www.medicalsystems.it

ISSN 0394 3291

Caleidoscopio
Italiano

Giuliano Dall'Olio, Antonio Fortunato

Il laboratorio nella diagnosi di gravidanza

Dal papiro di Carlsberg all'immunometria

Direttore Responsabile
Sergio Rassu

234

... il futuro ha il cuore antico

MEDICAL SYSTEMS SpA

Tariffa R.O.C.: "Poste Italiane S.p.a. - Sped. in A.P. - D.L. 353/2003, (conv. in L. 27/02/2004 n. 46) art. 1 comma 1, DCB Genova" - n° 233 Settembre 2015 - Dir. resp.: Sergio Rassu - Editore: Medical Systems S.p.A. Genova - Contiene I.P. - Stampa: Nuova AATA - Genova

RESTLESS ARCHITECT OF HUMAN POSSIBILITIES S.A.S. (R.A.H.P. SAS)

..... dalla Pedagogia all'Andragogia

Costituita il 25 Febbraio 2002
Iscritta alla Camera di Commercio con numero
di Repertorio Economico Amministrativo 140196 in data 7 Marzo 2002

RESTLESS ARCHITECT OF HUMAN POSSIBILITIES

Sede Legale: Via Pietro Nenni n. 6 – 07100 Sassari - Tel. 079274573 – Fax 079274573
Segreteria operativa: Via Leonardo Alagon, 9 – 07100 Sassari
Sede Formazione Sardegna: V.le Caprera n. 1/c – 07100 Sassari
e-mail: rahp80@yahoo.it
P.IVA 01991360908 - CF 01991360908

www.medicalsystems.it

ISSN 0394 3291

Caleidoscopio Italiano

Giuliano Dall'Olio, Antonio Fortunato

Laboratorio di Chimica Clinica ed Ematologia
Ospedale "S. Bortolo" - Vicenza

Il laboratorio nella diagnosi di gravidanza

Dal papiro di Carlsberg all'immunometria

Direttore Responsabile
Sergio Rassu

234

... il futuro ha il cuore antico MEDICAL SYSTEMS SpA

Tariffa R.O.C.: "Poste Italiane S.p.a. - Sped. in A.P. - D.L. 353/2003, (conv. in L. 27/02/2004 n. 46) art. 1 comma 1, DCB Genova" - n° 233 Luglio 2015 - Dir. resp.: Sergio Rassu - Editore: Medical Systems S.p.A. Genova - Contiene I.P. - Stampa: Nuova AXIA - Genova

ISTRUZIONI PER GLI AUTORI

INFORMAZIONI GENERALI. Caleidoscopio pubblica lavori di carattere monografico a scopo didattico su temi di Medicina. La rivista segue i requisiti consigliati dall'International Committee of Medical Journal Editors. Gli Autori vengono invitati dal Direttore Responsabile. La rivista pubblica anche monografie libere, proposte direttamente dagli Autori, redatte secondo le regole della Collana.

TESTO. La monografia deve essere articolata in paragrafi snelli, di rapida consultazione, completi e chiari. I contenuti riportati devono essere stati sufficientemente confermati. E' opportuno evitare di riportare proprie opinioni dando un quadro limitato delle problematiche. La lunghezza del testo può variare dalle 60 alle 70 cartelle dattiloscritte ovvero 100-130.000 caratteri (spazi inclusi). Si invita a dattilografare su una sola facciata del foglio formato A4 con margini di almeno 25 mm. Usare dovunque doppi spazi e numerare consecutivamente. Ogni sezione dovrebbe iniziare con una nuova pagina.

FRONTESPIZIO. Deve riportare il nome e cognome dell'Autore(i) -non più di cinque- il titolo del volume, conciso ma informativo, la Clinica o Istituto cui dovrebbe essere attribuito il lavoro, l'indirizzo, il nome e l'indirizzo dell'Autore (compreso telefono, fax ed indirizzo di E-mail) responsabile della corrispondenza.

BIBLIOGRAFIA. Deve essere scritta su fogli a parte secondo ordine alfabetico seguendo le abbreviazioni per le Riviste dell'Index Medicus e lo stile illustrato negli esempi:

1) Björklund B., Björklund V.: Proliferation marker concept with TPS as a model. A preliminary report. J. Nucl. Med. Allied. Sci 1990 Oct-Dec, VOL: 34 (4 Suppl), P: 203.

2 Jeffcoate S.L. e Hutchinson J.S.M. (Eds): The Endocrine Hypothalamus. London. Academic Press, 1978.

Le citazioni bibliografiche vanno individuate nel testo, nelle tabelle e nelle legende con numeri arabi tra parentesi.

TABELLE E FIGURE. Si consiglia una ricca documentazione iconografica (in bianco e nero eccetto casi particolare da concordare). Figure e tabelle devono essere numerate consecutivamente (secondo l'ordine di citazione nel testo) e separatamente; sul retro delle figure deve essere indicato l'orientamento, il nome dell'Autore ed il numero. Le figure realizzate professionalmente; è inaccettabile la riproduzione di caratteri scritti a mano libera. Lettere, numeri e simboli dovrebbero essere chiari ovunque e di dimensioni tali che, se ridotti, risultino ancora leggibili. Le fotografie devono essere stampe lucide, di buona qualità. Gli Autori sono responsabili di quanto riportato nel lavoro e dell'autorizzazione alla pubblicazione di figure o altro. Titoli e spiegazioni dettagliate appartengono alle legende, non alle figure stesse. Su fogli a parte devono essere riportate le legende per le figure e le tabelle.

UNITÀ DI MISURA. Per le unità di misura utilizzare il sistema metrico decimale o loro multipli e nei termini dell'International system of units (SI).

ABBREVIAZIONI. Utilizzare solo abbreviazioni standard. Il termine completo dovrebbe precedere nel testo la sua abbreviazione, a meno che non sia un'unità di misura standard.

PRESENTAZIONE DELLA MONOGRAFIA. I files del testo in formato .doc oppure .rtf, delle fotografie, dei grafici e delle figure in formato .jpeg con una risoluzione di almeno 240 dpi devono essere spediti per posta elettronica al Direttore Responsabile con lettera di accompagnamento. Dopo la valutazione espressa dal Direttore Responsabile, la decisione sulla eventuale accettazione del lavoro sarà tempestivamente comunicata all'Autore. Il Direttore responsabile deciderà sul tempo della pubblicazione e conserverà il diritto usuale di modificare lo stile del contributo; più importanti modifiche verranno eventualmente fatte in accordo con l'Autore. I manoscritti e le fotografie se non pubblicati non si restituiscono.

L'Autore riceverà le bozze di stampa per la correzione e sarà Sua cura restituirle al Direttore Responsabile entro cinque giorni, dopo averne fatto fotocopia. Le spese di stampa, ristampa e distribuzione sono a totale carico della Medical Systems che provvederà a spedire all'Autore cinquanta copie della monografia.

L'Autore della monografia cede tutti i pieni ed esclusivi diritti sulla Sua opera, così come previsti dagli artt. 12 e segg. capo III sez. I L. 22/4/1941 N. 633, alla Rivista Caleidoscopio rinunciando agli stessi diritti d'autore (ed acconsentendone il trasferimento ex art. 132 L. 633/41).

Tutta la corrispondenza deve essere indirizzata al seguente indirizzo e-mail: rahp80@yahoo.it

Editoriale

Questa monografia ha un approccio del tutto originale al tema della diagnosi della gravidanza. Infatti, nello stesso volume vengono riuniti due aspetti diversi che difficilmente vengono trattati nello stesso contesto: questo storiografico e quello più strettamente tecnico di interesse del Patologo clinico o comunque di chi è oggi interessato ai recenti sviluppi della diagnostica precoce della gravidanza. Il risultato è un affascinante viaggio nel tempo e nella storia della medicina così ricca e preziosa ed allo stesso tempo un aggiornamento di quanto oggi possiamo disporre per la diagnosi di gravidanza realizzato dai due Autori d elevato spessore culturale e scientifico.

Il dottor Giuliano Dall'Olio consegue la Laurea in Chimica e la specializzazione in Chimica Nucleare presso l'Università di Padova.

Ricopre il ruolo di Ricercatore presso il Laboratorio di Chimica e Tecnologia dei Radioelementi del C.N.R. di Padova dove si occupa di alcune ricerche sulla chimica dello ione uranile pubblicate su riviste internazionali.

Diventa quindi Dirigente Chimico presso il Laboratorio di Chimica clinica ed Ematologia dell'Ospedale S. Bortolo di Vicenza dove, come responsabile del settore di Farmacologia e Tossicologia, si dedica in particolare alla determinazione delle droghe d'abuso su varie matrici biologiche. Ottiene un incarico di alta specializzazione.

Dal 1984 al 1994 ottiene incarichi di insegnamento di: "Chimica Generale ed Organica", "Strumentazione speciale e protezionistica", "Tecniche di chimica analitica", "Tecniche di chimica clinica", nei Corsi Regionali triennali per "Tecnico di Laboratorio Medico", "Tecnici di Radiologia Medica" e "Infermieri Professionali".

Incarichi universitari di insegnamento in qualità di professore a contratto.

- Università degli studi di Verona, Facoltà di Medicina e Chirurgia. DU "Tecnico di Laboratorio Biomedico": insegnamento di "Metodologie di Monitoraggio dei Farmaci" (md); DU per "Laurea in Infermieristica": insegnamento di "Chimica e propedeutica Biochimica".

- Università degli studi di Padova, sede di Vicenza. Corso di laurea "Tecniche di laboratorio biomedico". Insegnamenti di: "Tecniche di Farmacologia e Tossicologia"; "Chimica generale inorganica" ; insegnamento di alta qualificazione di "Storia della Medicina di Laboratorio".

Attualmente ha l'incarico di docenza a contratto di "Chimica generale e inorganica" nel corso di laurea "Tecniche di laboratorio biomedico", sede di Vicenza.

Membro del Comitato Editoriale de "La Rivista Italiana della Medicina di

Laboratorio", rivista ufficiale della Società Italiana di Patologia Clinica e Medicina di Laboratorio, e del "Gruppo Nazionale di Fondamenti e Storia della Chimica".

Attività scientifica: pubblicazioni di Tossicologia e Storia della Medicina di Laboratorio. Relatore in corsi di formazione e convegni.

Il dottor Antonio Fortunato ha conseguito la laurea in Scienze Biologiche, ottenendo il massimo dei voti e la lode, presso l'Università agli Studi di Padova il 5 Novembre 1980. Dal 1984 ad oggi presta servizio presso il Laboratorio di Chimica Clinica ed Ematologia dell'Ospedale "S. Bortolo" di Vicenza (Azienda ULSS 6 – Regione Veneto) con la qualifica di Dirigente Biologo. È responsabile della sezione di Radioimmunologia ed Immunometria. Nel corso di questa attività (incarico di Responsabile di Settore Organizzativo dal 1999) ha prestato particolare attenzione alle più recenti tecniche di dosaggio non isotopico ed all'evolversi dei sistemi di automazione in questo particolare tipo di analisi. Dal dicembre 2007 ricopre l'incarico di "alta specializzazione in immunometria". Attualmente è incaricato, in qualità di professore a contratto, per l'insegnamento di "Biochimica clinica e biologia molecolare clinica" SSD: BIO/12 e per l'insegnamento di "Oncologia e tecniche di oncologia" SSD: MED/06 per il corso di laurea in Tecniche di Laboratorio Biomedico presso la sede di Vicenza dell'Università degli Studi di Padova.

È socio fondatore della Società Europea per l'Immunometria (ELAS) sezione italiana, attualmente è membro del Consiglio Direttivo e riveste l'incarico di vicepresidente e dal 2010 è membro eletto del Consiglio Direttivo Nazionale della SIBioC con incarico di Tesoriere.

È membro delle seguenti Società Scientifiche: *American Association for Clinical Chemistry* (AACC), Associazione Medici Endocrinologi (AME), *Endocrine Society*, Società Europea per l'Immunometria (ELAS) sezione italiana, Società Italiana di Biochimica Clinica e Biologia Molecolare (SIBioC), Società Italiana di Medicina di Laboratorio (SIMeL).

È componente del comitato di redazione di *Ligand Assay* (LA) e svolge attività di revisore per le riviste: *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* (CCLM), Biochimica Clinica (BC), *Ligand Assay* (LA), *Journal Biological Markers* (JBM), *Journal of Clinical Laboratory Analysis* (JCLA), Rivista Italiana della Medicina di Laboratorio – *Italian Journal of Laboratory Medicine* (RIMeL).

È componente della segreteria scientifica di convegni di rilevanza nazionale e della segreteria organizzativa e responsabile scientifico di convegni regionali

L'attività scientifica è esplicata nella produzione di numerose pubblicazioni su riviste nazionali ed internazionali, nella partecipazione a convegni in qualità di relatore e moderatore.

Sergio Rassu

Introduzione

La possibilità di diagnosticare lo stato di gravidanza prima della comparsa dei segni clinici sicuri, per i quali si doveva attendere fino al secondo o terzo mese di gestazione, è stato un argomento che ha interessato i medici fin dai tempi più remoti, non solo per motivi clinici, ma per una enorme quantità di ragioni, sociali, legali e politiche, stimolandoli alla ricerca di supporti a conferma delle loro previsioni.

Importante nell'antichità, soprattutto nelle classi sociali più abbienti, sapere il prima possibile se era assicurata la successione di un ricco mercante, di un nobile, di un sovrano. La prospettiva della nascita di un erede poteva avere risvolti economici e sociali rilevanti. Ma anche per la gente del popolo conoscere precocemente lo stato di gestazione della propria consorte era una curiosità a cui pochi sapevano sottrarsi.

I medici di corte, i medici di campagna, le levatrici, gli uromanti, gli indovini erano quindi spesso interpellati per confermare o smentire una probabile gravidanza.

La ricerca di "segni" che potessero essere di aiuto nella non facile diagnosi precoce di maternità, o addirittura prognosticare la fertilità della coppia o il sesso del nascituro, è stata una costante che ha accompagnato da sempre il percorso della medicina poiché era fonte di guadagno per tutti, e da un responso azzeccato o errato poteva dipendere la "carriera" di quanti, in qualche modo, si occupavano di medicina ed in particolare di ostetricia e ginecologia.

Questi interrogativi, nelle epoche più lontane, potevano essere affrontati alla luce delle poche conoscenze di medicina e con mezzi praticamente inesistenti, certamente non sufficienti a dare risposte alla complessità delle domande, per cui le molte "ricette" e metodi di sostegno alle diagnosi si basavano prevalentemente su pratiche empiriche, su esercizi di scienze occulte, astrologia, numerologia, sogni, e su credenze e consuetudini popolari. Alcuni test però avevano qualche fondamento scientifico in quanto derivavano, fin dall'epoca egizia, dagli studi di seri e dotti medici ed anche dalle osservazione delle levatrici, che operavano in questo campo molto di più degli ostetrici, e che si erano tramandate, con poche variazioni, per millenni.

