perpendicolare al miometrio mentre nel fibroma i vasi abbracciano la lesione. Le localizzazioni del collo alla ETV sono documentabili come aree ipo-anecogene, differenziabili dalle cisti di Naboth che sono invece anecogene.

## ***LA ZONA GIUNZIONALE***

La JZ uterina rappresenta l'interfaccia endometrio-miometrio. Nonostante l'apparente mancanza di una distinzione istologica tra la JZ ed il miometrio sovrastante, queste due zone sono in realtà strutturalmente e biologicamente diverse [37]. La distruzione della JZ può avere ripercussioni sul processo di placentazione e sui successivi outcomes ostetrici [38]. Studi osservazionali suggeriscono che alterazioni della struttura e della funzionalità della JZ prima del concepimento predispongano ad alterazioni dell'invasione profonda del trofoblasto [39,40]. Nel momento in cui si instaura una gravidanza, infatti, la JZ gioca un ruolo fondamentale nel processo di placentazione [41]. L'adenomiosi uterina e l'endometriosi pelvica si associano ad un ispessimento ed una distruzione della JZ [42-43]. Recentemente diversi studi epidemiologici hanno messo in luce un'associazione tra endometriosi e rischio di parto pretermine [44]. Risultati ancora controversi riguardano la possibile associazione tra endometriosi e pre-eclampsia [45]. Tra i vari meccanismi che potrebbero sottostare all'eziologia di patologie ostetriche in pazienti affette da adenomiosi e/o endometriosi vi è l'alterazione della JZ [45]. La JZ è stata inizialmente indagata mediante la risonanza magnetica nucleare. La diagnosi ecografica permette una valutazione accurata della JZ [46-47]. Le alterazioni della JZ vengono valutate sia qualitativamente che quantitativamente [48].

## **PARTE SPERIMENTALE**

### *SCOPO DELLO STUDIO*

Evidenziare se la presenza a livello preconcezionale di alterazioni della zona giunzionale si associa con l'insorgenza di specifici rischi ostetrici durante la gravidanza.

### *MATERIALI E METODI*

Nel nostro studio prospettico osservazionale da gennaio 2014 a dicembre 2016 sono state arruolate tutte le pazienti con adenomiosi e/o endometriosi pelvica severa accertata ecograficamente o istologicamente, di età compresa tra 20 e 45 anni, che sono state sottoposte durante la fase secretiva del ciclo a ecografia transvaginale 2D,3D e con power doppler consecutivamente presso gli ambulatori di endometriosi e dolore pelvico cronico dell'Unità Operativa di Fisiopatologia della Riproduzione Umana dell'Ospedale Sant'Orsola-Malpighi. La zona giunzionale è stata valutata sia qualitativamente che quantitativamente utilizzando i criteri dello studio MUSA [49]. A tutte le pazienti è stato fatto firmare un consenso informato al trattamento dei dati sensibili a scopo di ricerca.

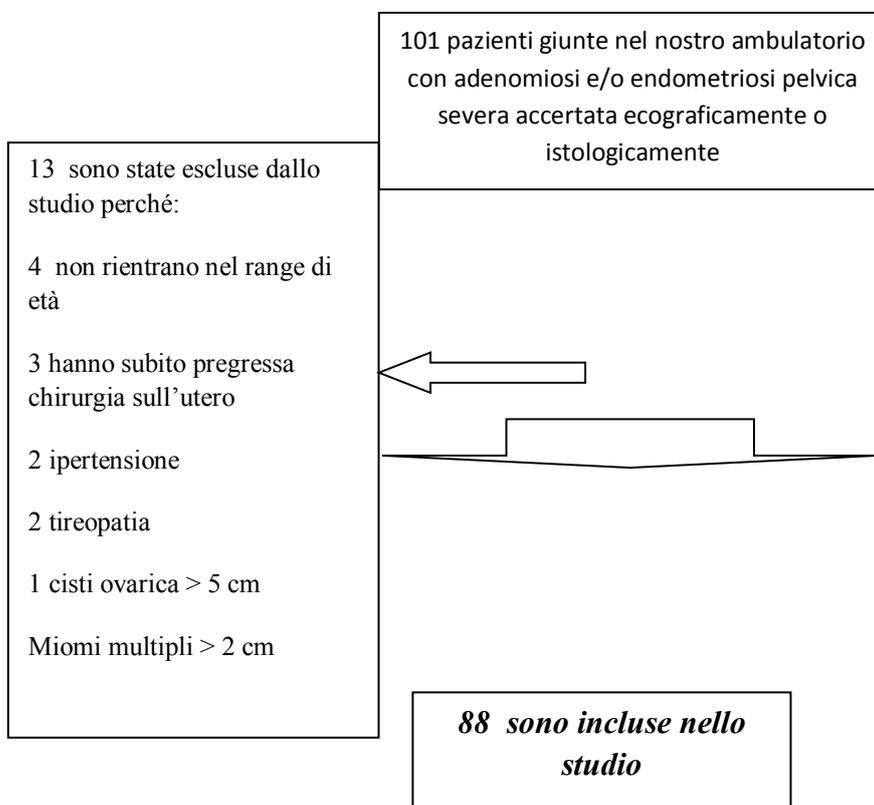
Per la partecipazione allo studio abbiamo seguito i seguenti criteri di esclusione:

- presenza di malformazioni genitali congenite o acquisite

- aver subito nei tre mesi precedenti un intervento chirurgico ginecologico
- Pregressa chirurgia utero (miomectomia, adenomiotomia, metroplastica, TC)
- assunzione di trattamenti ormonali
- patologie che possono influire su andamento gravidanza (ipertensione pre-esistente, diabete pre-esistente, tireopatia, trombofilia)
- gravidanza ottenuta mediante fecondazione assistita
- gravidanza ottenuta mediante ovodonazione
- presenza di cisti ovarica > 5 cm
- presenza di mioma uterino > 2 cm
- poliabortivita'
- alterazioni spermogramma partner

Di queste pazienti, 13 rientrano nei criteri di esclusione utilizzati. Il nostro gruppo di studio è quindi costituito da 88 donne (grafico I).