Gli innumerevoli tentativi di sviluppare metodi affidabili non ebbero successo per migliaia di anni. I primi saggi di laboratorio attendibili si avranno solo nei primi decenni del Novecento quando l'orientamento sperimentale delle ricerche nel campo della biologia ed i conseguenti progressi della biochimica e della strumentazione analitica offrivano "*più razionali indirizzi*

di ricerca per la realizzazione della diagnosi di laboratorio della gravidanza" (1). In quell'epoca la diagnosi precoce era particolarmente utile poichè gli sviluppi della medicina potevano porre rimedio a situazioni cliniche difficili, a circostanze sociali imbarazzanti ed essere di aiuto alla medicina legale. "*Basti infatti ricordarne l'importanza in vista dell'eventuale provocazione dell'aborto nelle donne con gravi malattie cardiache o renali o con tubercolosi polmonare grave; il valore decisivo che ha talvolta l'accertamento della gravidanza incipiente per l'effettuazione di un matrimonio; la necessità per il medico pratico di fare al più presto nei casi dubbi la diagnosi differenziale tra gravidanza e mioma molle, fra gravidanza extrauterina e tumore o stato infiammatorio degli annessi o infine fra gravidanza in utero normale o gravidanza in utero con mioma (…)*" (Cuboni, 1935). (1-3).

A partire poi dalla seconda metà del secolo i progressi in questo campo sono stati vertiginosi arrivando in pochi anni alle sofisticate determinazioni immunometriche (1-5).

Uroscopia

Come strumento primario nelle diagnosi delle malattie era utilizzato, fin dalla più remota antichità, quell'abbondante fluido dell'organismo umano che da alcuni medici venne definito il "*fluido divino*" o "*la finestra del corpo*": l'urina.

La diagnosi avveniva attraverso la osservazione dell'urina rilevandone il colore, la densità, la quantità emessa, la presenza di sedimento, il tipo di sedimento, l'odore e, a volte, anche il sapore. Tale esame veniva definito ispezione e la scienza che ne insegnava i segreti era chiamata *uroscopia* e *uroscopi* o *uromanti* coloro che la professavano (6,7). La pratica di associare cambiamenti nell'urina con la malattia si sviluppò nelle antiche culture degli Egiziani, Persiani, e in altre non ben documentate, ed il sapere e le procedure in questo campo verranno acquisite ed utilizzate dai medici greci, romani, arabi, del Medioevo, del Rinascimento, dell'Età dei Lumi e fino alla fine del XVIII secolo senza modifiche di rilievo (8,9).

Per raccogliere ed esaminare l'urina veniva utilizzato un vaso di vetro di forma particolare: la "*matula*" (10) (Figura 1).

Figura 1. Osservazione del campione di urina nella* matula *nel medioevo.

Come aiuto alla pratica dell'uroscopia furono pubblicate numerose bellissime tavole dove erano riprodotte *matule* contenenti urine di diverse tonalità di colore ed il corrispondente giudizio medico con cui confrontare il campione in esame (Figura 2).

Figura 2. Tavola comparativa per il confronto delle urine esaminate.

Usata da medici seri, l'uroscopia fu per secoli una procedura razionale basata sulla fisiologia e patologia umorale.

Ci furono anche praticanti senza scrupoli, cerusici, ciarlatani, farmacisti, trovatori itineranti, che approfittarono della ignoranza e ingenuità della masse. Misticismo, ciarlataneria e astrologia entrarono in queste procedure. Questi uromanti, nelle piazze, nei mercati, nelle fiere, diagnosticavano tutti i tipi di malattia ed anche la gravidanza, il sesso del nascituro, e predicevano eventi futuri dalla semplice ispezione delle urine.

La loro influenza portò a scoraggiare e screditare gli onesti professionisti (11-15).

I test di gravidanza, fertilità, e predizione del sesso

Dagli Egizi al secolo XIX

Anche in questi test il liquido biologico più utilizzato fin dai tempi più remoti era l'urina, ma la sua semplice osservazione solo raramente veniva usata per indagare il processo di formazione di un essere umano prima della sua nascita o addirittura predire il sesso, solo i ciarlatani si spingevano a tanto. L'urina, per dare delle risposte a questi quesiti, veniva invece utilizzata in prove che, rispetto all'uroscopia, potremmo definire "indirette". Si usava l'urina di donne o animali, che si supponeva fossero gravidi, per annaffiare i semi di differenti cereali e dagli effetti che questa produceva sulla loro germinazione venivano tratte conclusioni sulla effettiva gravidanza, sulla sterilità e sul sesso del nascituro (Figura 3).

Figura 3. Il parto nell'antico Egitto.

Nei papiri egizi si trovano metodi dove si usavano anche liquidi biologici come sangue o latte, e altre saggi frutto di osservazione delle mutazioni del corpo della donna durante la gravidanza o degli effetti delle fumigazioni con sostanze aromatiche.

Gli Egizi

Gli antichi egiziani, senza conoscere il rapporto tra i fatti, avevano utilizzato queste osservazioni traendone interessanti conclusioni. Tali metodi furono sottoposti ad una più scientifica verifica quando, secoli più tardi, si seppe che gli ormoni follicolari favorivano la vegetazione.

Le testimonianze più antiche di ostetricia e ginecologia e dei metodi per accertare la gravidanza, il sesso del nascituro e la sterilità provengono quindi dall'Egitto.

Il lavoro degli archeologi ha portato alla luce antichissimi papiri, trovati nelle tombe dei medici egizi, che costituiscono una fonte importante per apprendere il loro sapere medico. Interpretazioni sempre più pertinenti fatte da egittologi con cognizioni di medicina portano a rivelazioni preziosissime su tutta la medicina antica ed in particolare sulle conoscenze di ostetricia e ginecologia con prescrizioni e ricette sui test di gravidanza, fertilità e prognostici sul sesso del nascituro.

Si possono limitare a quattro i papiri più interessanti in questo campo:

Papiro Kahun (detto anche papiro ginecologico)

Datato attorno al 2000 a.C. prende il nome dalla regione in cui fu ritrovato nel 1889 dall'egittologo e archeologo inglese William Flinders Petrie (1853-1942). Tradotto per la prima volta nel 1893 è conservato all'University College di Londra. E' il più antico testo medico conosciuto, purtroppo molto frammentato. Nei 35 paragrafi relativi alla salute femminile analizza principalmente argomenti ginecologici fra cui la fertilità, la maternità e la contraccezione.

Papiro Ebers

Risale al 1500 a.C. circa ed è il più corposo papiro medico conosciuto. Scritto in ieratico, contiene un grande numero di prescrizioni mediche, formule magiche e rimedi di vario genere. Prende il nome da Georg

Moritz Ebers (1837-1898), egittologo e romanziere tedesco, che lo aveva acquistato nel 1873 e nel 1874 pubblicava una trascrizione in caratteri latini. Fu tradotto in tedesco nel 1890. Ebers lasciò il suo papiro all'Università di Lipsia dove dal 1870 deteneva la cattedra di lingue e antichità egizie. Vi si trovano argomenti di dermatologia, malattie digestive, malattie traumatiche e numerose prescrizioni ginecologiche (Figura 4).

Grande papiro di Berlino

Scoperto dal mercante triestino Giuseppe Passalacqua (1797-1865) a Seqqara. Composto da 24 pagine è molto simile al papiro Ebers. Venduto a Federico Guglielmo IV di Prussia nel 1827, fu destinato al museo di Berlino. Tradotto in tedesco nel 1909 contiene le stesse prescrizioni del papiro ginecologico Kahun.

Papiro di Carlsberg

Viene fatto risalire dal suo traduttore, l'egittologo Erik Iversen (1909-2001) della Fondazione Carlsberg di Copenhagen, alla dodicesima dinastia (2000-1800 a.C.), ma poco si sa di esso. E' ospitato presso l'Istituto di Egittologia dell'Università di Copenhagen ed è di proprietà della Fondazione Carlsberg.

Figura 4. Papiro Ebers.

Tratta di malattie diverse ma si focalizza su quelle degli occhi e sulla gravidanza e in queste parti ha una struttura molto simile ai papiri Kahun e di Berlino.

Gli Egizi avevano dunque intuito che le urine degli animali in stato di gravidanza contenevano una o più sostanze che non erano presenti nelle femmine non gravide. Senza averne conoscenza avevano sfruttato per i loro esperimenti gli ormoni prodotti in gran quantità durante la gestazione ed eliminati attraverso le urine (16).

Nella traduzione del papiro di Berlino dell'egittologo Warren Royal Dawson (1888-1968) si trova quello che probabilmente è il più famoso e più citato saggio di gravidanza egiziano, noto come "test di germinazione":

"*Un altro test per una donna che partorirà o una che non partorirà.*
Metti dei semi di grano e di farro in due sacchetti con sabbia e datteri. Fai in modo che la donna li asperga ogni giorno con la sua urina. Se tutti e due germoglieranno ella partorirà. Se si sviluppa solo il grano avrà un maschio, se cresce solamente il farro una femmina. Se né l'uno né l'altro cresce non partorirà" (3,4,17-19).

Secondo Louis Rosenfeld della *New York University School of Medicine* questa prescrizione può essere considerata il primissimo "test chimico" sulle urine (11).

Vari autori, nei loro moderni laboratori, hanno riprodotto il test per verificarne i risultati.

Nel 1963 nel *Department of Plant Physiology of the National Research Centre* del Cairo, Paul Ghalioungui (1908-1987), endocrinologo egiziano, storico della medicina egizia, egittologo, e il ginecologo Ahmed Ammar, seguendo le indicazioni del testo tradotto da Warren Dawson, ripetono l'esperimento (4).

Il procedimento, i risultati e le conclusioni sono davvero interessanti.

Selezionano 48 campioni di urina: 2 di maschi, 6 di donne non gravide, 40 di donne gravide.

Pongono 50 semi di orzo e altrettanti di grano in capsule di Petri e vi aggiungono le urine usando acqua distillata come controllo. Le capsule sono tenute a 25°C per 3 - 5 giorni dopo di che viene contato il numero di semi germinati rilevando così la "percentuale di germinazione".

Non notano sviluppo alcuno nelle capsule con le urine di donne non gravide e con quelle dei maschi.

Le urine delle gestanti inibiscono la germinazione in solamente 12 casi su 40 (30%). Nei rimanenti 28 casi (70%) si rileva una crescita apprezzabile.

Concludono che quando avviene la crescita, l'urina è probabilmente quella di una donna incinta, ma non è necessariamente vero l'inverso e il sesso del nascituro non può essere predetto tal tipo di cereale che germoglia più rapidamente (4).

Altro fatto evidenziato dagli autori è che non sembra esserci concordanza fra gli egittologi nell'esprimere nella traduzione dall'egiziano i nomi dei cereali. Così mentre Dawson traduce il test collegando il grano ai bambini e il farro alle bambine, Erik Iversen assegna ai due sessi rispettivamente grano e orzo, e l'egittologo tedesco Herman Grapow (1885-1967) accoppia l'orzo ai bambini e il grano alle bambine. La diversità nelle traduzioni e nelle trascrizioni sarà un problema anche per i test riportati in epoche successive a quella egizia (4).

In nessun altro test descritto nei papiri si trovano cenni sulla predizione del sesso.

Anche la capacità delle urine di danneggiare alcune specie vegetali è stata la base di metodi per accertare la gestazione e la fertilità.

In un relativamente recente papiro (3° sec d.C.), scoperto a Tebe e tradotto da Francis Griffith (1862-1934) e Herbert Thompson (1859-1944) nel 1904, che contiene principalmente formule magiche e metodi di divinazione, è degno di nota il seguente passo:

"*Il mezzo per conoscere se una donna è gravida.*

Fai in modo che la donna faccia passare la sua urina su questa pianta erbacea [non specificata] *la sera. Se la mattina tu trovi la pianta inaridita ella non concepirà, se tu la trovi rigogliosa ella concepirà*" (17,20).

Dawson (17) e Iversen (21) considerarono questo metodo come una variante di un test di gravidanza già descritto nel papiro di Berlino senza sostanziali miglioramenti: l'urina delle gravide ha sempre un effetto favorevole sui vegetali.

Altri test di gravidanza e fertilità descritti nel papiro di Berlino e in altri papiri medici.

"*Per distinguere una donna che genererà da una che non genererà.*

*Metti un melone d'acqua [*b. *citrullus vulgaris,* cocomero*] tritato in conserva con il latte di una donna che ha partorito un figlio maschio. Fai una dose che dovrà essere inghiottita dalla donna in esame. Se vomita partorirà, se avrà eruttazioni non partorirà*" (papiro di Berlino).

Non è facile correlare il test con alcun segno noto, eccetto con la stimolazione della nausea mattutina (18).

Simile alla precedente è una prescrizione frammentaria del papiro di Carlsberg che ordina che la donna beva una mistura di datteri, vino e [… parte perduta del papiro ..]. Il vomito è segno positivo di gravidanza, mentre la flatulenza è segno negativo (19).

"*Lascia che lei vada a letto dopo che tu hai unto i suoi capezzoli, braccia e spalle con grasso fresco. La mattina la esamini. Se trovi la sua pelle verde chiaro, senza essere umida partorirà normalmente, (….), se la trovi verde scuro quando la esamini, partorirà con difficoltà*". Questo test oltre a confermare lo stato di gravidanza era evidentemente volto ad ottenere previsioni sull'andamento del parto dalla pigmentazione dei capezzoli o dalle increspature della pelle (papiro di Berlino) (18).

Un'altra curiosa prova tratta dal papiro medico Kahun si basava sulla osservazione del colore degli occhi: la donna doveva essere posta nel vano della porta della casa, probabilmente perché i suoi occhi potessero essere esaminati con una buona illuminazione, se uno era del colore della pelle di un negro e l'altro come la pelle di un asiatico, non era avvenuto il concepimento (18,19).

In questo altro singolare test, le indicazioni che venivano date al medico sono:

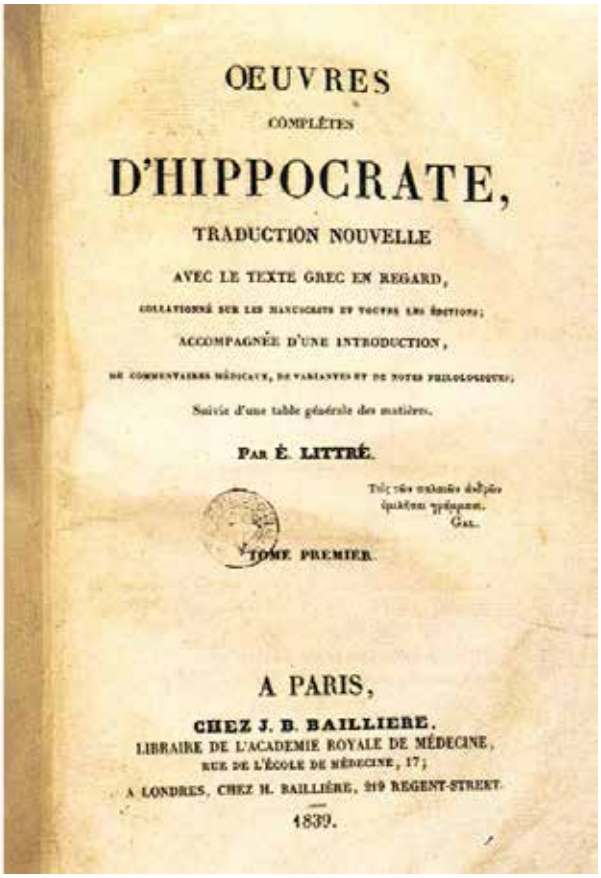
"*afferra le sue dita nella tua mano e tieni il suo braccio* […parte illeggibile …] *se le vene dentro il suo braccio battono contro la tua mano tu potrai dire: ella è incinta*" (papiro di Kahun) (18).