**Grafico I.** Disegno dello studio.



L'indicazione principale alla consulenza presso i nostri ambulatori è stata la sintomatologia dolorosa persistente, i problemi di infertilità, il riscontro di una massa pelvica riferibile ad impianto endometrioso o

il riscontro ecografico di lesioni sospette per endometriosi nell'ambito di un controllo dal proprio ginecologo.

Per ogni donna inclusa nello studio sono stati raccolti i seguenti dati anamnestici: l'età, il Body Mass Index (BMI), il numero di figli e di aborti, se la paziente è fumatrice oppure no.

Durante la visita ambulatoriale è stata eseguita un'accurata anamnesi generale e ginecologica, in particolare le pazienti sono state interrogate con precise domande sui sintomi (dismenorrea, dispareunia, dolore pelvico cronico, dolore durante l'evacuazione, dolore durante la minzione) associati all'endometriosi. Tutte le donne sono state sottoposte ad una visita ginecologica. L'esame ultrasonografico pelvico è stato effettuato mediante due apparecchi E6 ed E8 (GE Healthcare). Tutte le valutazioni e le misurazioni 2D e 3D sono state effettuate nello stesso esame e dal medesimo operatore (GM). Le immagini ultrasonografiche digitali e fotografiche sono state salvate in una memoria esterna. Una scansione degli organi pelvici è stata eseguita con una sonda vaginale multifrequenza 3D (2.8-10MHz). Durante lo studio transvaginale 2D è stata effettuata una valutazione accurata e delle misurazioni degli organi pelvici. In particolare, l'utero, l'endometrio e gli annessi sono stati valutati alla ricerca di anomalie che sono state accuratamente descritte. Il volume dell'utero è stato calcolato utilizzando la seguente formula (diametro longitudinale x diametro trasverso x diametro antero-posteriore x 0.532). La presenza di lesioni miometriali e i segni di endometriosi sono stati descritti e misurati. Infine in caso di endometriosi pelvica, l'estensione della malattia è stata valutata ecograficamente. In particolare, in accordo con gli studi precedenti, abbiamo determinato

la presenza di certe caratteristiche ecografiche associate all'adenomiosi [50]: cisti miometriali e aree eterogenee, strie lineari ipoecogene miometriali, vascolarizzazione diffusa e asimmetria delle pareti uterine. L'asimmetria delle pareti uterine viene definita tale quando è presente un utero globoso con asimmetria parietale in assenza di miomi che ne distorcono la morfologia. Il miometrio eterogeneo si definisce tale quando è presente un'area miometriale con ridotta o aumentata ecogenicità. Le strie lineari ipoecogene miometriali sono un pattern di sottili echi acustici che non derivano da foci ecogenici e/o da leiomiomi. Le cisti miometriali sono delle aree rotondeggianti anecogene nel contesto del miometrio. Il power doppler è stato utilizzato usando un setting preinstallato: frequenza di 6-9 MHz, frequenza di ripetizione della pulsività di 0.6-0.3 KHz, guadagno - 4.0. Questa modalità è stata utilizzata per distinguere tra una cisti miometriale ed una componente vascolare oppure tra un leiomioma ed una adenomiosi focale. L'adenomiosi focale e l'adenomioma sono infatti caratterizzati dalla presenza di rari e diffusi vasi, mentre i fibromi presentano una vascolarizzazione periferica capsulare.

Usando la sonda transvaginale 3D, è stato acquisito un volume dell'utero in modo da ottenere una visione coronale. Da due a quattro volumi statici dell'utero nella scala di grigi sono stati ottenuti dal piano sagittale e dal piano trasversale. La tecnica di acquisizione del volume è stata standardizzata in accordo ai seguenti criteri [50]: frequenza 6-9 MHz, magnificazione dell'utero per più della metà dello schermo, angolo di acquisizione di 120 °, velocità di acquisizione tra media e massima qualità, box del volume di acquisizione che ecceda dall'utero per un centimetro da entrambi i lati. La tecnica di ricostruzione coronale dell'utero consisteva nel posizionare una linea

retta o curva (OmniView o rendering mode) lungo la linea endometriale nella visione sagittale e trasversale. La visione multiplanare e' stata poi manipolata fino all'ottenimento di una immagine coronale soddisfacente del profilo uterino esterno e della cavità uterina, visualizzando bilateralmente la porzione interstiziale delle tube di Falloppio. Il "volume contrast imaging (VCI)" e' stato applicato (spessore delle fette 2-4 mm) con il "volume rendering". Dopo l'acquisizione, i volumi ultrasonografici sono stati raccolti su una memoria esterna e utilizzati successivamente per l'analisi. Nella visione coronale, la zona giunzionale appare come una zona ipoecogena intorno all'endometrio. Utilizzando la modalità VCI con fette di 2-4 mm, la JZ puo' essere vista chiaramente in tutti i piani della visione multiplanare. Le misurazioni della JZ sono state effettuate solo nella visione 3D multiplanare utilizzando il VCI. La distruzione e l'infiltrazione della JZ da parte di tessuto endometriale iperecogeno e' stata descritta e lo spessore della JZ e' stato misurato come distanza dall'endometrio basale alla superficie interna del miometrio. Abbiamo misurato la JZ minima (che puo' essere considerata il normale spessore della JZ durante tutte le fasi del ciclo, non influenzata dall'adenomiosi), la JZ massima, lo spessore massimo miometriale, la presenza di alterazioni della JZ, la proporzione di JZ irregolare (<50% oppure > 50%), la zona di interruzione della JZ (anteriore, posteriore, fondo, laterale destro, laterale sinistro, globale). La JZ massima e la JZ minima sono definite rispettivamente come la porzione piu' larga e la porzione piu' sottile della JZ, misurate in sezione coronale o longitudinale, a qualsiasi livello delle pareti uterine (fondo, anteriore, posteriore, laterale). Lo spessore massimo miometriale consiste nel diametro che va dall'endometrio basale alla

sierosa uterina misurato allo stesso livello della JZ massima. La presenza di alterazioni della JZ consiste nella presenza di distorsione ed infiltrazione del miometrio sovrastante ipoecogeno da parte di tessuto endometriale iperecogeno (presenza di aree cistiche, spots iperecogeni, “buds and lines” iperecogene). La JZ ratio e' stata calcolata come  $JZ_{massima}/spessore\ miometriale\ massimo\ totale$ , espressa in percentuale. La Jzdifferenza consiste nella differenza tra JZ massima - JZ minima. Inoltre e' stata valutata la presenza del “question mark” definita come una flessione del corpo uterino all'indietro: il fondo rivolto verso il comparto pelvico posteriore e la cervice diretta anteriormente verso la vescica [51].