I metodi descritti nei papiri medici egizi vennero ricalcati dai Greci, alcuni nientemeno che da un'autorità come Ippocrate, e quindi passati agli Arabi e all'Europa medioevale. Il percorso di queste antichissime prescrizioni è stato studiato da Iversen, Dawson, Ebers (4).

Le Scuole Ippocratiche, la medicina di Roma

Molti commentatori hanno messo in evidenza che il *Corpus Hippocraticum* contiene test di fertilità e gravidanza molto simili a quelli trovati nei papiri medici Egizi[1]. Nella traduzione delle Opere complete di Ippocrate (1844) di Emile Littré (1801-1881) (Figura 5) si trovano i seguenti passi:

1 Le numerose imponenti opere attribuite alla scuola di Ippocrate (460 circa – 377 a.C.) e raccolte nella Collezione conosciuta come *Corpus Hippocraticum* non sono tutte di Ippocrate. La sua grande fama, gli fece attribuire i lavori medici di oltre un secolo e mezzo e sono in parte scritti da Ippocrate stesso e in parte da autori precedenti o allievi che seguirono i suoi dettami (22).



OEUVRES
COMPLÈTES
D'HIPPOCRATE,
TRADUCTION NOUVELLE
AVEC LE TEXTE GREC EN REGARD,
COLLATIONNÉ SUR LES MANUSCRITS ET TOUTES LES ÉDITIONS;
ACCOMPAGNÉE D'UNE INTRODUCTION,
DE COMMENTAIRES MÉDICAUX, DE VARIANTES ET DE NOTES PHILOLOGIQUES;
Suivie d'une table générale des matières.
PAR É. LITTRÉ.
Τοῖς τῶν πολλῶν δόξῃσι ἰητρικὴν γράφομεν.
GAL.
TOME PREMIER.
A PARIS,
CHEZ J. B. BAILLIÈRE,
LIBRAIRE DE L'ACADÉMIE ROYALE DE MÉDECINE,
RUE DE L'ÉCOLE DE MÉDECINE, 17;
A LONDRES, CHEZ H. BAILLIÈRE, 219 REGENT-STREET.
1839.

Figura 5. Ritratto di Emile Littré (1801-1881) e frontespizio della sua traduzione delle Opere complete di Ippocrate.

"(…) se desideri sapere se una donna concepirà, dalle da bere il mattino a stomaco vuoto del burro e latte di una donna che allatta un figlio maschio; se ella ha eruttazioni concepirà; altrimenti non concepirà" (19,23).

Un altro test Ippocratico indicava di somministrare alla donna una pozione di gesso rosso polverizzato e semi di anice [b. *pimpinella anisum*] la sera prima di coricarsi; se in seguito lamentava dolore intorno all'ombelico questo era un segno di gravidanza (19).

Ippocrate (Figura 6) in uno dei suoi aforismi riferiva un altro test:

Figura 6. Ippocrate di Coo (460-367 a.C.).

"*Se desideri conoscere se una donna è incinta, dalle da bere idromele quando ella sta andando a dormire senza aver cenato. Se nella notte lamenta coliche allo stomaco ella è incinta, altrimenti non lo è*" (18,19).

Oppure: "*se ella beve anice tritato in acqua e avverte prurito nella regione ombelicale, concepirà*" (19,21,23).

Un altro aforisma forniva indicazioni per un test di fertilità usando fumigazioni o pessari:

"*Se una donna non concepisce e tu vuoi sapere se concepirà, avvolgi la parte inferiore del suo corpo con uno scialle e brucia sotto di lei delle fragranze. Se il profumo passa attraverso il corpo* [fino] *alla bocca e alle narici, sei sicuro che la donna non è sterile a causa di un suo particolare difetto fisico*".

Alcuni di questi aforismi sulle fumigazioni sono attribuiti a discepoli di Ippocrate (18).

L'ipotizzato potere di un odore acre di penetrare nel corpo della donna attraverso il canale del parto è stato la base di un vasto gruppo di test di gravidanza e di fertilità.

E' generalmente accettato che gli aforismi rappresentino osservazioni di reali esperienze, ma questo test è una modifica di uno egizio perché basato sullo stesso principio: il trasferimento del profumo dalla regione genitale alla bocca e narici.

Tale procedura infatti si trova descritta in Egitto fin dalla 12ª dinastia (circa 2000 - 1800 a.C.). Iversen in una frammentaria prescrizione del papiro di Carlsberg ricava indicazioni in tal senso:

"Un bulbo di cipolla sia lasciato tutta la notte come un pessario; se il mattino l'odore di cipolla è nel fiato della donna ella partorirà" (19, 21, 23).

Indica anche la strettamente parallela prescrizione Ippocratica per un test di fertilità: *"Sbuccia lo strato esterno da un pezzo di aglio e, avvolto in batuffolo di lana o seta, applicalo come un pessario; se al mattino la donna sente il sapore di aglio, concepirà"* (19, 21, 23).

Il passaggio delle conoscenze dai Greci ai Romani si può supporre sia avvenuto attraverso le colonie greche della Sicilia.

Galeno (Pergamo 129 - Roma 200 circa) (Figura 7), che visse a Roma per più di cinquant'anni, accettò questi vari test di gravidanza dagli scritti Ippocratici e visto il suo duraturo influsso durante tutto il Medioevo fino al Rinascimento non è sorprendente ritrovarli in scritti medici posteriori.

Test di gravidanza, predizione del sesso e di fertilità analoghi a quelli riportati nei papiri egizi si ritrovano infatti negli scritti di Galeno:

"Fai due piccoli buchi nel terreno e metti urina di una donna gravida, in uno metti orzo e nell'altro grano. Getta terra sopra. Se i semi di grano germinano prima, essa partorirà un maschio, ma se germina l'orzo, una femmina" (18, 19).

Figura 7. Galeno di Pergamo (129-216).

"Se una coppia è senza figli, metti una lenticchia nell'urina di ciascuno. La lenticchia germoglierà nell'urina dell'individuo fertile ma non in quella dello sterile" (18,19).

Il Medioevo e il Rinascimento

Durante il Medioevo e il Rinascimento non vi furono progressi rispetto alle epoche precedenti. Unico carattere positivo man mano che si procedeva in questi periodi fu una maggiore divulgazione mediante la stampa, soprattutto dopo la metà del 1400, di trattati di medicina che però non presentavano nulla di nuovo per quanto riguardava i test di gravidanza.

Negli scritti del medico musulmano Avicenna (*Abu Alì Ibn Sina*) (980-1037) (Figura 8) si trova ancora il saggio di "inaridimento" dei vegetali innaffiati con l'urina di una donna non in grado di concepire, cambia solo il tipo di pianta che consiglia di usare (pioppi, ortiche, ecc).

Altro test medioevale di sterilità del medico persiano Haly Abbas (950 ca - 995 ca) (Figura 9) ricalca quelli più antichi: sette semi di grano, sette di orzo e sette di fagiolo sono messi in differenti recipienti. Uno dei soggetti della coppia sterile urina su di essi. Se dopo sette giorni i semi germinano allora la sterilità non è da attribuire ad esso (uomo o donna). Unico fatto nuovo ed interessante in questo caso è che l'autore prende in considerazione l'urina di entrambi i sessi e quindi la possibilità che la sterilità possa essere attribuita anche all'uomo, eventualità mai menzionata in nessun testo egizio o greco (4).

Un importante lavoro è attribuito a Moschion, medico greco che visse intorno al primo secolo, e dato alle stampe probabilmente nel IV o V secolo della nostra era come una raccolta di scritti di Sorano di Efeso (II sec) medico greco che esercitò a Roma. Il suo testo è incluso nella collezione di scritti ginecologici di Israel Spach (1560-1610), professore di Medicina all'Università di Strasburgo, edita nel 1595, dove si trova un test di germinazione comparativa, riferito a Teodoro Prisciano, medico romano del V sec. d. C., per decidere se la colpa della sterilità sia nella donna o nell'uomo (18):

"Ut cognoscas si sua an viri culpa sit si non concipiat.
Vasa fictilia duo (…), intus hordeo posito, ibi facies eos urinare, et pones in loco frigido per dies septem, et cuius hordeum non germinaverit, eius culpa est"[2] (18).

Lo stesso libro contiene indicazioni per un saggio che può essere di importanza "medico-legale":

2 *"Come conoscere se sua o dell'uomo sia la colpa se non concepisce.*
Dentro due vasi di terracotta (…) posto dell'orzo, ivi falli urinare, e metti in un luogo fresco per 7 giorni, la colpa è di colui che l'orzo non ha germinato".

Figura 8. Avicenna (980-1037).

Figura 9. Haly Abbas (950 ca-995 ca).

"Virginum probatio.
Lapatium tritum carbonibus impone et suffumiga, si se comminxerit virgo est.
Item:
Rumicis flores carbonibus impone, et suffumiga: si virgo est, non pallescet"[3] (18).

Molto rinomata nell'undicesimo secolo fu la Scuola Medica Salernitana, la prima e più importante istituzione medica d'Europa nel Medioevo (Figura 10). Fra le leggendarie *Mulieres Salernitanae,* donne molto preparate nell'arte medica, emergeva Trocta o Trotula (Trotula de Ruggiero) definita per le sue ampie conoscenze *sanatrix salernitana* (guaritrice di Salerno) (24) (Figura 11) autrice, tra gli altri, del trattato di ginecologia *De mulierum passionibus ante in et post partum*, che ebbe ampia diffusione con numerose ristampe per un arco di tempo di quattrocento anni e traduzioni in numerose lingue.

Figura 10. Scuola Medica Salernitana (XI secolo).

Nella prima stampa (Strasburgo 1544) si trova una indicazione di un saggio per la diagnosi della sterilità:

3 *"Accertamento di verginità.*
Spargi su carboni dell'acetosella tritata, fai delle fumigazioni, se urinerà è vergine.
E così pure:
Metti su carboni fiori di acetosella, esponi a fumigazioni: se ella è vergine non diventerà pallida".

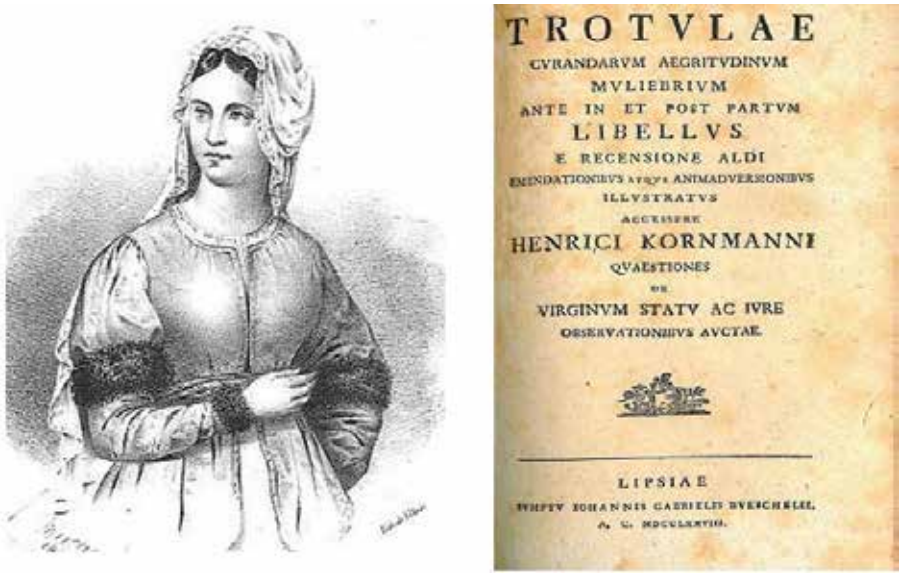


Figura 11. Trotula de Ruggiero (XI secolo) e frontespizio della sua opera di ostetricia.

"Se la donna fosse sterile (o lo fosse) l'uomo indaga in questo modo:

Prendi due contenitori, in entrambi metti della crusca e in uno di questi bagna la crusca con l'urina dell'uomo e nell'altro con urina della donna e lascia così riposare i recipienti per nove o dieci giorni. E se la sterilità, sarà per causa della donna troverai molti vermi e la crusca maleodorante nel di lei recipiente e al contrario avrai simili indizi dall'altra urina per difetto dell'uomo. Se invece in nessuna della due urine avrai osservato tali segni nessuno dei due sarà da indicare come sterile, pertanto potrà essere aiutato dai rimedi della medicina per concepire" (18).

Il lavoro di Trotula fu subito dopo pubblicato nuovamente (Venezia 1547).

In questa edizione è riportato un metodo per la predizione del sesso dove il liquido biologico utilizzato è il sangue o il latte della donna:

De signis impraegnationis:

Ad cognoscendum, utrum mulier gestet masculum, vel foeminam. Accipe aquam de fonte, et mulier extrahat duas vel tres guttas sanguinis, vel lactis de dextro latere, et infundantur in aquam: et si fundum petant, masculum gerit, si supernatant, foeminam[4] (18).

4 *"Dei segni della fecondazione:*
Per conoscere se la donna sia gestante di un maschio oppure di una femmina, prendi dell'acqua di fonte, la donna tragga due o tre gocce di sangue, o latte dal lato destro e siano versati nell'acqua: se vanno a fondo è incinta di un maschio, se stanno a galla di una femmina" (18).

Tra le eminenti personalità della rinascita della cultura nel XIII secolo nell'Europa occidentale spicca la figura dello studioso Albertus Magnus di Bollstädt (1193, 1206-1280), domenicano tedesco, *Doctor Universalis*, conosciuto anche come Alberto di Colonia, canonizzato nel 1931, Dottore della Chiesa, protettore degli scienziati. Tra i molti lavori che gli sono attribuiti c'è il piccolo trattato *De secretis mulierum* (Figura 12), stampato a Colonia e Venezia nel 1478, che ebbe moltissime edizioni, con varie modifiche e aggiunte. La sua paternità è stata contestata perché il contenuto è una strana mescolanza di astrologia, disquisizioni sui problemi della generazione e osservazioni ostetriche colorite da una ossessiva inclinazione riguardo alla slealtà della donna.

Figura 12. Albertus Magnus (1193 o 1206-1280): frontespizio dell'opera De secretis mulierum.

Nella edizione veneziana del 1478 si trova un test di concepimento già noto e citato come "saggio dell'idromele"[5]. Nuova invece l'aggiunta che suggerisce al medico di fare molta attenzione nel proporre il metodo poiché è noto che le donne sono molto scaltre. Per evitare fenomeni di "autosuggestione" nessun cenno dovrebbe essere fatto circa lo scopo della pozione eccetto che è di sapore gradevole, e che il mattino successivo sarebbe stato chiesto se avesse avvertito il dolore nella testa o altrove (18).