Le pazienti che ottenevano una gravidanza spontanea venivano invitate ad essere seguite in maniera standard presso gli ambulatori della U.O. di Ostetricia e Medicina dell'Età Prenatale. L'età gestazionale e' stata valutata in base all'ecografia del primo trimestre. Le complicanze della gravidanza prese in considerazione sono state: l'ipertensione gestazionale, la preeclampsia, la preeclampsia severa e la sindrome HELLP, il distacco di placenta, la rottura prematura delle membrane, la rottura prematura pretermine delle membrane, la placenta previa e l'emorragia nel I, nel II e nel III trimestre (prima del parto). Tra le complicanze neonatali e' stato valutato il numero dei nati prima di 28 settimane, prima di 34 settimane, il numero di feti piccoli per epoca gestazionale, l'indice di Apgar < 7 dopo 5 minuti, la morte neonatale precoce (< 7 giorni dalla nascita), la morte neonatale (< 28 giorni dalla nascita), la presenza di malformazioni congenite, la morte fetale in utero. Per quanto riguarda le complicanze del parto sono state prese in considerazione: le lacerazioni perineali di 3° e 4° grado, la rottura dell'utero (prima e durante il travaglio), l'emorragia

postpartum (nella prima settimana dopo il parto), l'emorragia postcesareo, la ritenzione placentare. Per quanto riguarda le procedure durante il parto sono state valutate: l'estrazione mediante ventosa, l'evacuazione dell'utero, la palpazione intrauterina, la rimozione manuale della placenta, il taglio cesareo in urgenza prima del parto, il taglio cesareo in urgenza durante il parto, il taglio cesareo in elezione. Il feto è stato definito piccolo per epoca gestazionale quando il peso stimato era inferiore di due deviazioni standard rispetto alla media specifica per età gestazionale e genere.

### *Analisi Statistica*

Per descrivere le caratteristiche del campione di pazienti osservate sono stati utilizzati indici di posizione (media, mediana) e indici di dispersione (deviazione standard, range) nel caso di variabili quantitative; le variabili di tipo qualitativo sono descritte mediante frequenze assolute e frequenze relative percentuali. Le analisi univariate sono state effettuate impiegando test non-parametrici per dati non appaiati per il confronto fra gruppi di sottopopolazioni: in particolare sono stati utilizzati i tests di Kruskal-Wallis, chi-quadro, e Fisher rispettivamente per le variabili scalari, nominali e dicotomiche. La significatività statistica è stata considerata per valori di P a due code inferiori a 0,05. Le analisi sono state effettuate usando il programma IBM SPSS Statistics (versione 23; Armonk, NY, USA)

## *RISULTATI*

Tra gennaio 2014 e dicembre 2016, 101 pazienti affette da endometriosi e/o adenomiosi e desiderose di prole venivano arruolate per lo studio. In base ai criteri di inclusione ed esclusione, 88 venivano selezionate e venivano sottoposte durante la fase secretiva del ciclo a ecografia transvaginale 2D,3D e con power doppler presso gli ambulatori di endometriosi e dolore pelvico cronico dell'Unità Operativa di Fisiopatologia della Riproduzione Umana dell'Ospedale Sant'Orsola-Malpighi. Le pazienti avevano un'età media di 34 anni  $\pm$  3.6 anni. L'età minima era di 26 anni e l'età massima di 44 anni. L'indice di massa corporea espresso in Kg/m<sup>2</sup> (BMI) medio era di 22  $\pm$  2.5. Undici pazienti (12%) erano fumatrici. Per quanto riguarda l'anamnesi ostetrica, 76 (86%) erano nullipare, 11 (12%) erano primipare e una (1.1%) era secondipara. Riguardo ai progressi aborti, 76 (86%) non aveva mai avuto aborti, mentre 12 (13.6%) avevano avuto un aborto. Nessuna paziente aveva avuto due o più aborti.

Mediante ecografia 2D è stata valutata la presenza di noduli di endometriosi profonda, evidenziando che 22 (25%) presentavano una localizzazione endometriosa profonda pelvica. In particolare 4 (4.5%) avevano un nodulo anteriore e 18 (20.4%) avevano un nodulo posteriore. Per quanto riguarda le caratteristiche ecografiche bidimensionali tipiche dell'adenomiosi, abbiamo riscontrato: un volume uterino medio di 77.3 $\pm$ 12.6, 81 (92%) pazienti presentavano il miometrio eterogeneo, 80 (91%) presentavano asimmetria delle pareti uterine, 58 (66 %) presentavano strie lineari ipoecogene, 24 (27 %) presentavano cisti miometriali. Abbiamo inoltre evidenziato la presenza del segno del "question mark" in 10 pazienti (11.3%). Per

quanto riguarda lo studio ecografico tridimensionale abbiamo ottenuto dati sia qualitativi delle alterazioni della zona giunzionale che dati quantitativi.

A livello qualitativo abbiamo osservato che 76 pazienti (86%) presentavano una alterazione della zona giunzionale. In particolare 24 pazienti (27%) presentavano aree cistiche nel contesto della JZ, 13 pazienti (14.7 %) presentavano spots iperecogeni nel contesto della JZ, 11 pazienti (12%) presentavano “buds and lines” iperecogeni. La proporzione di JZ irregolare era <50% in 25 pazienti (28.4 %) mentre era >50% in 23 pazienti (26.1%). In 40 (45%) pazienti non era valutabile il dato della proporzione di JZ irregolare. La JZ appariva interrotta a livello della parete anteriore in 6 pazienti (6.8%), a livello della parete posteriore in 7 pazienti (7.9 %), a livello del fondo in 7 pazienti (7.9 %), a livello della parete laterale destra in 7 pazienti (7.9 %), a livello della parete laterale sinistra in 7 pazienti (7.9 %) e a livello globale in 6 pazienti (6.8 %). Nella tabella (1) di seguito sono riportati i risultati ottenuti dalla valutazione quantitativa della JZ.