5 Somministrare alla donna una bevanda fatta mescolando miele con acqua, da prendere la sera prima di coricarsi. Se il mattino accusa dolori nella regione ombelicale, è avvenuto il concepimento.

La edizione di Augusta del 1497 contiene un test per determinare se l'uomo o la donna sono colpevoli della difficoltà di concepimento, anche questo già noto pur con alcune variazioni.

Presi due vasi, si mette in uno l'urina dell'uomo e nell'altro quella della donna ed in ambedue si aggiunge farina di grano. (…) Chiudere i vasi per nove giorni, se il difetto è da riferire all'uomo si troveranno vermi nel vaso dell'uomo[6] (18).

Nella *Genitura hominis et de signis conceptis*, riportato in *Arcana medicinae* (1498), di Pier Candido Decembrio di Pavia (1399-1477), si trova il test già citato da Trotula per la predizione del sesso usando gocce di sangue o latte messe in acqua. A seconda che galleggino o meno nascerà una femmina o un maschio[7] (18).

I test, soprattutto quelli di "germinazione" dei vegetali, continuarono ad essere riproposti, a volte con lievi modifiche, durante tutto il Rinascimento e anche più avanti dai medici dell'epoca, come indicato dagli studi di Iversen. Poche quindi le novità.

Ricordiamo sinteticamente altri personaggi, le loro opere e le indagini suggerite:

Antonio Guainerio (*Guainerius Antonius*), medico vissuto fra la fine del XIV secolo e l'inizio del XV autore del De agritudinibus matricis inserito in Opera medica (Venezia 1500).

Eucharius Rösslin (1470-1526) medico tedesco, autore del testo di ginecologia Der Rosengarten (Il Giardino delle rose) (1513) testo base per levatrici e ostetriche. Questo lavoro molto popolare fu il primo libro stampato di ostetricia ed anche il primo ad essere interamente dedicato a questo soggetto (25) (Figura13).

6 Testo originale: *"Accipiatur due olle et in utraque urina mittatur viri in unam et mulieris in aliam et ponatur in utraque fur-fur tritici. (…) obstruat ollas per novem dies ve parum amplius et si contingit ex vitio viri defectus tunc invenit quosdam vermes in olla viri"* (18).

7 Testo originale: "*Amplius si femina masculum conceperit an famellana aqua de puro et liquido fonte experimento fuerit gutta etem sanguinis aut lactis ejus ex dextro sumpta latere et aqua a superfusa. Si masculo turget ad ima devoluitur si femella supernatat et suma petit".*
(Prendere una goccia di sangue o latte dalla parte destra della donna e metterli in acqua di una sorgente pura e limpida. Se esso affonda sarà un maschio, se galleggia una femmina) (18).

Figura 13. Eucharius Rösslin (1470-1526) presenta il Der Rosengarten.

Jacob Rueff (1500-1558), medico di Zurigo, il suo contributo più importante è stato il manuale pratico sulla ostetricia *De conceptu et generatione hominis et iis quae circa* del 1554, pubblicato contemporaneamente in latino e in tedesco, con due successive edizioni (1559, 1580) (Figura 14). Nel 1637 venne stampata a Londra la traduzione in inglese, *The expert midwife, or an excellent and most necessary treatise on the generation and bird of man*. Il libro di Rueff è stato una delle principali fonti di informazione per le ostetriche e medici per oltre un secolo.

Gran parte del sapere di Rueff deriva dagli autori classici e dal *Der Rosengarten* di Rösslin (26).

Nella edizione del 1554 del *De conceptu et generatione hominis* Rueff riportava due metodi per stabilire lo stato di gravidanza, in uno di questi riferiva anche indicazioni per prevedere il sesso.

Il primo è una variante del test consigliato nel *De secretis mulierum*, basato sulla formazione di piccoli animali peduncolati dall'urina della donna tenuta per tre giorni in un vaso chiuso, aggiunge che se erano rossi sarebbe stato concepito un maschio, se bianchi una femmina[8].

8 Testo originale*: Certius erit experimentum, urinam mulieris triduo in vitro conclusam obstrueris, quo tempore exacto per sindonem puram destilletur et si concepit, minuta animalcula pediculorum instar comparebunt, haec si rubra sint, masculum, si alba faemulam concepta essere dicunt (…).*

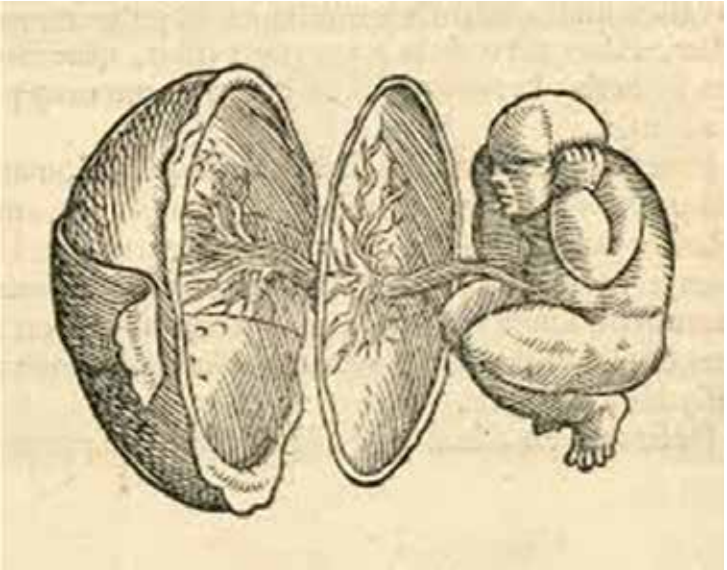


Figura 14. Jacob Rueff (1500-1558): imagine da De conceptu et generatione hominis.

Nel secondo indicava l'uso di un ago lucido che veniva lasciato per una notte in un catino di bronzo contenente l'urina della donna. Se al mattino l'ago mostrava macchie rossastre ella avrebbe concepito, se invece fosse stato nero e rugginoso non avrebbe concepito[9] (18).

Questo test dell'arrugginimento che portava alla formazione di ossido ferrico (rosso) o solfuro ferroso (grigio-nero) sull'ago sembra essere un nuovo metodo.

Nicolas Culpeper (1616-1654) (Figura 15) di Londra, medico, astrologo, botanico, nella sesta edizione di un suo testo (Londra 1684) riportava il saggio come di seguito esposto, dove è evidente che un errore di traduzione porta solamente ad una modifica all'originale test dell'arrugginimento (18):

"Per sapere se una donna è incinta:

Se una donna desidera sapere se è incinta o no, lasciala urinare in un recipiente pulito di rame o ottone al calar della notte e metti una ortica in esso, se l'ortica ha macchioline rosse la mattina successiva, è incinta, altrimenti non lo è"[10] (18).

9 Testo originale *Si urina mulieris pelvi aenea contentae nocte una **acus** tersa imponatur, crastino, si mulier conceperit, ea acus rubeis erit variegata maculis; si non, nigra erit, aeruginosa.*

10 E' probabile che ***acus*** (ago) nel testo originale latino, nella traduzione dal tedesco all'inglese sia diventato "nettle" (ortica) anziché "needle" (ago) a causa della confusione fra i termini tedeschi "nadel" (ago) e "nessel" (ortica) (18).

Figura 15. Nicholas Culpeper (1616-1654).

Questi test si trovano anche nel *The Experienced Midwife*, una raccolta antologica che apparve sotto lo pseudonimo Aristotele, probabilmente dovuta invece a William Salmon (1644-1713) tradotta in diverse lingue e stampata centinaia di volte (18,19).

Solo come curiosità letteraria può essere citato l'orrendo *Heylsane Drek-Apotheke* (farmacia di ciarpame terapeutico) (Figura 16) di Christian Franz Paullini (1643-1712) medico e teologo tedesco, pubblicato nel 1714, che proponeva dei test che secondo Iversen sono da attribuire a un non ben identificato Peter Beyer, famoso medico fiorentino del XVI secolo, il quale a sua volta si rifaceva a scrittori greci e a Galeno (18,19).

Jean Fernel (1497-1558) (*Fernelius)* (Figura 17), professore di medicina a Parigi raccomandava di mescolare l'urina sospetta con vino "*Se il liquido diviene torbido come se chicchi di grano siano stati cotti dentro, allora la donna è gravida*" (18 ,19).

Sembra sufficientemente dimostrata a questo punto l'ipotesi che molti test di gravidanza e fertilità del sapere medico europeo del Medioevo e Rinascimento possono essere ricondotti ai grandi papiri medici della prima antichità.

Neu-Vermehrte/
Heylsame
Dreck-Apothecke,
Wie nemlich mit
Koth und Urin
Fast alle/ ja auch die schwerste/
gifftigste Kranckheiten, und bezauberte
Schäden vom Haupt biß zum Füssen, inn-
und äusserlich, glücklich curiret worden:
Mit allerhand raren, so wohl nütz-
als ergötzlichen
Historien und Anmerckungen/
Auch andern
Feinen Denckwürdigkeiten,
Nochmahls bewöhret, nun zum vierdten mahl
um ein merckliches verbessert,
Und mit dem
Andern Theil
vermehret
Von
Kristian Frantz Paulini.
Francksurt am Mayn,
In Verlegung Friederich Daniel Knochen.
MDCCXXXIV

Figura 16. Cristian Franz Paullini (1643-1712): frontespizio dell'opera Heylsane Drek Apotheke.

Figura 17. Jean Fernel (1497-1558).

E' da ricordare che, accanto a queste prove, soprattutto quelle di "germinazione", con qualche fondamento scientifico, data l'intuizione che l'urina delle gravide deve contenere qualcosa che favorisce la crescita dei vegetali e altri fenomeni, la diagnosi di gravidanza e fertilità e predizione del sesso continuava ad essere fatta anche dagli uromanti osservando semplicemente le urine, e questo fino alle soglie del XX secolo.

All'inizio del XIV secolo queste "analisi" di gravidanza erano soprattutto raccomandate in opere "quasi-mediche" piuttosto che nei classici di medicina.

Loren MacKinney (1891-1963), specialista di storia della medicina medioevale, riferisce uno spassoso racconto, riportato da molti altri autori, che illustra l'abilità e l'intelligenza di alcuni uroscopi. Nel decimo secolo, Notken monaco guaritore di St. Gall, Svizzera, era anche medico del duca di Baviera. Il duca consegnò a Notken un campione di urina come se fosse suo, ma che in realtà era di una dama di corte incinta. Notken fece con molta cura l'ispezione dell'urina e alla fine annunciò che Dio avrebbe compiuto un miracolo: "*fra 30 giorni il duca darà alla luce un bambino*!". Il duca ebbe la grazia di arrossire e ricompensare il suo abile e astuto medico (19,27,28).

Laurent Joubert (1529-1582), medico francese, respingeva questo genere di test di gravidanza "*così accade che molto spesso questi indovini sono ingannati essendogli consegnate urine di uomo, sulle quali essi fanno diagnosi di gravidanza, la qual cosa causa del tutto giustamente sarcastiche risate*" (19).

Uno dei primi a riconoscere questa pratica come priva di fondamento fu Thomas Linacre (1460-1524) medico di Enrico VIII. Come fondatore del *College of Physicians* di Londra, tentò di proibire ai medici di fare diagnosi e trattare le malattie sulla sola base dell'esame delle urine. Durante il XVI e XVII secolo, l'abuso dell'uroscopia attirava il ridicolo e il disprezzo di molti autori. Nel "*The Pisse-Prophet or Certaine Pisse-Pot Lectures*" (Figura 18) pubblicato a Londra nel 1637, Thomas Brian attaccava vigorosamente l'abuso dell'uroscopia e raccomandava ai malati di scegliere un dottore che fosse accreditato dalle università o dal *College of Physicians* di Londra[11] (11).

Come conclusione di questo periodo può essere curiosa l'asserzione di Scipione Geronimo Mercurio (1550-1615), medico di Roma, autore de *La comare o raccoglitrice dell'eccellentissimo signore Scipion Mercurio filosofo, medico, e cittadino romano* (Venezia 1596), che apparve in numerose edizioni:

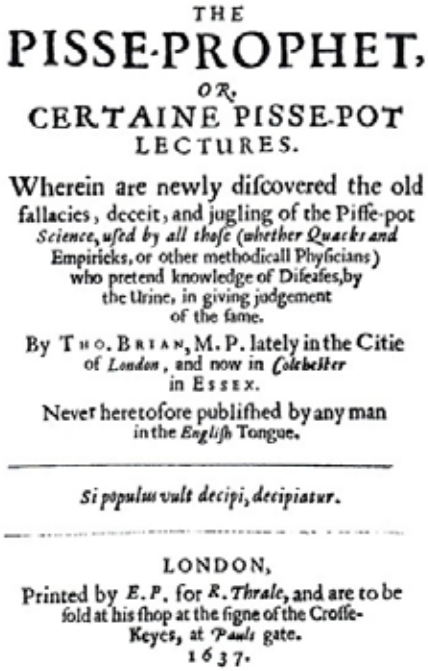
11 *Pisse-Prophet* veniva definito quel medico che faceva diagnosi solamente con l'ispezione delle urine del paziente.

"Quanto poi a quel segno, che alcuni pensano che si vede nelle urine è tanto falso e bugiardo, che più presto conviene à Ciarlatani, che à Medici e perché più ha a che fare la Luna cò Gambari, che l'urina à mostrar le donne gravide" (18).

Dal secolo XIX alla prima metà del XX

L'Ottocento

Fin dall'inizio del secolo, i primi successi della chimica nelle sue applicazioni alla medicina, inducono numerosi studi e pubblicazioni di farmacisti, medici, chimici che riferiscono la scoperta di nuovi componenti dell'urina ritenuti utili al clinico nel percorso diagnostico. Alcuni di questi



THE
PISSE-PROPHET,
OR,
CERTAINE PISSE-POT
LECTURES.

Wherein are newly discovered the old fallacies, deceit, and jugling of the Pisse-pot *Science, used by all those (whether Quacks and* Empiricks, or other methodicall Physicians) who pretend knowledge of Diseases, by the Urine, in giving judgement of the same.

By THO. BRIAN, M. P. lately in the Citie of *London*, and now in *Colchester* in ESSEX.

Never heretofore published by any man in the *English* Tongue.

Si populus vult decipi, decipiatur.

LONDON,
Printed by *E. P.* for *R. Thrale*, and are to be sold at his shop at the signe of the Crosse-Keyes, at *Pauls* gate.
1637.

Figura 18. Thomas Brian: The pisse-prophet (1637).

elementi non sono contenuti nell'urina delle persone sane, si rilevano solo in determinate patologie o particolari stati dell'organismo per cui la loro presenza è già un segno utile alla diagnosi. Nella seconda metà dell'Ottocento l'urina diventa quindi uno dei liquidi biologici più studiati anche perché è "relativamente" facile da analizzare. I metodi chimico-analitici però sono ancora grezzi e molto laboriosi, per cui i risultati dell'analisi chimica sono poco usati dai medici dell'epoca come supporto alla diagnosi.