Variabili	88 pazienti Media $\pm$ SD
JZ max (mm)	6.8 $\pm$ 2.3
JZ min (mm)	3.4 $\pm$ 1.4
JZ differenza (mm)	3.4 $\pm$ 1.5
JZ ratio (%)	33.7 $\pm$ 15.7

Tabella 1 Variabili quantitative della JZ misurate mediante ricostruzione ecografica 3D.

Delle 88 pazienti studiate mediante ecografia 2D e 3D in fase secretiva del ciclo, 20 hanno ottenuto una gravidanza spontanea, con un tempo medio ( $\pm$  SD) di ricerca di  $10 \pm 4$  mesi.

Le pazienti che ottengono una gravidanza spontanea presentavano tutte (100%) un'alterazione della zona giunzionale. In particolare sei pazienti presentavano aree cistiche nel contesto del miometrio, due avevano spots iperecogeni e 2 "buds and lines" iperecogeni. La proporzione di JZ irregolare che abbiamo riscontrato e' la seguente: 10 pazienti con una proporzione di JZ irregolare  $< 50\%$  e 3 pazienti con una proporzione di JZ irregolare  $> 50\%$ . La JZ massima media era di  $8.0 \pm 2.1$  mm. La JZ minima media era di  $3.5 \pm 1.1$  mm. La JZ differenza media era di  $4.5 \pm 1.8$  mm. La Jzratio media era  $45 \% \pm 18$ .

Confrontando le variabili qualitative e quantitative della JZ nelle pazienti che ottengono una gravidanza rispetto a color che non ottengono la gravidanza, si nota che non vi e' differenza statisticamente significativa per quanto riguarda l'irregolarita' della JZ ( $P=0.9$ ), la proporzione di JZ irregolare ( $P=0.3$ ), l'interruzione della JZ ( $P=0.8$ ), la JZ massima media ( $P=0.1$ ), la JZ minima media ( $P=0.1$ ), la presenza di nodulo posteriore ( $P=1$ ) e la presenza di "question mark" ( $P=0.6$ ). Abbiamo invece rilevato che la JZ differenza e' significativamente minore in termini statistici nella pazienti che ottengono una gravidanza rispetto a chi non la ottiene ( $p=0.03$ ). La JZ ratio che consiste nel rapporto tra JZ massimo /spessore miometriale e' significativamente piu alta in chi ottiene la gravidanza (media  $45 \% \pm 18$ ) rispetto alle pazienti con alterazione della zona giunzionale che non ottengono la gravidanza (media  $33\% \pm 10$ ) ( $p=0.01$ ).

Nella tabella 2, sotto, riportiamo le complicanze delle gravidanze ottenute spontaneamente (n=20).

<b>Complicanze della gravidanza</b>	N=20	%
Ipertensione	0	
Preeclampsia	1	5
Preclampsia severe e HELLP	0	
Distacco di placenta	1	5
Rottura prematura delle membrane	1	5
Ritardo di crescita	0	
Doppler arterie uterine alterato	0	
Emorragia I trimestre	1	5
Emorragia II trimestre	0	
Aborto I trimestre	4	20
Aborto II trimestre	1	5

<b>Complicanze neonatali</b>	N=20	%
Nascita prima di 28 settimane	0	
Nascita prima di 34 settimane	1	5

Feto piccolo per l'epoca	0	
Apgar score < 7 dopo 5 minuti	0	
Morte neonatale precoce (< 7 gg)	0	
Morte neonatale (< 28 gg)	0	
Malformazioni congenite	0	
Morte fetale endouterina	0	

<b>Complicanze del parto</b>	N=20	%
Lacerazione perineale di 3 e 4 grado	1	5
Rottura d'utero	0	
Emorragia del postpartum	0	
Emorragia dopo cesareo	0	
Ritenzione di placenta	0	
Estrazione con ventosa	0	
Evacuazione dell'utero	0	
Palpazione intrauterina	0	
Rimozione manuale della placenta	0	

Taglio cesareo in urgenza prima del parto	2	10
Taglio cesareo in urgenza durante il parto	2	10
Taglio cesareo elettivo	1	5

Tabella 2 Complicanze gravidanza.

## *DISCUSSIONE*

Nella nostra casistica che ha valutato in maniera prospettica 88 pazienti affette da adenomiosi ed endometriosi pelvica, con alterazioni della zona giunzionale, si mette in evidenza che quelle che hanno ottenuto una gravidanza spontanea, hanno avuto le seguenti complicanze: 20%, aborto nel I trimestre, 15% sanguinamento uterino nel I trimestre, 10% parto pretermine, il 25% delle pazienti ha subito un taglio cesareo. Tra le complicanze piu' importati della gravidanza che abbiamo riscontrato vi e' stato un caso di preclampsia e un caso di distacco intempestivo di placenta (DIPNI).

Studi precedenti hanno valutato le complicanze ostetriche delle pazienti affette da adenomiosi ed endometriosi pelvica in maniera retrospettiva, utilizzando grandi database di popolazione mediante la ricerca dei codici di diagnosi oppure mediante questionario telefonico alle pazienti. La novita' del nostro studio e' stata il fatto di analizzare un pool di pazienti affette da adenomiosi ed endometriosi pelvica, valutarne in maniera qualitativa e quantitativa la zona giunzionale e successivamente seguire la gravidanza presso gli ambulatori del nostro centro in modo da valutare la possibile insorgenza di complicanze. Tra le 88 pazienti di cui abbiamo studiato le alterazioni della zona giunzionale, nell'arco di 24 mesi, 20 (22,7%) hanno ottenuto una gravidanza spontaneamente. Tali pazienti presentavano tutte alterazioni della zona giunzionale. Si pensa infatti che i cambiamenti della zona giunzionale nelle donne affette da endometriosi e adenomiosi possono influire sul processo di rimodellamento delle arterie spiraliformi al

momento della reazione deciduale portando ad un aumento delle resistenze vascolari e ad un aumentato rischio di difettosa placentazione profonda [52]. In particolare lo spessore aumentato della zona giunzionale pare essere il comune denominatore delle donne affette da endometriosi ed adenomiosi [53]. Solamente un altro studio in letteratura ha indagato l'andamento delle gravidanze (in particolare l'incidenza di aborto) in pazienti con alterazioni della zona giunzionale documentate mediante ricostruzione ecografica 3D [54]. Dai nostri risultati emerge che le pazienti affette da adenomiosi ed endometriosi che ottengono una gravidanza spontanea presentavano tutte alterazioni qualitative della zona giunzionale. La JZ massima media era di  $8.0 \pm 2.1$  mm. Tale spessore e' considerato aumentato rispetto alla media che di solito si attesta intorno ai 5 mm, nelle pazienti non affette da endometriosi/adenomiosi. Così come la differenza media dello spessore della JZ era di  $4.5 \pm 1.8$  mm, aumentato rispetto alle pazienti non affette da endometriosi/adenomiosi [55]. Per quanto riguarda le complicanze della gravidanza, abbiamo evidenziato un tasso di preeclampsia, sindrome caratterizzata dalla presenza, singola o in associazione, di segni clinici quali edema, proteinuria o ipertensione, del 5%. Tale patologia interessa circa il 2-8% delle gravidanze. La possibile connessione tra endometriosi e preeclampsia potrebbe essere quella di un difetto della placentazione profonda, caratterizzato da un assente o incompleta trasformazione delle arterie spiraliformi nella JZ miometriale. In una gravidanza normale infatti i cambiamenti fisiologici modificano l'aspetto e la lunghezza delle arterie spiraliformi ad eccezione della periferia del letto placentare. Nella preeclampsia invece l'area centrale del letto placentare dove avvengono le modificazioni fisiologiche delle arterie spiraliformi incluso il segmento

della zona giunzionale, e' ristretta [56].Tuttora vi sono dati discordanti sul rischio di preeclampsia nelle pazienti con endometriosi. Uno studio retrospettivo caso-controllo ha evidenziato un tasso di preclampsia del 0.8% nelle pazienti affette da endometriosi vs un tasso del 5.8% nel gruppo di controllo [57]. Gli stessi autori pero' invitano ad interpretare con cautela i risultati, in quanto ottenuti sulla base di questionari inviati per posta, con un alto tasso di mancata risposta. Uno studio svedese su 13000 donne affette da endometriosi ha mostrato un rischio aumentato del 13% di preeclampsia in gravidanze singole di donne affette da endometriosi [58]. Tuttavia in tale studio sono incluse le gravidanze insorte mediante fecondazione assistita che presentano rischi maggiori di complicanze ostetriche. Infine uno studio longitudinale di popolazione ha evidenziato che la frequenza di preclampsia non era significativamente diversa tra le pazienti con endometriosi e quelle senza [59].Nella nostra casistica si e' verificato un caso (5%) di distacco parziale intempestivo di placenta normalmente inserita che si e' manifestato con dolore pelvico e perdita ematica genitale alla 33° settimana di gestazione. Si e' pertanto proceduto ad una taglio cesareo in emergenza. Il neonato vivo e vitale, di sesso femminile presentava un indice di Apgar di 8/9. Uno studio prospettico di coorte giapponese conferma un aumentato rischio di distacco intempestivo di placenta nelle pazienti con endometriosi (OR 3.45;95%CI = 1.19-10.01) [60]. Si pensa infatti che l'influenza negativa dell'endometriosi pelvica sulla funzionalità uterina prima della gravidanza possa interferire con il processo di placentazione, in particolare mediante le alterazioni della zona giunzionale [61]. Il rischio aumentato di complicanze a livello della placenta in pazienti con endometriosi e' supportato da un grande studio svedese [62] che evidenzia un aumentato rischio di emorragia

ante parto e complicanze placentari nelle donne con endometriosi. Altri studi hanno messo in evidenza un rischio aumentato di placenta previa spiegando la possibile connessione con l'alterazione delle contrazioni uterine, presente nelle donne con endometriosi, che potrebbe influire sull'impianto della blastocisti e quindi aumentare il rischio di placenta previa [63]. Tra le complicanze della gravidanza si è verificato un caso di rottura prematura della membrane (5%). Tale complicanza si pensa sia collegata ad eventi infiammatori che arrivano alle membrane amniotiche e aumentano le prostaglandine, causando la degradazione del collagene delle membrane fetali indotta dall'azione delle metalloproteinasi e della collagenasi [64]. Durante la gravidanza, stress ormonali acuti o cronici o episodi infettivi o altri fattori causali (stress ossidativo, emorragia) possono alterare l'equilibrio delle citochine, determinando una virata verso la cascata infiammatoria che coinvolge la produzione di citochine coinvolte nell'aumento di contrattilità uterina e nella rottura delle membrane [65]. Un recente studio di laboratorio caso-controllo ha dimostrato per la prima volta la presenza di lesioni simil endometriotiche a livello coriodecduale delle membrane fetali. Le membrane fetali delle pazienti affette da endometriosi presentavano una componente ghiandolare nello strato coriodecduale circondato da cellule decidualizzate allargate disseminate su tutta la superficie delle membrane. Si ipotizza quindi che la presenza di lesioni endometriotiche nello strato coriodecduale delle membrane possa alterare l'integrità anatomica e/o la funzionalità delle membrane [66]. Su 20 pazienti che hanno ottenuto una gravidanza spontanea, 4 (20%) hanno avuto un aborto nel I trimestre. Tale incidenza è in linea con quella della popolazione generale. Tuttavia vale la pena sottolineare che un recente studio [54]