Da ricordare nella seconda metà del secolo gli studi di Claude Bernard (1813-1878) che usa per primo il termine "secrezione interna" per descrivere il rilascio del glucosio dal glicogeno epatico (1855), di Thomas Addison (1795-1860) per una sindrome associata all'atrofia delle ghiandole surrenali (1855), di Charles Eduard Brown-Séquard (1817-1894), di George Oliver (1841-1915) che con Edward Albert Sharpey-Schäfer (1850-1935) classifica le "secrezioni interne" come sostanze prodotte dalle "ghiandole a secrezione interna". Tutti studi che preludono alla scoperta, agli inizi del secolo successivo, degli ormoni e della loro funzione all'interno dell'organismo che avranno importanti effetti sulla ricerca di metodi per individuare precocemente la gestazione.

La Kiesteina

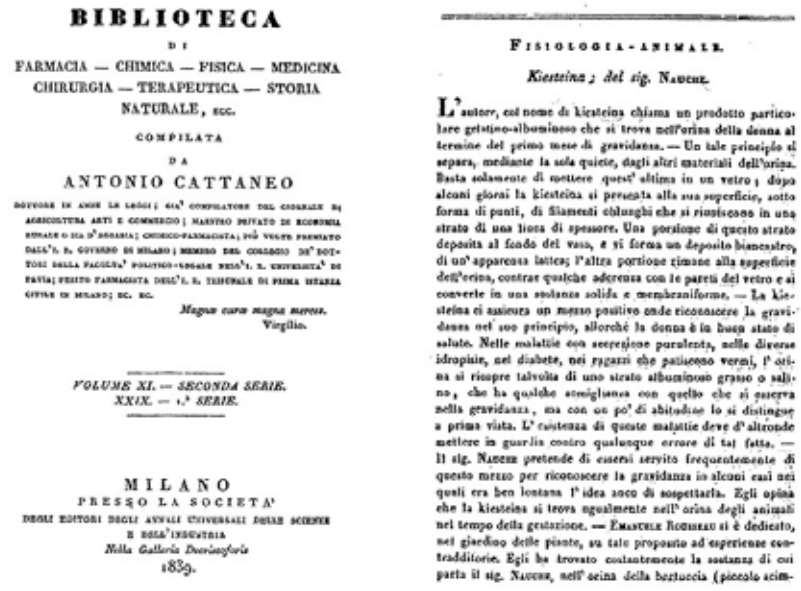
Nella prima metà dell'Ottocento suscita molto scalpore fra i medici, gli ostetrici e quanti si occupano dell'esame chimico dei liquidi biologici, la scoperta nelle urine delle gestanti di una sostanza che sembra risolvere tutti i problemi della diagnosi precoce di gravidanza tramite un semplice esame di "laboratorio". La sua presenza nelle urine fin dai primi mesi di gestazione può essere un interessante "segno chimico" di gravidanza. Questo componente desta interesse ed entusiasmi negli "addetti ai lavori" e li terrà occupati per tutto l'Ottocento. E' l'unica novità del secolo per quanto riguarda l'individuazione precoce dello stato di gravidanza.

Avicenna nel *Canonis Medicinae* aveva accennato ad una nubecola, di colore giallo iridescente, una massa simile a cotone che si formava alla superficie dell'urina delle donne gravide lasciata per alcuni giorni in contenitori di vetro.

Giovanni Michele Savonarola (1384-1468), professore di medicina all'Università di Padova e di Ferrara, nella sua trattazione sulle febbri (29), riferiva, a proposito delle urine delle gestanti, una dettagliata descrizione di alcune loro alterazioni che comparivano fin dall'inizio della gestazione, e accennava in particolare ad una nubecola alla loro superficie e ad un

deposito parzialmente sospeso somigliante a lana cardata che si formavano quando erano lasciati a riposo in un vaso di vetro.

Strano a dirsi, sebbene Avicenna, Ippocrate, Savonarola ed altri ancora, fossero consapevoli di questi fenomeni, la prima descrizione di questi fatti, riferita ad un preciso componente dell'urina ed il suo utilizzo nella diagnosi medica, si deve a Jacques-Louis Nauche (1776-1843), medico francese, specialista in malattie uro-genitali e galvanismo, che nel 1839 pubblica una memoria su alcune osservazioni, iniziate qualche anno prima (1831), circa questa sostanza che egli ritiene nuova e che chiama *kiesteina*. Del lavoro di Nauche si trova una recensione nella "*Biblioteca del Cattaneo*" (30) (Figura 19) già nell'aprile 1839. "*L'autore, col nome di kiesteina chiama un prodotto particolare gelatino-albuminoso che si trova nell'orina della donna al termine del primo mese di gravidanza*" (30) e si può separare dagli altri componenti lasciando semplicemente l'urina a riposo in un bicchiere di vetro. Dopo alcune ore la *kiesteina* compare alla superficie sotto forma di filamenti oblunghi aghiformi che si riuniscono in uno strato di piccolo spessore. Una parte di questo si dispone sul fondo del bicchiere dove forma un deposito biancastro di aspetto lattiginoso, un'altra parte rimane invece alla superficie aderendo anche alle pareti del vaso e si converte in una sostanza solida membraniforme.



BIBLIOTECA

DI

FARMACIA — CHIMICA — FISICA — MEDICINA
CHIRURGIA — TERAPEUTICA — STORIA
NATURALE, ECC.

COMPILATA

DA

ANTONIO CATTANEO

DOTTORE IN AMBE LE LEGGI; GIÀ COMPILATORE DEL GIORNALE DI AGRICOLTURA ARTI E COMMERCIO; MAESTRO PRIVATO DI ECONOMIA RURALE O SIA D'AGRARIA; CHIMICO-FARMACISTA; PIÙ VOLTE PREMIATO DALL'I. R. GOVERNO DI MILANO; MEMBRO DEL COLLEGIO DE' DOTTORI DELLA FACOLTA' POLITICO-LEGALE NELL'I. R. UNIVERSITA' DI PAVIA; PERITO FARMACISTA DELL'I. R. TRIBUNALE DI PRIMA ISTANZA CIVILE DI MILANO; EC. EC.

Magnas curas magna merces.
Virgilio.

VOLUME XI. — SECONDA SERIE.
XXIX. — 1.ª SERIE.

MILANO
PRESSO LA SOCIETA'
DEGLI EDITORI DEGLI ANNALI UNIVERSALI DELLE SCIENZE E DELL'INDUSTRIA
Nella Galleria Duomo sopra
1839.

FISIOLOGIA-ANIMALE.

Kiesteina; del sig. NAUCHE.

L'autore, col nome di kiesteina chiama un prodotto particolare gelatino-albuminoso che si trova nell'orina della donna al termine del primo mese di gravidanza. — Un tale principio si separa, mediante la sola quiete, dagli altri materiali dell'orina. Basta solamente di mettere quest' ultima in un vetro; dopo alcuni giorni la kiesteina si presenta alla sua superficie, sotto forma di punti, di filamenti oblunghi che si riuniscono in uno strato di una linea di spessore. Una porzione di questo strato deposita al fondo del vaso, e si forma un deposito biancastro, di un' apparenza lattea; l'altra portione rimane alla superficie dell'orina, contrae qualche aderenza con le pareti del vetro e si converte in una sostanza solida e membraniforme. — La kiesteina ci assicura un mezzo positivo onde riconoscere la gravidanza nel suo principio, allorchè la donna è in buon stato di salute. Nelle malattie con secrezione purulenta, nelle diverse idropisie, nel diabete, nei ragazzi che patiscono vermi, l' orina si ricopre talvolta di uno strato albuminoso grasso o salino, che ha qualche somiglianza con quello che si osserva nella gravidanza, ma con un po' di abitudine lo si distingue a prima vista. L' esistenza di queste malattie deve d' altronde mettere in guardia contro qualunque errore di tal fatta. — Il sig. NAUCHE pretende di essersi servito frequentemente di questo mezzo per riconoscere la gravidanza in alcuni casi nei quali era ben lontano l' idea anco di sospettarla. Egli opina che la kiesteina si trova ugualmente nell' orina degli animali nel tempo della gestazione. — EMANUELE ROMBERG si è dedicato, nel giardino delle piante, su tale proposito ad esperienze contradditorie. Egli ha trovato costantemente la sostanza di cui parla il sig. NAUCHE, nell' orina della bertuccia (piccolo scim-

Figura 19. Jacques Louis Nauche (1776-1843): Kiesteina (recensione sulla "Biblioteca del Cattaneo").

"*La kiesteina ci assicura un mezzo positivo onde riconoscere la gravidanza nel suo principio, allorché la donna è in buon stato di salute*" (30) .

Nauche estende le sue osservazioni alle urine di soggetti con alcune patologie e nota che nel diabete, nell'idropisia, nelle malattie con secrezione purulenta, le urine dei pazienti si ricoprono talvolta di uno strato albuminoso grasso simile a quello che si osserva nella gravidanza "*ma con un po' di abitudine lo si distingue a prima vista*" (30). Riporta gli esperimenti effettuati sulle scimmie (bertucce) da un ricercatore francese che trova costantemente la *kiesteina* nell'urina delle femmine durante la gestazione, mentre non la rileva nelle non gravide e nei maschi (30,31).

"*Il sig. Nauche* – riferiscono i recensori della rivista - *pretende di essersi servito frequentemente di questo mezzo per riconoscere la gravidanza in alcuni casi nei quali era ben lontana l'idea anco di sospettarla. Egli opina che la kiesteina si trova ugualmente nell'orina degli animali nel tempo di gestazione*" (30).

Le osservazioni di Nauche sulla *kiesteina* e sul suo utilizzo nelle diagnostica di laboratorio della gravidanza vengono subito riprese, recensite e commentate nelle riviste scientifiche di tutto il mondo.

Nel giornale americano "*The medico-chirurgical review and journal of practical medicine*" (32) il recensore aggiunge, riferendosi alla peculiare presenza della *kiesteina* nelle urine delle gravide, che "*poca importanza è stata finora attribuita a questa 'presunta' scoperta di* N*auche; non siamo a conoscenza di accurati esperimenti istituiti con l'obiettivo di definire il problema*", solo recentemente – ricorda – un ricercatore francese ha pubblicato su "*Lancette Francaise*" una serie di esperimenti sulla formazione della *kiesteina* che lo portano però a concludere che "*questi fenomeni non sono di accadimento costante e per di più l'urina fisiologica a volte presenta fenomeni analoghi*" (32).

Nel 1840 il celebre ostetrico inglese Fleetwood Churchill (1808-1878), riferisce che la comparsa della *kiesteina*, potrebbe ascriversi ad una specifica sostanza del latte formato nei seni durante la gestazione, ma sottolinea che al momento questa è solo una ipotesi (33,34).

Robley Dunglison (1798-1869), considerato il padre della fisiologia americana, ritiene che la comparsa della *kiesteina* nelle urine, unita ad altri segni, sia di aiuto nella diagnosi di gravidanza (35).

La letteratura sulla *kiesteina* è veramente ampia, si riporta sull'argomento l'approfondito lavoro del clinico inglese Golding Bird e le conclusioni del chimico clinico italiano Francesco Arena.

Gli studi di Golding Bird sulla kiesteina

Golding Bird (1814-1854) (Figura 20), noto per gli studi sulla chimica delle urine, dei calcoli urinari, dei sedimenti urinari e per l'apporto alla nascente chimica fisiologica, nel 1839 presenta una relazione su alcuni interessanti esperimenti relativi alla *kiesteina* "*un nuovo costituente della secrezione renale, scoperto nelle urine delle donne durante la gestazione uterina*". La fama che il seppur giovane autore ha già acquisita fa sì che la relazione pubblicata sui "*Guy's Hospital Reports*" venga ripresa da altre quotate riviste di medicina.

Lo scopo del lavoro è di verificare se realmente l'urina delle gestanti contiene una sostanza mucillaginosa di natura particolare, che rappresenterebbe qualcuno degli elementi del latte, alla quale è stato dato il nome di *kiesteina*.

Bird effettua la prima osservazione al Dispensario Finsbury di Londra su una paziente affetta da bronchite, al sesto mese di gravidanza. "*Una mezza pinta* (1 pinta inglese = 0.568 L) *della prima orina che essa emetteva al mattino quando si alzava fu posta, a tre differenti riprese, in un vaso di vetro e coperta con carta. Alla prima volta, dopo essere stata tranquilla due giorni cominciò a farsi torbida, e levassi a superficie gran copia di globetti che avevano un aspetto grasso. Due giorni dopo essa era coperta compiutamente da una pellicola assai somigliante a quella che copre il brodo di montone nel raffreddarsi. Al sesto giorno la pellicola*

Figura 20. Golding Bird (1814-1854).

si ruppe e si posò al fondo. La seconda e la terza esperienza vennero fatte dopo la guarigione dell'ammalata, ed ebbero risultamenti uguali, colla sola differenza che la pellicola vi era più densa" (36-38).

Su queste basi l'autore inizia ad analizzare sistematicamente l'urina di tutte le gravide che arrivano al Dispensario e al *Guy's Hospital* di Londra. In due mesi esamina campioni di trenta donne dal terzo al nono mese di gestazione e, ad eccezione di tre casi, osserva sempre la pellicola adiposa che copre l'urina. Inoltre "*fu pure esaminata l'orina di molte giovani amenorroiche, e due sole hanno porto la crosta di cui si tratta: l'una diffatto confessò di essere gravida, ed in seguito ha partorito, l'altra, sebbene avesse anche il capezzolo circondato dall'aureola caratteristica negò, e si partì dal Dispensario. La crosta che copriva l'orina di queste due donne dava l'odore di formaggio rancido, il che per lo più si osserva ogni volta che la crosta è molto densa; prima che emani quest'odore se ne sente un altro che assomiglia il formaggio di Bath quando incomincia ad ammollire.*

Questa sostanza, denominata kiestein, non si sa se sia un principio nuovo, come alcuni vorrebbero" (36-38).

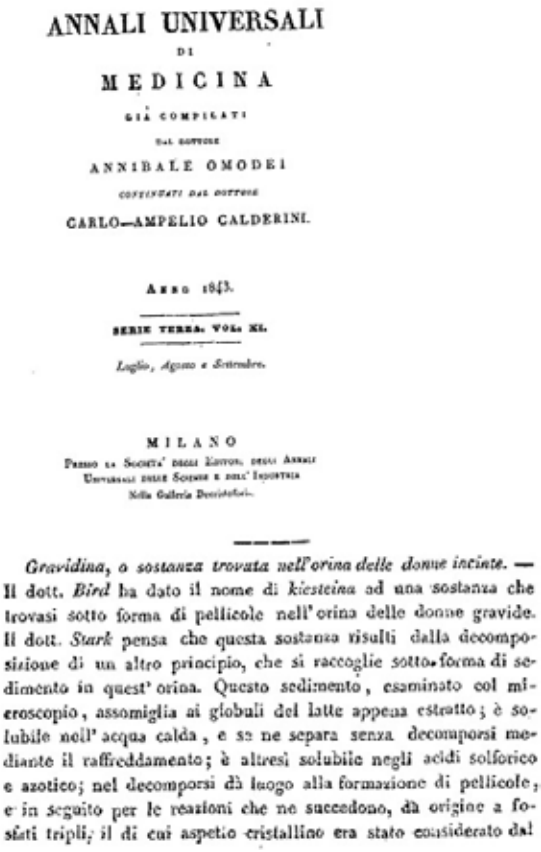
Bird sottopone le urine ad analisi chimica che esclude la presenza di albumina e sostanze caseose mentre trova una gran quantità di fosfati terrosi. La pellicola che si forma alla superficie rivela al microscopio numerosi bellissimi cristalli "*di fosfato triplo di magnesia*". La parte di pellicola che si deposita al fondo dopo alcuni giorni evidenzia le stesse caratteristiche ma, all'analisi chimica, non si trovano tracce di sostanze organiche.