ha messo in evidenza che le pazienti con abortività ricorrente presentavano un ispessimento dello spessore massimo della zona giunzionale. In effetti si evince dallo studio che la zona giunzionale potrebbe giocare un ruolo chiave nelle pazienti con storia di abortività ripetuta. Già precedenti studi su pazienti che si sottoponevano a fecondazione in vitro avevano dimostrato che l'aumento di spessore della zona giunzionale poteva rappresentare un'indicazione di rischio di possibile insuccesso nell'impianto [67,68]. Si pensa infatti che lo spessore aumentato della zona giunzionale determini una peristalsi uterina anomala che può provocare un fallimento nell'impianto. Inoltre sembra che le caratteristiche della zona giunzionale possano influenzare il successo della gravidanza attraverso la regolazione della invasione trofoblastica. Una zona giunzionale spessa può indurre una infiammazione locale mediata da citochine e prostaglandine. Studi in vitro hanno evidenziato che lo stiramento ciclico delle cellule endometriali aumenta la secrezione di citochine proinfiammatorie [69]. Un altro dato interessante che si evince dall'analisi dei nostri risultati è il tasso di tagli cesarei. Nella nostra casistica infatti sono stati effettuati 5 tagli cesarei vs 10 parti spontanei. Un' aumentata incidenza di tagli cesarei prima del travaglio nelle pazienti con endometriosi è stata riscontrata in diversi studi [45,63,70]. Uno studio pubblicato nel 2016 che analizza le complicanze ostetriche di 200 pazienti con endometriosi riscontra che il 68% delle pazienti espleta il parto mediante taglio cesareo. Questo alto tasso di tagli cesarei, spiegano gli autori, può essere spiegato con l'alto tasso di complicanze insorte durante la gravidanza. Inoltre gli stessi autori evidenziano la necessità di chirurghi esperti per effettuare tale tipo di intervento nelle pazienti con endometriosi [71].

Il nostro studio e' tra i primi in letteratura che valuta le alterazioni della zona giunzionale nelle pazienti affette da adenomiosi /endometriosi, in cerca di una gravidanza, seguendo i nuovi criteri MUSA [49]. Il nostro studio e' il primo che analizza in maniera prospettica le complicanze ostetriche di tali pazienti, con alterazioni della zona giunzionale.

I limiti di questo studio sono prima di tutto la mancanza di un gruppo di controllo. Il fatto che lo studio si sia svolto prevalentemente durante l'attivita' ambulatoriale del Centro di Endometriosi e dolore pelvico cronico, avrebbe reso difficile, in termini di tempo, coinvolgere anche pazienti senza endometriosi/adenomiosi ed effettuare loro l'indagine ecografica per lo studio della zona giunzionale e successivamente seguire le eventuali gravidanza negli ambulatori della nostra clinica. Pertanto si e' deciso di condurre tale studio concentrandoci sulle pazienti afferenti ai nostri ambulatori, affette ad adenomiosi ed endometriosi pelvica. Un altro limite e' stato non prendere in considerazione a livello anamnestico la precedente chirurgia per endometriosi. Questo fattore che secondo alcuni autori potrebbe comunque avere un peso sulle complicanze della gravidanza non lo abbiamo tenuto in considerazione. Abbiamo invece deciso di analizzare in maniera prospettica solamente le gravidanze insorte spontaneamente per evitare il bias dell'analisi delle complicanze nelle gravidanza insorte mediante fecondazione assistita.

Per concludere quindi dagli studi della letteratura e dai nostri risultati, sembra che le pazienti affette da endometriosi/adenomiosi con alterazioni della zona giunzionale siano a rischio di complicanze ostetriche. Sembra quindi che la valutazione della zona giunzionale dal punto di vista qualitativo e quantitativo, mediante ricostruzione

ecografica 3D, possa essere utile nell'ambito delle indagini preconcezionali delle pazienti affette da endometriosi/adenomiosi. Tali pazienti necessitano quindi di un counselling adeguato a livello preconcezionale, di essere seguite presso centri di riferimento e di un attento monitoraggio durante la gravidanza.

## *BIBLIOGRAFIA*

1. Clement PB. Pathology of endometriosis. *Pathol Annu* 1990; 25 Pt 1: 245-95.
2. Child TJ, Tan SL. Endometriosis: aetiology, pathogenesis and treatment. *Drugs* 2001; 61: 1735-50.
3. Rice VM. Conventional medical therapies for endometriosis. *Ann N Y Acad Sci* 2002; 955: 343-52; discussion 89-93, 96-406.
4. Valle RF, Sciarra JJ. Endometriosis: treatment strategies. *Ann N Y Acad Sci* 2003; 997: 229-39.
5. Veeraswamy A, Lewis M, Mann A, et al. Extragenital endometriosis. *Clin Obstet Gynecol* 2010; 53: 449-66.
6. Huang HY. Medical treatment of endometriosis. *Chang Gung Med J* 2008; 31: 431-40.
7. Giudice LC. Clinical practice. Endometriosis. *The New England Journal of Medicine* 2010; 362: 2389-98.
8. Endometriosis Research Center. Understanding endometriosis: past, present and future. The National Women's Health Information Council 2005.
9. Ozawa Y, Murakami T, Terada Y, et al. Management of the pain associated with endometriosis: an update of the painful problems. *Tohoku J Exp Med* 2006; 210: 175-88.
10. Cramer DW, Missmer SA. The epidemiology of endometriosis. *Annals of the New York Academy of Sciences* 2002; 955: 11-22; discussion 34-6, 396-406-11-22; discussion 34-36, 396-406.

11. Hemmings R, Rivard M, Olive DL, et al. Evaluation of risk factors associated with endometriosis. *Fertil Steril* 2004; 81: 1513-21.
12. Endometriosis 2009 Annual Evidence Update Women's Health Specialist Library
13. Gould D. Endometriosis. *Nurs Stand* 2003; 17: 47-53; quiz 4-5.
14. Signorile PG, Baldi A. Endometriosis: new concepts in the pathogenesis. *Int J Biochem Cell Biol* 2010; 42: 778-80.
15. Nisolle M, Alvarez ML, Colombo M, Foidart JM. Pathogenesis of endometriosis. *Gynecol Obstet Fertil* 2007; 35: 898-903.
16. Chapron C, Chopin N, Borghese B, et al. Surgical management of deeply infiltrating endometriosis: an update. *Ann N Y Acad Sci* 2004; 1034: 326-37
17. Chapron C, Chopin N, Borghese B, et al. Deeply infiltrating endometriosis: pathogenetic implications of the anatomical distribution. *Hum Reprod* 2006; 21: 1839-45.
18. Chapron C, Fauconnier A, Vieira M, et al. Anatomical distribution of deeply infiltrating endometriosis: surgical implications and proposition for a classification. *Hum Reprod* 2003; 18: 157-61.
19. Vercellini P, Frontino G, Pisacreta A, et al. The pathogenesis of bladder detrusor endometriosis. *Am J Obstet Gynecol* 2002; 187: 538-42.
20. Testut L. *Traité d'anatomie topographique avec applications médico-chirurgicales*. In: Latarjet A (ed) *Traité d'anatomie humaine*. 1931 Doin, Paris, France.
21. Seracchioli R, Manuzzi L, Mabrouk M, et al. A multidisciplinary, minimally invasive approach for complicated