Riguardo al modo in cui si produce questa sostanza simile alla caseina l'autore ritiene che "*formandosi durante la gestazione certi elementi del latte nelle mammelle, né potendo sprigionarsene, rientrano nella circolazione ed escono colle orine*" e dimostra la sua ipotesi con minuziose prove di laboratorio (36-38).

Mancano nel lavoro osservazioni circa l'epoca della gravidanza in cui questo segno comincia ad essere evidente.

Fra le conclusioni Bird ribadisce che "*la pellicola caseosa che si forma sull'urina unita ad altri sintomi, come il colore cupo dell'areola del capezzolo e la soppressione dei mestrui o l'allargamento dell'addome, porge un prezioso segno per avvalorare la gravidanza*" (36-38). La *kiesteina*, in una ulteriore recensione italiana del lavoro di Golding Bird (1843), viene denominata "*Gravidina, sostanza trovata nell'orina delle donne incinte*" (39,40) (Figura 21).

Gli studi sulla *kiesteina*, ed in particolare sulla sua presenza nelle urine delle gravide continuano per molti anni.



ANNALI UNIVERSALI
DI
MEDICINA
GIÀ COMPILATI
DAL DOTTORE
ANNIBALE OMODEI
CONTINUATI DAL DOTTORE
CARLO-AMPELIO CALDERINI.

ANNO 1843.

SERIE TERZA. VOL. XI.

Luglio, Agosto e Settembre.

MILANO
PRESSO LA SOCIETÀ DEGLI EDITORI DEGLI ANNALI UNIVERSALI DELLE SCIENZE E DELL' INDUSTRIA
Nella Galleria Berettaboi.

Gravidina, o sostanza trovata nell'orina delle donne incinte. — Il dott. *Bird* ha dato il nome di *kiesteina* ad una sostanza che trovasi sotto forma di pellicole nell'orina delle donne gravide. Il dott. *Stark* pensa che questa sostanza risulti dalla decomposizione di un altro principio, che si raccoglie sotto forma di sedimento in quest' orina. Questo sedimento, esaminato col microscopio, assomiglia ai globuli del latte appena estratto; è solubile nell' acqua calda, e se ne separa senza decomporsi mediante il raffreddamento; è altresì solubile negli acidi solforico e azotico; nel decomporsi dà luogo alla formazione di pellicole, e in seguito per le reazioni che ne succedono, dà origine a fosfati tripli, il di cui aspetto cristallino era stato considerato dal

Figura 21. Gravidina (altra denominazione della Kiesteina): recensione italiana del lavoro di Golding Bird (1843).

La sintesi di Francesco Arena

Francesco Arena (1847-1918), farmacista, chimico degli ospedali di Capua e di Torre Annunziata (41), nel suo *Trattato Pratico di Chimica Clinica sull'analisi dell'Urina* del 1884 (Figura 22), prospetta una sintesi delle conclusioni di alcuni studiosi sul valore della *kiesteina* come "segno chimico" di gravidanza "*che ha fatto molto chiasso presso gli ostetrici*" (42).

Lionel Smith Beale (1828-1906) medico britannico, professore al *King's college* di Londra, membro della Royal Society, afferma che "*è impossibile dare una storia soddisfacente di questa curiosa sostanza (…). Alcuni autori non hanno esitato a dire che la presenza di questa pellicola bastasse per indicare lo stato di gravidanza. Ma nessuna osservazione recente è venuta a corroborare questa osservazione*" (42).

TRATTATO PRATICO
DI
CHIMICA CLINICA
SULL'ANALISI DELL'URINA
CON APPENDICE
SULL'ANALISI DELLE FECI
per uso dei medici, chirurgi di medicina, di chimica e farmacisti
DEL
Prof. F. ARENA
NAPOLI
GIOVANNI DETKEN LIBRAIO-EDITORE
1884

Figura 22. Francesco Arena (1847-1918): Trattato di Chimica Clinica.

Ammette che la membrana che si forma sulla superficie delle urine delle donne gravide possiede molti dei caratteri che vengono attribuiti alla *kiesteina* ma "*facendosi difetto di informazioni più esatte, noi non possiamo attaccare alcuna importanza alla presenza o assenza di questa pellicola alla diagnosi della gravidanza*". Essa può non trovarsi in donne gravide e presentarsi invece dove non sia in atto la gestazione e addirittura negli uomini.

"*Dunque* – commenta Arena – *stando alla conclusione di Beale non ci sarebbe solo il rischio (…) di prendere per gravida una zitella, ma quello ancora più curioso di prendere per gravidi anche gli uomini!*" (42).

Serafino Capezzuoli (1813-1888), medico, cattedratico di "*Chimica Organica Patologica*" a Firenze (41), ricorda il lavoro sulla semeiotica delle urine (1841) di Louis Alfred Becquerel (1814-1862), nel quale il medico parigino dichiara di non poter ancora ammettere come certo il segno di gravidanza di Nauche secondo cui "*l'orina delle gravide presenta una particolare maniera di alterazioni, o la presenza di qualche nuova sostanza, come sarebbe, per esempio, la kyesteina*", mentre Pietro Vannoni, professore di clinica ostetrica all'ospedale di S. Maria Nuova a Firenze attribuisce un certo valore a questa sostanza nella diagnosi di gravidanza. "*Ma* – continua Capezzuoli – (…) p*er noi non sussiste alcuna distinzione fondata sopra alcuna materia di chimico sperimento in ciò che si mostra alla superficie delle urine, sia che queste appartengano alle donne gravide, sia che appartengano a ben altri individui*" (42).

Francesco Arena riporta i pareri, non sempre concordi, di altri autorevoli medici dell'epoca e alla fine lascia la conclusione della intricata vicenda della *kiesteina* a Gaetano Primavera (1832-1899), chimico clinico all'ospedale di Napoli, allievo di Salvatore Tommasi: "*si abbandoni per sempre la idea di un principio speciale qualunque che sia capace, esso solo, di costituirsi in forma di pellicola sulla superficie delle urine, e molto meno poi di rivelare la gravidanza*" (42).

La sinossi di Francesco Arena conclude i principali studi sperimentali sulla formazione, sulla natura, sulla esistenza e sulle applicazioni alla diagnosi della *kiesteina*.

Le opinioni che essa possa essere un nuovo componente dell'urina sono contrastanti. Anche le teorie sulla sua natura e sulla sua utilità nella diagnosi di gravidanza sono molto dibattute tanto che alcuni lasciano aperto il campo a futuri più approfonditi studi.

La prima metà del Novecento

Nei primi decenni del Novecento le aumentate conoscenze di chimica, fisiologia, chimica fisiologica, endocrinologia ed i progressi tecnologici della strumentazione di laboratorio offrono "*più razionali indirizzi di ricerca per la realizzazione della diagnosi di Laboratorio della gravidanza*"(1): il problema di avere finalmente dei test attendibili per rilevare precocemente lo stato gestazionale può essere affrontato alla luce di nuove scoperte (1-3). Iniziano infatti gli studi sugli ormoni ed il primo, l'adrenalina, viene isolato nel 1901 da Jokichi Takamine (1854-1922). Nel 1905 Ernest Henry Starling (1866-1927), professore di fisiologia all'*University College* di Londra assegna per primo il termine "*ormone*" al "*messaggero chimico che, andando velocemente da cellula a cellula nel torrente sanguigno, può coordinare le attività e la crescita di differenti parti del corpo*". L'endocrinologia si evolve velocemente, si identificano nuovi ormoni e soprattutto vengono enunciate più perfezionate teorie sul loro ruolo e su quello delle ghiandole endocrine.

I test di laboratorio sviluppati in quegli anni sono sia valutazioni biochimiche per la ricerca di specifici componenti del siero e dell'urina della gravida o la loro variazione di concentrazione, sia reazioni biologiche che poggiano sull'accertamento indiretto di quegli ormoni che all'infuori della gravidanza non si trovano o sono presenti in quantità trascurabile nel sangue e nell'urina della donna. La presenza di questi ormoni viene evidenziata iniettando siero o urina della donna in esame in taluni animali da esperimento e osservando le caratteristiche variazioni sul loro apparato genitale che si manifestano solo in caso di gravidanza (1,2).

Secondo il parere di alcuni autori della metà del Novecento i test chimici non offrono i vantaggi dei test biologici in quanto nessuna delle reazioni chimiche è accurata come i più consolidati test biologici e le procedure implicano spesso l'uso di strumenti ritenuti complicati (43). Altri invece riconoscono ai test chimici, soprattutto colorimetrici, indiscutibili vantaggi di rapidità e costi anche se convengono sulla difficoltà nel differenziare il colore delle prove negative da quelle positive.

Molteplici sono in questo periodo le prove funzionali e le reazioni biochimiche proposte allo scopo di poter diagnosticare lo stato gestazionale che Ettore Cuboni, medico, docente alla R. Università di Milano, denomina "*metodi non specifici di diagnosi della gravidanza*" e vastissima è la letteratura sull'argomento per cui è necessario riportare solo alcuni di questi esami a volte singolari (1,2,44).

Fra i metodi ideati nel Novecento, il test proposto da Abderhalden è interessante più per le vicende che portarono alla grande attenzione suscitata che per la sua attendibilità e diffusione ed anche perché, teoricamente, avrebbe dovuto essere la prima reazione specifica per la gravidanza (45).

Emil Abderhalden (1877-1950), (Figura 23) biochimico svizzero, si laurea a Basilea nel 1902 e quindi lavora a Berlino nel laboratorio del famoso chimico Emil Hermann Fischer (1852-1919) dove intraprende gli studi sulla biochimica delle proteine, suo futuro principale campo di lavoro. Nel 1911 è professore ordinario di fisiologia e chimica fisiologica all'Università di Halle, incarico che detiene fino al 1950. Noto per gli studi sul metabolismo proteico e gli aminoacidi è conosciuto in ostetricia e ginecologia per la reazione di gravidanza che propone nel 1912 (1,2,44,45).

Il test si basa sull'assunto che quando "*proteine estranee*" di origine placentare raggiungono il torrente circolatorio dei mammiferi senza essere state soggette a degradazione nel tratto alimentare, le cellule del corpo elaborano specifici enzimi ("*fermenti protettori*", "*fermenti protettivi*", "*enzimi di difesa*") che sono in grado di demolire tali proteine a prodotti semplici come gli aminoacidi. Abderhalden in seguito asserisce che nel corso della gestazione avverrebbe la penetrazione nel sangue della madre delle "*proteine estranee*" con la formazione di "*fermenti protettivi*". Per la diagnosi di gravidanza basta quindi dimostrare la presenza di questi enzimi nel siero del sangue della donna mescolandolo con albumine placentari e appurare poi se sono state disintegrate ad aminoacidi.

Uno dei metodi utilizzati implica l'uso di un dispositivo di dialisi dove viene posto il siero con un apposito substrato placentare e incubato in un recipiente con acqua distillata. Dove è presente lo specifico enzima, cioè se il campione è di una donna gravida, parte del tessuto placentare viene degradato ad aminoacidi che diffondono nell'acqua distillata dove possono

Figura 23. Emil Abderhalden (1877-1950).

essere rilevati con la reazione colorimetrica con ninidrina. In alternativa nel dializzato può essere testato l'azoto con il metodo di Kjeldahal o mediante reazione colorimetrica con il reattivo di Esbach (Abderhalden, 1922).

Per superare le difficoltà tecniche del procedimento di dialisi sono impiegati anche vari metodi ottici per rilevare cambiamenti proteolitici nella miscela siero-substrato. Si utilizzano polarimetri, refrattometri per evidenziare l'avvenuta degradazione attraverso modificazioni del potere di rifrazione (1919), interferometri (1929) oppure spettrofotometri e fotometri per misure turbidimetriche delle miscele siero-substrato o le reazioni colorimetriche suggerite da alcuni autori. Con queste ultime si evidenzia l'avvenuta disintegrazione delle albumine usando frammenti di tessuto placentare colorati, per esempio al carminio, che, in caso di reazione positiva, viene messo in libertà e colora la miscela (45).

Al metodo di Abderhalden viene data molta pubblicità in quanto ad esso è attribuita una grande accuratezza. Fin dalla sua presentazione molte sono le valutazioni e per i primi due anni sono tutte favorevoli. L'interesse suscitato dalla nuova reazione può essere determinato dal numero di pubblicazioni riguardo ad esso: più di trecento fino al 1915. Nel 1922 Abderhalden nel suo libro "*Die Abderhaldensche Reaktione*" dichiara di riportare solo una selezione delle referenze che coprono il primo decennio della storia del test poiché una lista completa avrebbe occupato la maggior

parte del lavoro (44). L'accuratezza del metodo, il più importante fattore fra gli aspetti clinici, dipende dalla specificità della reazione che, secondo Abderhalden ed i suoi più ferventi sostenitori, è fuori discussione. Il test "*se condotto come si deve*" è considerato essere infallibile. L'alto prestigio cui, all'epoca, gode Abderhalden, fa sì che i ricercatori che non riescono a raggiungere le ottimistiche conclusioni della maggioranza e che dubitano della specificità della reazione, siano aspramente criticati, disprezzati e soggetti a ripercussioni negative sulla carriera. Si pensi che Leonor Michaelis (1875-1949), noto per i suo lavoro con Maud Leonora Menten (1879-1960) sulla cinetica enzimatica, è fra questi. I risultati sfavorevoli sono scartati adducendo motivi di procedure tecniche lacunose o errori dei ricercatori. Alle loro rivendicazioni di aver seguito in modo ineccepibile le indicazioni di Abderhalden questi replica: "*Io tratto tali asserzioni con lo scetticismo frutto di una ricca esperienza*" (44).

Le critiche comunque non vengono zittite.

Presto si diffonde l'idea che non tutti coloro che ottengono risultati negativi siano sbadati e non sufficientemente specializzati, come è improbabile che quelli che ritengono il test infallibile siano tutti irreprensibili. Michaelis e Lagermarck fin dal 1914 dopo attente sperimentazioni mettono in dubbio l'attendibilità del test e criticano severamente la teoria sulla quale la reazione è basata. Non riescono a ottenere i risultati di Abderhalden nonostante abbiano trascorso una settimana nel suo laboratorio di Halle per verificare il modo di operare. Non trovano differenze fra il siero di donne incinte e non incinte o fra uomini e donne. Nel 1914 Michaelis pubblica, con i suoi collaboratori, i risultati negativi ottenuti, e questo segna la fine della sua carriera accademica in Germania (46).

Un ulteriore e più vigoroso attacco viene fatto nel 1914 da Archibald Leitch (1878-1931), patologo al *Cancer Hospital* di Londra, che mette in ridicolo l'assioma che il risultato non è mai sbagliato e condanna la valanga di comunicazioni che acclamano la reazione come infallibile trascurando i risultati sfavorevoli (47,48). Attenti esperimenti di altri ricercatori, fra cui Donald van Slyke (1883-1971) del *Rockefeller Institute*, confermano le conclusioni di Leitch. Malgrado la generale presa di coscienza che il metodo di Abderhalden non possieda l'affidabilità ad esso attribuita, l'interesse per il test non diminuisce, supportato dalla grande fama di biochimico di Abderhalden e dalle frequenti pubblicazioni di modifiche che non riescono però a farne una affidabile prova per la gravidanza. Il diffuso interesse per la reazione finisce con l'avvento dei test ormonali e riferimenti ad essa scompaiono dalla letteratura ginecologica. Abderhalden non si scoraggia, dimostra (1930) che l'enzima protettivo è presente anche nelle urine delle donne gravide essendo escreto dai reni (asserzione già fatta da Kafka nel 1914), e che il suo saggio può essere semplificato sostituendo il siero con

l'urina. Questa e successive altre modifiche del test urinario non sono però sufficienti a risollevarne le sorti (44) .

Altra analisi che può destare curiosità è quella di Kosjakov (1929), che deriva dagli studi di questo medico russo sulla diversità della composizione chimica dei capelli legata al sesso. Nota che la matrice cheratinica delle donne gravide, già all'inizio della gestazione, ha un contenuto di zolfo più alto rispetto alle non gravide e ai maschi. Questa osservazione viene utilizzata come "*hair testing*" per la gravidanza (test di Kosiakov e Afanasjevskj) (1934). Per determinare la quantità di zolfo si immerge un determinato peso di capelli, bolliti con soda, in una soluzione di blu di metilene. Le indicazioni cliniche si ottengono dal tempo richiesto per decolorarla. La decolorazione della soluzione avviene in 10-15 secondi se i capelli sono di una donna gravida invece dei 2 minuti necessari per quelli della donna non gravida.

Altri autori ottengono risultati negativi (44,45).

Nel 1928 Mertz osserva una differenza nelle proprietà di combinazione di alcune sostanze con gli acidi del siero delle donne gravide rispetto alle non gravide e sviluppa un test che si avvale di questo presupposto. Al siero vengono aggiunte una soluzione di acido fosfotungstico e, dopo incubazione a temperatura ambiente, alcune gocce di blu di bromofenolo. Se il siero è di una donna non gravida, la soluzione mantiene il colore azzurro mentre se è di una donna gravida diventa opaca e blu tendente al verde.

Mertz, su 150 test, rileva 9 risultati non corretti ma si tratta di casi di carcinoma. Alcuni ricercatori ottengono in seguito valori di accuratezza del 90/92% mentre per altri il test non è affidabile (2,44,45).

Secondo Cuboni (Figura 24), questi metodi attestano "*il desiderio insoddisfatto dei ricercatori di trovare una reazione di gravidanza non troppo complicata e sicuramente specifica*". Nessuno di questi test ha però incontrato l'approvazione concorde degli ostetrici in quanto, a loro avviso, risultano di poco pratica esecuzione e sono sufficientemente specifici solo nei casi di gravidanza inoltrata mentre l'interesse è rivolto ad avvallare con un esame di laboratorio attendibile una diagnosi ancor dubbia all'inizio della gestazione (1,2).

Una soluzione inizia ad intravvedersi a partire dagli anni venti del Novecento quando la ricerca sugli ormoni porta ad isolare l'ormone gonadotropo dell'ipofisi anteriore (Zondek e Aschheim, 1926 e contemporaneamente Smith e Engle), e poi l'estriolo, il progesterone (Butenandt, 1934) e l'estradiolo (Doisy, 1935) ed altri ancora. Possono così essere studiate e utilizzate nella diagnosi di laboratorio le già accennate "*reazioni biologiche di gravidanza orientate ad accertare indirettamente la presenza nell'organismo materno del prodotto del concepimento*" dedotto iniettando in

Figura 24. Ettore Cuboni: Reazioni biologiche di gravidanza (1935).

animali da esperimento sangue o urina della donna in esame e osservandone l'azione sull'apparato genitale (1,2).

Vengono allo scopo proposte alcune reazioni volte a provare la presenza di ormone follicolare nell'urina o nel siero (prova di Mazer ed Hoffman, 1928; prova di Siddall)

La prima indicazione dell'esistenza di ormone follicolare nel siero risale a Binz (1926) che osserva un aumento delle dimensioni dell'utero dell'animale da esperimento cui è stato iniettato il siero che contiene l'ormone follicolare.

Nel 1928 Alcines Clair Siddall (1897-1980), che aveva formulato la teoria secondo cui gli ormoni delle donne cambiano quando sono incinte e che questo potrebbe essere usato come test di gravidanza, indica il procedimento più adatto (prova di Siddall): per 5 giorni consecutivi si inocula a 5 topine immature 1 mL di sangue della donna; al termine del sesto giorno si sacrificano gli animali e si pesano. Si staccano gli uteri e le ovaie e si pesano; si fa il rapporto fra il peso dell'animale in toto e quello del complesso "utero+ovaie": se questo è minore o uguale a 400 la donna è gravida, mentre se supera 400 si può escludere la gravidanza (49).

Per la poca specificità del test, rilevata in quegli anni con prove su larga scala, ed i lunghi tempi di risposta (6 giorni) la prova di Binz e Siddall viene abbandonata.

Nel 1928 Mazer e Hoffman dimostrano che il test di Allen, una prova biologica per accertare la presenza di ormone follicolare in qualsiasi liquido, si può praticare con l'urina di donna e desumere quindi lo stato di gravidanza. Secondo le indicazioni dei due autori (1931) si iniettano sottocute in 3 tope adulte castrate 12 mL di urina divisi in 6 dosi da 2 mL somministrate nel corso di 2 giorni consecutivi. La reazione è positiva quando negli strisci vaginali, praticati mattina e sera nei 2 giorni seguenti all'ultima iniezione, si osserva la presenza di cellule epiteliali anucleate (Figura 25) (49).

Anche questa prova non entra nell'uso corrente per la poca specificità e l'alta mortalità delle cavie dovuta alla quantità di urina iniettata.

Una svolta importante al problema dell'affidabilità dei test e quindi alla possibilità di fare con precisione e precocemente una diagnosi di gravidanza comincia a divenire una realtà con alcune reazioni biologiche effettuate su animali nei quali le gonadotropine corioniche producono vistose modificazione dell'apparato genitale. Per la loro elevata sensibilità e accuratezza questi saggi, che portano il nome dei cinque scienziati che

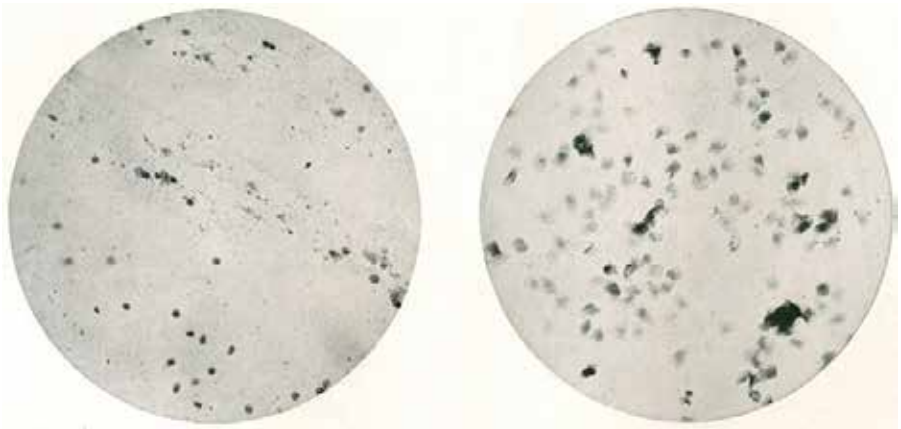


Figura 25. A) "Striscio vaginale di una topina castrata da circa un mese. Si osservano leucociti, scarse cellule epiteliali, muco e detriti amorfi."
B) "Striscio vaginale di una topina castrata da circa un mese, dopo 72 ore della prima iniezione di una preparazione di ormone follicolare: si osservano cellule epiteliali anucleate ammassate qua e là irregolarmente a mucchietti. Si noti la totale assenza di leucociti ... " (da E. Cuboni 1935).

le hanno realizzate, dominano la scena della prima metà del Novecento (43,50,51):

- test di Aschheim e Zondek (A-Z test), che utilizza topine immature.
- test di Friedman che utilizza coniglie immature.
- test di ovulazione di Hogben, che utilizza femmine mature di rospo *Xenopus laevis*.
- test di Galli Manini che utilizza rospi maschi maturi.

Selmar Aschheim (1878-1965) (Figura 26) si laurea in medicina a Friburgo nel 1902.

Dal 1908 lavora nel laboratorio istologico della clinica ginecologica dell'ospedale *Charité* di Berlino del quale diventa direttore e poco dopo capo della clinica ginecologica.

Oltre alla istologia ginecologica il suo interesse è rivolto alla ricerca sugli ormoni. Nel 1930 gli viene affidata la cattedra di ricerca biologica in ginecologia all'Università di Berlino.

Con la promulgazione delle prime leggi razziali, che precludono ogni attività accademica e professionale agli ebrei, nel 1933 viene rimosso dal suo incarico e nel 1937 si rifugia in Francia dove, durante l'occupazione tedesca, vive in clandestinità. Dopo la guerra diventa cittadino francese e direttore del Centro Nazionale per la Ricerca Scientifica all'Ospedale *Beaujon* di Parigi (52).

Figura 26. Selmar Ascheim (1878 – 1965).

Bernard Zondek (1891-1966) (Figura 27) si laurea in medicina a Berlino nel 1919. Ottiene un posto di assistente alla clinica ginecologica dell'ospedale universitario *Charité* dove nel 1923 consegue la specializzazione in ostetricia e ginecologia e dal 1926 al 1928 ricopre l'incarico di professore straordinario. Dal 1929 al 1933 è direttore del dipartimento di Ostetricia e Ginecologia dell'ospedale Berlino-Spandau. Con l'ascesa al potere dei nazisti e la conseguente entrata in vigore delle leggi razziali, nel 1933 viene destituito dalla sua carica. Lascia la Germania, raggiunge Stoccolma e nel 1940 si trasferisce a Gerusalemme dove gli viene affidata la cattedra di Ostetricia e Ginecologia alla *Hebrew University* e la direzione della Ostetricia e Ginecologia all'ospedale Hadassah, incarichi che detiene fino alla morte (53-55).

Figura 27. Bernard Zondek (1891 – 1966).

Aschheim e Zondek nel 1926 dimostrano che un singolo impianto di tessuto umano o animale del lobo anteriore dell'ipofisi in topine impuberi provoca, in 4-5 giorni, modificazioni caratteristiche dell'ovaio: aumenta di volume, diventa iperemico e compaiono follicoli emorragici e corpi lutei[12].

12 Oggi si sa che le modificazioni si devono all'ormone prodotto dalla placenta che Christian Hamburger (1904-2002) nel 1933 propone di chiamare "chorionic hormone". Herbert McLean Evans (1882-1971) nel 1935 suggerisce il nome "chorionic gonadotrophin hormone" o "chorionic gonadotrophin" per distinguerlo dalla gonadotropina pituitaria (50). Il nome correntemente utilizzato è ora "human Chorionic Gonadotropin" (hCG).

Nel 1927 studiando con questo metodo il ruolo degli ormoni pituitari nelle donne gravide trovano che gli ormoni gonadotropici sono escreti nelle urine fin dal trentacinquesimo giorno dall'ultima mestruazione e basano il loro test di gravidanza su questa scoperta (test di A-Z). Nel 1928 pubblicano i risultati ottenuti con le urine di un campione di donne gravide e non gravide. Il test biologico concorda con la diagnosi clinica nel 98.5% dei casi (50,56,57).

Per ogni prova di A-Z occorrono 5 topine di circa tre settimane, e del peso di 6-8 gr. circa, se sono più piccole muoiono facilmente in seguito alle iniezioni, se sono più grandi possono aver raggiunta la pubertà e dare quindi risultati falsi positivi. Ad ognuna vengono iniettati sottocute 0,5 mL di urina della donna per cinque volte nell'arco di tre giorni. Il quarto giorno si esamina lo striscio del secreto vaginale e la mattina del quinto giorno tutte vengono sacrificate procedendo immediatamente all'autopsia (1,2). (Figura 28).

La reazione è positiva quando si notano macroscopicamente le modificazioni che l'ormone preipofisiario dell'urina di gravida apporta all'ovaia delle topine impuberi (Figura 29):

- rapido accrescimento dei follicoli e del liquido follicolare;
- comparsa nell'ovaio di punti emorragici;
- comparsa nell'ovaio di corpi lutei.

	A	B
Lun.	*Iniez.* ore 11; 17 — cc. 0,20; 0,25; 0,30; 0,30; 0,40 per topina (oppure cc. 0,5 per tutte le topine).	———
Mar.	*Iniez.* ore 11; 17 — id. come sopra	*Iniez.* ore 11; 17 — cc. 0,20; 0,25; 0,30; 0,30; 0,40 per topina (oppure cc. 0,5 per tutte le topine).
Mer.	*Iniez.* ore 10 — id. come sopra	*Iniez.* ore 11; 17 — id. come sopra
Giov.	*Strisci.* Mattino e sera	*Iniez.* ore 10 — id. come sopra
Ven.	*Autopsia.* Al mattino, per l'esame delle ovaie.	*Strisci.* Mattino e sera
Sab.	———	*Autopsia.* Al mattino, per l'esame delle ovaie.

NB. - Si può eseguire indifferentemente secondo lo schema A o B.
Risultato: comparsa di punti emorragici nelle ovaie.

Figura 28. Schema della reazione di Aschheim-Zondek (da E. Cuboni 1935).

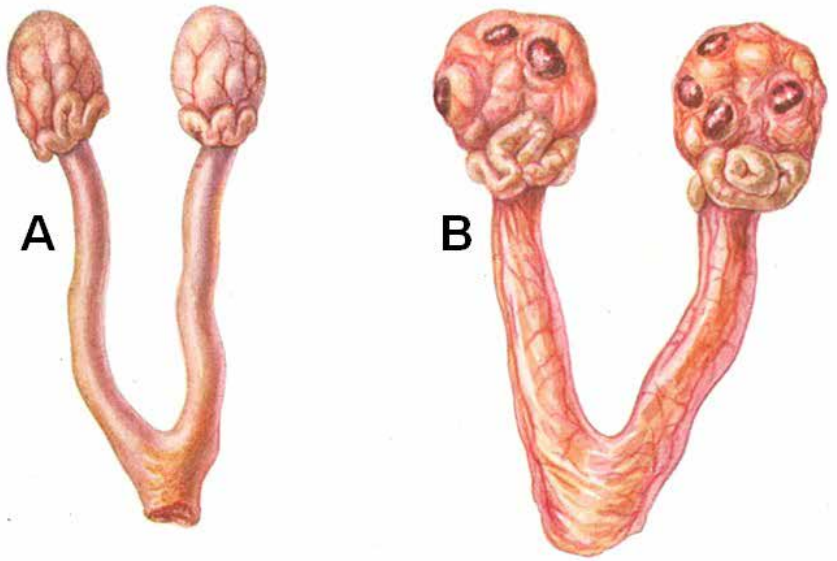


Figura 29. Reazione di Aschheim-Zondek: iniezione sottocutanea di urina di donna gravida in topina impubere.
A) Negativa
B) Positiva: aumento di volume ed iperemia delle trombe e delle ovaie, accrescimento dei follicoli e comparsa di emorragie intrafollicolari.