- deep infiltrating endometriosis. *Fertil Steril* 2010; 93: 1007.e1-3.
22. Crosignani PG, Olive D, Bergqvist A, Luciano A. Advances in the management of endometriosis: an update for clinicians. *Human Reproduction Update* 2006; 12: 179-189.
23. Child TJ, Tan SL. Endometriosis: aetiology, pathogenesis and treatment. *Drugs* 2001; 61: 1735-50.
24. Milingos S, Protopaps A, Drakakis P, Liapi A, Loutradis D, Kallipolitis G, Milingos D and Michalakis S. Laparoscopic management of patients with endometriosis and chronic pelvic pain. *Ann N Y Acad Sci* 2003; 997: 269-273
25. Chapron 2002 Chapron C, Vercellini P, Barakat H, Vieira M, Dubuisson JB. Management of ovarian endometriomas. *Hum Reprod Update*. 2002 Nov-Dec;8(6):591-7. Review.
26. Moore J, Copley S, Morris J, Lindsell D, Golding S, Kennedy S. A systematic review of the accuracy of ultrasound in the diagnosis of endometriosis. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2002 Dec;20(6):630-4
27. Hsu AL, Khachikyan I, Stratton P. Invasive and noninvasive methods for the diagnosis of endometriosis. *Clin Obstet Gynecol*. 2010 Jun;53(2):413-9.
28. Kinkel K, Frei KA, Balleyguier C, Chapron C. Diagnosis of endometriosis with imaging: a review. *Eur Radiol*. 2006 Feb;16(2):285-98. Review.
29. Seracchioli R, Poggioli G, Pierangeli F, Manuzzi L, Gualerzi B, Savelli L, Remorgida V, Mabrouk M, Venturoli S. Surgical outcome and long-term follow up after laparoscopic

- rectosigmoid resection in women with deep infiltrating endometriosis. *BJOG*. 2007 Jul;114(7):889-95.
30. Kennedy S, Bergqvist A, Chapron C, et al. ESHRE guideline for the diagnosis and treatment of endometriosis. *Hum Reprod* 2005; 20: 2698-2704.
  31. Ferenczy A., Pathophysiology of adenomyosis. *Hum Reprod Update* 1998; 4: 312-322
  32. Naftalin J, Hoo W, Pateman K, Mavrellos D, Holland T, Jurkovic D. How common is adenomyosis? A prospective study of prevalence using transvaginal ultrasound in a gynaecology clinic. *Hum Reprod*. 2012 Dec;27(12):3432-9.
  33. AL. Valentini, S. Speca, B. Gui, B.G. Soglia, M. Miccò, L. Bonomo Adenomyosis: from the sign to the diagnosis. *Imaging, diagnostic pitfalls Radiol Med* 2011, 116: 1267-1287.
  34. Sakhel K, Abuhamad A. Sonography of adenomyosis. *J Ultrasound Med*. 2012 May;31(5):805-8.
  35. Dueholm M Transvaginal ultrasound for diagnosis of adenomyosis: a review. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2006, 20:569–682.
  36. Reinhold C, Tafazoli F, Mehio A, Wang L, Atri M, Siegelman ES, Rohoman L. Uterine adenomyosis: endovaginal US and MR imaging features with histopathologic correlation. *Radiographics*. 1999;19 Spec No:S147-60.
  37. Fusi L, Cloke B, Brosens J The uterine junctional zone *Best practice & research clinical obstetrics and gynaecology*. 2006; 20 (4): 479-491.
  38. Brosens I, Derwig I, Brosens J, Fusi L, Benagiano G, Pijnenborg R. The enigmatic uterine junctional zone: the

- missing link between reproductive disorders and major obstetrical disorders? *Hum Reprod.* 2010;25(3):569-74.
39. Arias F, Victoria A, Cho K, Kraus F Placental histology and clinical characteristics of patients with preterm premature rupture of membranes. *Obstet Gynecol* 1997; 89(2):265–271
40. Kim YM, Bujold E, Chaiworapongsa T, Gomez R, Yoon BH, Thaler HT, Rotmensch S, Romero R Failure of physiologic transformation of the spiral arteries in patients with preterm labor and intact membranes. *Am J Obstet Gynecol* 2003; 189(4):1063–1069
41. Brosens I, Pijnenborg R, Vercruysse L, Romero R The “Great Obstetrical Syndromes” are associated with disorders of deep placentation. *Am J Obstet Gynecol* 2011; 204:193–201
42. Devlieger R, D’Hooghe T, Timmerman D Uterine adenomyosis in the infertility clinic. *Hum Reprod Update* 2003; 9(2):139–147
43. Landi S, Mereu L, Pontrelli G, Stepniewska A, Romano L, Tateo S, Dorizzi C, Minelli L The influence of adenomyosis in patients laparoscopically treated for deep endometriosis. *J Minim Invasive Gynecol* 2008; 15(5):566–570
44. Falconer H. Pregnancy outcomes in women with endometriosis. *Semin Reprod Med.* 2013;31(2):178-82
45. Stephansson O, Kieler H, Granath F, Falconer H. Endometriosis, assisted reproduction technology, and risk of adverse pregnancy outcome. *Hum Reprod* 2009;24(9):2341–2347

46. Naftalin J, Jurkovic D. The endometrial-myometrial junction: a fresh look at a busy crossing. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2009; 34: 1–11.
47. Novellas S, Chassang M, Delotte J, Toullalan O, Chevallier A, Bouaziz J, Chevallier P. MRI characteristics of the uterine junctional zone: from normal to the diagnosis of adenomyosis. *AJR Am J Roentgenol*. 2011 ;196(5):1206-13.
48. Dueholm M, Lundorf E, Hansen ES, Sorensen JS, Ledertoug S, Olesen F. Magnetic resonance imaging and transvaginal ultrasonography for the diagnosis of adenomyosis. *Fertil Steril* 2001; 76: 588–594
49. Van den Bosch T, Dueholm M, Leone FP, Valentin L, Rasmussen CK, Votino A, Van Schoubroeck D, Landolfo C, Installé AJ, Guerriero S, Exacoustos C, Gordts S, Benacerraf B, D'Hooghe T, De Moor B, Brölmann H, Goldstein S, Epstein E, Bourne T, Timmerman D. Terms, definitions and measurements to describe sonographic features of myometrium and uterine masses: a consensus opinion from the Morphological Uterus Sonographic Assessment (MUSA) group. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2015 Sep;46(3):284-98.
50. Exacoustos C1, Brienza L, Di Giovanni A, Szabolcs B, Romanini ME, Zupi E, Arduini D. Adenomyosis: three-dimensional sonographic findings of the junctional zone and correlation with histology. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2011 Apr;37(4):471-9.
51. Di Donato N, Bertoldo V, Montanari G, Zannoni L, Caprara G, Seracchioli R. Question mark form of uterus: a simple

- sonographic sign associated with the presence of adenomyosis. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2015 Jul;46(1):126-7.
52. Brosens IJ, Pijnenborg R, Benagiano G. Defective myometrial spiral artery remodelling as a cause of major obstetrical syndromes in endometriosis and adenomyosis. *Placenta.* 2013 Feb;34(2):100-5.
53. Kunz G, Herbertz M, Beil D, Huppert P, Leyendecker G. Adenomyosis as a disorder of the early and late human reproductive period. *Reprod Biomed Online.* 2007 Dec;15(6):681-5.
54. Lazzarin N, Exacoustos C, Vaquero E, De Felice G, Manfellotto D, Zupi E. Uterine junctional zone at three-dimensional transvaginal ultrasonography in patients with recurrent miscarriage: a new diagnostic tool? *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2014 Mar; Epub 2013 Dec 30.
55. Luciano DE, Exacoustos C, Albrecht L, LaMonica R, Proffer A, Zupi E, Luciano AA. Three-dimensional ultrasound in diagnosis of adenomyosis: histologic correlation with ultrasound targeted biopsies of the uterus. *J Minim Invasive Gynecol.* 2013 Nov-Dec;20(6):803-10.
56. Brosens I, Derwig I, Brosens J, Fusi L, Benagiano G, Pijnenborg R. The enigmatic uterine junctional zone: the missing link between reproductive disorders and major obstetrical disorders? *Hum Reprod.* 2010 Mar;25(3):569-74.
57. Brosens IAJ, De Sutter P, Hamerlynck T, Imeraj L, Yao Z, Cloke B, Brosens JJ, Dhont M. Endometriosis is associated with a decreased risk of pre-eclampsia. *Hum Reprod.* 2007 Jun;22(6):1725-9.

58. Stephansson O, Kieler H, Granath F, Falconer H. Endometriosis, assisted reproduction technology, and risk of adverse pregnancy outcome. *Hum Reprod.* 2009; 24: 2341-7.
59. Hadfield RM1, Lain SJ, Raynes-Greenow CH, Morris JM, Roberts CL. Is there an association between endometriosis and the risk of pre-eclampsia? A population based study. *Hum Reprod.* 2009 Sep;24(9):2348-52.
60. Harada T, Taniguchi F, Onishi K, Kurozawa Y, Hayashi K, Harada T. Obstetrical Complications in Women with Endometriosis: A Cohort Study in Japan.; Japan Environment & Children's Study Group. *PLoS One.* 2016 Dec 22;11(12).
61. Brosens I, Brosens JJ, Fusi L, Al-Sabbagh M, Kuroda K, Benagiano G. Risks of adverse pregnancy outcome in endometriosis. *Fertil Steril.* 2012 Jul; 98(1):30±35.
62. Stephansson O, Kieler H, Granath F, Falconer H. Endometriosis, assisted reproduction technology, and risk of adverse pregnancy outcome. *Hum Reprod.* 2009; 24: 2341-7
63. Leyendecker G, Kunz G, Herbertz M, Beil D, Huppert P, Mall G, Kissler S, Noe M, Wildt L. Ann N Y Uterine peristaltic activity and the development of endometriosis *Acad Sci.* 2004 Dec;1034:338-55.
64. Vadillo-Ortega F1, Estrada-Gutiérrez G. Role of matrix metalloproteinases in preterm labour. *BJOG.* 2005 Mar;112 Suppl 1:19-22.
65. Challis JR, Lockwood CJ, Myatt L, Norman JE, Strauss JF, Petraglia F. Inflammation and pregnancy. *Reprod Sci* 2009;16:206–15.

66. Marcellin L, Santulli P, Gogusev J, Lesaffre C, Jacques S, Chapron C, Goffinet F, Vaiman D, Méhats C Endometriosis also affects the decidua in contact with the fetal membranes during pregnancy *Hum Reprod.* 2015 Feb;30(2):392-405.
67. Maubon A, Faury A, Kapella M, Magalie P, Pive P. Uterine junctional zone at magnetic resonance imaging: a predictor of in vitro fertilization implantation failure. *J Obstet Gynaecol Res* 2010;3:611–8
68. Kunz G, Beil D, Arch C. Characterization of the uterine junctional zone prior to IVF/ICSI: an observational study. *Gynecol Obstet* 2010; 281:945–53.
69. Harada M, Osuga Y, Hirota Y, et al. Mechanical stretch stimulates interleukin-8 production in endometrial stromal cells: possible implications in endometrium-related events. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:34–7.
70. Romundstad LB, Romundstad PR, Sunde A, von Düring V, Skjaerven R, Vatten LJ. Increased risk of placenta previa in pregnancies following IVF/ICSI; a comparison of ART and non-ART pregnancies in the same mother. *Hum Reprod.* 2006;21(9):2353-8.
71. Exacoustos C, Lauriola I, Lazzeri L, De Felice G, Zupi E Complications during pregnancy and delivery in women with untreated rectovaginal deep infiltrating endometriosis *Fertil Steril.* 2016 Oct;106(5):1129-1135.