Si ha inoltre aumento del volume ed iperemia dell'utero e della vagina, orifizio vulvare aperto e modificazioni del secreto vaginale (2,10). Poiché la tossicità dell'urina provoca la morte del 5-15% delle topine, Zondek (1931) propone un procedimento di "svelenamento" del campione mescolando una parte di urina acidificata con 3 parti di etere in un imbuto separatore. L'urina, che si depositata nella parte inferiore dell'imbuto, non ha più potere tossico.

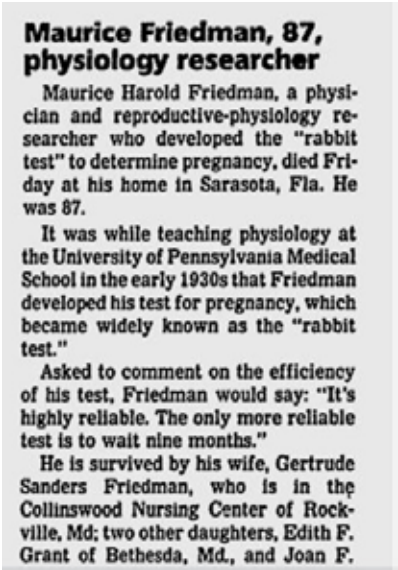
I principali difetti del metodo di A-Z sono la difficoltà di avere a disposizione un numero sufficiente di animali, la loro alta mortalità durante la prova, tempi lunghi per il completamento dell'esame e dubbi nell'esprimere i risultati con uno o due animali dove gli altri siano morti (1-3,43,51).

Il test avrà numerose modifiche apportate dagli autori stessi e da altri ricercatori (44,58).

Maurice Harold Friedman (1903-1991), professore di fisiologia alla *Pennsylvania Medical School.* Nel 1929 dimostra che una singola iniezione di urina di donna gravida è sufficiente a produrre ovulazione e formazione di corpi lutei in una giovane coniglia vergine mentre ciò non avviene con l'urina di donne non gravide e utilizza per primo questo animale per la diagnosi biologica di gravidanza. La prova sarà nota come test di Friedman

o Aschheim-Zondek-Friedman o più familiarmente nei paesi anglosassoni come *rabbit test*. Nel 1931 con Maxwell Edward Lapham (1899-1983) pubblica i risultati ottenuti dall'analisi di 92 urine di donne gravide e non gravide, dichiarando il 100% di accuratezza (43,50). Interrogato sulla efficienza della suo saggio, Friedman risponde con una battuta: "*E' altamente affidabile. La sola prova più attendibile è aspettare nove mesi*" (Figura 30). Il risultato del test può essere dato in 36-48 ore rispetto ai 5 giorni richiesti dal test di A-Z (51).

L'esecuzione del metodo è semplice: si utilizza una sola coniglia alla quale vengono iniettate nella vena marginale dell'orecchio 10 mL di urina del mattino portata a pH 7.4 e filtrata; la dose è ripetuta il giorno seguente e il terzo giorno si apre l'addome dell'animale in anestesia. La presenza di appariscenti corpi emorragici nelle ovaie indica positività della reazione (Figura 31). L'uso della coniglia presenta numerosi vantaggi: poter avere facilmente a disposizione un animale; la possibilità di fare iniezioni per via endovenosa ottenendo così una reazione molto rapida; la resistenza delle coniglie all'iniezione anche di forti dosi di urina e la possibilità di usarle nuovamente 3 settimane dopo una reazione positiva e anche prima dopo una negativa (non è opportuno usare un coniglio più di tre volte), e infine una evidente diagnosi macroscopica (1-3,43,45) .



Maurice Friedman, 87, physiology researcher

Maurice Harold Friedman, a physician and reproductive-physiology researcher who developed the "rabbit test" to determine pregnancy, died Friday at his home in Sarasota, Fla. He was 87.

It was while teaching physiology at the University of Pennsylvania Medical School in the early 1930s that Friedman developed his test for pregnancy, which became widely known as the "rabbit test."

Asked to comment on the efficiency of his test, Friedman would say: "It's highly reliable. The only more reliable test is to wait nine months."

He is survived by his wife, Gertrude Sanders Friedman, who is in the Collinswood Nursing Center of Rockville, Md; two other daughters, Edith F. Grant of Bethesda, Md., and Joan F.

Figura 30. Intervista a Maurice Friedman (1903-1991).

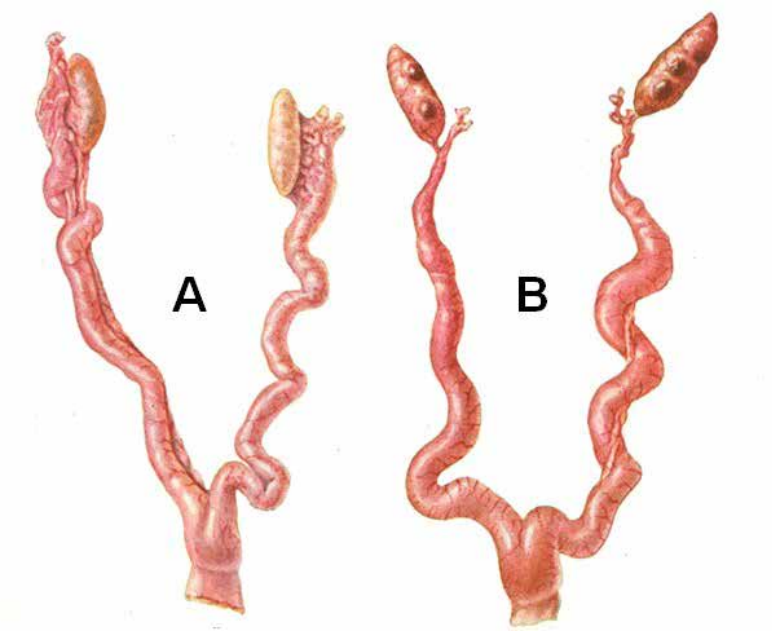


Figura 31. Reazione di Friedman: iniezione endovenosa di urina di donna gravida in coniglia in età feconda.
A) Negativa
B) Positiva: nelle ovaie follicoli emorragici.

Cuboni (1935) così sintetizza i vantaggi delle reazioni di A-Z e Friedman "*sono ormai entrate nella pratica perché specifiche (i loro risultati corrispondono col reperto clinico nel 98% dei casi); precoci (si può riconoscere l'esistenza della gravidanza già 8 giorni dopo la mancata mestruazione, cioè 35 giorni dopo l'ultima mestruazione avvenuta); di rapida esecuzione (la reazione di Aschheim-Zondek richiede 3-5 giorni e quella di Friedman 48 ore)*" (1-3).

Suggerisce anche indicazioni preanalitiche sulla raccolta, conservazione e trasporto del campione di urina:

"*I medici che inviano l'urina per la reazione di gravidanza ai Laboratori devono tener presente che bisogna mandare non meno di 70 cc. di urina raccolta al mattino a digiuno; che l'invio dell'urina deve essere fatto con mezzi celeri e che esistono sostanze conservatrici appropriate che si possono aggiungere all'urina nel caso che debba restare a lungo in viaggio*" (Cuboni, 1935) (1-3).

Molto attiva in quegli anni anche la ricerca di nuove reazioni biologiche di gravidanza che utilizzano animali anfibi. Sono metodi più rapidi rispetto a quelli degli autori precedenti che impiegano topi, ratti, conigli nei quali la reazione si manifesta lentamente e per rilevare i risultati si deve procedere alla dissezione dell'animale, operazione non necessaria con gli anfibi.

Lancelot Thomas Hogben (1895-1975), è uno dei più versatili biologi della sua generazione (Figura 32). Dà importanti contributi alla genetica, alla zoologia, alla statistica medica.

Studia al *Trinity College*, Cambridge, dove si laurea nel 1915 e decide di dedicarsi alle scienze anziché alla medicina.

Nel 1918 si sposta all'*Imperial College* dove segue le lezioni di matematica di Hyman Levy (1889-1975) acquisendo notevole competenza in questa disciplina. Nel 1920-21 pubblica 6 lavori di citologia sperimentale che gli fanno ottenere un D.Sc. (*Doctor of Science*) dalla Università di Londra e l'offerta di un lavoro al nuovo *Animal Breeding Research Laboratory* di Edimburgo dove indirizza le sue ricerche alla endocrinologia comparativa. Nel 1925 si trasferisce a Montreal per diventare assistente di Zoologia Medica alla *McGill University,* incarico che lascia nel 1927 per la cattedra di Zoologia all'Università di Cape Town. Qui conduce ricerche sulla locale specie di rospo *Xenopus laevis.* Nel corso delle sue osservazioni Hogben nota (1930) che la femmina dello *X. laevis* depone uova dopo una iniezione di estratto della

Figura 32. Lancelot T. Hogben (1895 – 1975).

pituitaria anteriore. All'epoca l'ormone attivo in questo estratto era ritenuto essere identico alla sostanza gonadotropica nelle urine delle donne gravide. Questa osservazione conduce alla realizzazione di un test di gravidanza che porta il suo nome (1939).

Altro importante lavoro di Hogben è il testo *Mathematics for the Million* (1936) che ebbe 4 edizioni, più di mezzo milione di copie vendute e traduzioni in 15 lingue.

Durante la Seconda Guerra Mondiale Hogben è responsabile di statistica medica dell'esercito inglese e in seguito professore di questa disciplina dal 1947 al 1961 (59).

Il test di Hogben si esegue iniettando l'urina della donna in esame (1-2 mL) nel sacco linfatico dorsale della femmina dello *Xenopus laevis*. In caso di gravidanza, dopo 6-8 ore l'animale comincia a deporre le uova, il cui numero nei casi nettamente positivi varia da 50 a 200. La reazione è negativa se entro 40 ore non emette uova e debolmente positiva se depone 20-30 uova (Figura 33).

I diversi autori che hanno sperimentato la reazione la ritengono "esatta" e molto rapida.

Una sua diffusione appare però difficile, data la difficoltà di procurarsi i rospi e la necessità di concentrare le urine mediante estrazione poichè lo *Xenopus* non è particolarmente sensibile alle gonadotropine. La sua poca resistenza alle tossine urinarie viene superata con il processo di estrazione che le elimina (1-3,43,45,60).

Figura 33. Reazione positiva di gravidanza con il Xenopus laevis: le uova deposte si notano sul fondo del contenitore.

Carlos Galli Mainini (1914-1961) (Figura 34) endocrinologo argentino. Si laurea in medicina nel 1937 e si specializza in endocrinologia all'Università di Buenos Aires. Lavora per un anno alla Clinica Medica del Policlinico di Roma e quindi riceve una borsa di studio per gli Stati Uniti alla Harvard University. Al suo ritorno in Argentina ottiene un posto di ricercatore all'Istituto di Biologia e Medicina Sperimentale diretto da Bernardo Alberto Houssay (1887-1971) premio Nobel per la medicina nel 1947 per le scoperte sulla regolazione del livello di glucosio da parte degli ormoni pituitari. Nel 1952 diviene, per breve tempo, capo della Clinica Medica dell'ospedale di Lanùs nella provincia di Buenos Aires. Il lavoro che lo rende noto nel mondo della medicina è un metodo di determinazione biologica di gravidanza che pubblica nel 1947 (61).

La reazione di Galli Mainini prevede la iniezione di 10 mL di urina non trattata della donna in esame nel sacco linfatico dorsale di un maschio adulto del rospo *Bufo arenarum Hensel*. Se la donna è gravida la presenza nell'urina della gonadotropina corionica induce l'animale a produrre spermi entro 3 ore. Questi possono essere chiaramente osservati microscopicamente nell'urina del *Bufo* raccolta con una pipetta di vetro inserita nella cloaca (Figura 35). In una serie di 3156 test Galli Mainini raggiunge una accuratezza del 98-100% (51,62,63).

Figura 34. Carlos Galli Mainini (1914 – 1961).

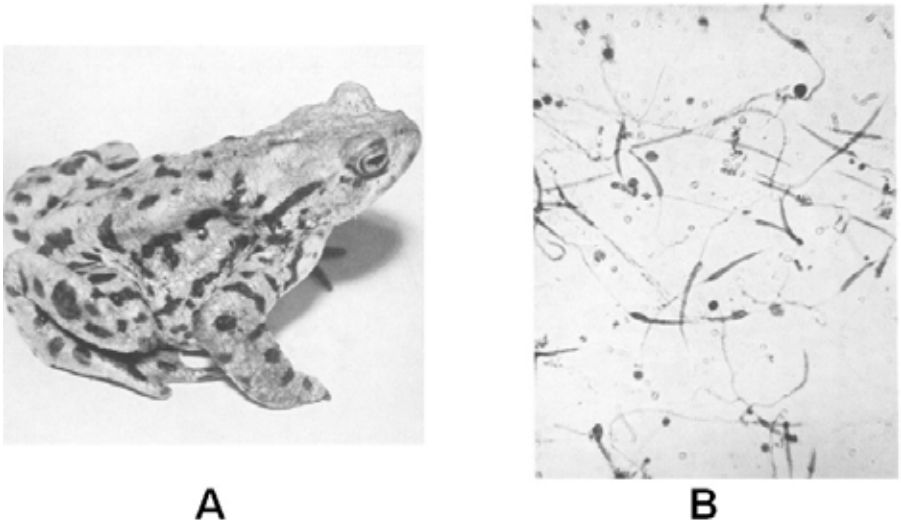


Figura 35. A) Maschio adulto di Bufo arenarum
B) Reazione positiva: osservazione microscopica (300 x) di spermatozoi di Bufo arenarum.

Da ricordare infine, anche se poco utilizzata, la prova di Ehrhardt e Kühn (1933-34):

se si aggiungono 5 mL dell'urina in esame a 1000 mL dell'acqua in cui si trovano femmine del *Rhodeus amarus*, un pesce di 4-6 cm. assai diffuso nelle acque dolci dell'Europa centrale, il loro organo ovopositore, avente la forma di una appendice centrale, in 2-4 giorni diventa molto più lungo del normale se l'urina è di una donna gravida, cosa che non succede in condizioni normali. La reattività di questi piccoli pesci all'urina delle gestanti è spiccata, ma varia nelle diverse stagioni ed anche fra singoli individui. Per ottenere risultati attendibili occorrono particolari accorgimenti nell'esecuzione delle prove (1, 45) (Figura 36).

Numerosissime sono state nella prima metà del Novecento la ricerche per individuare nuove reazioni per determinare la gravidanza o trovare variazioni per migliorare quelle già esistenti. Le più diffuse sono state quelle citate, alcune delle quali (reazioni di Friedman e di Galli Mainini) sono rimaste in uso fin dopo la metà del secolo (64).

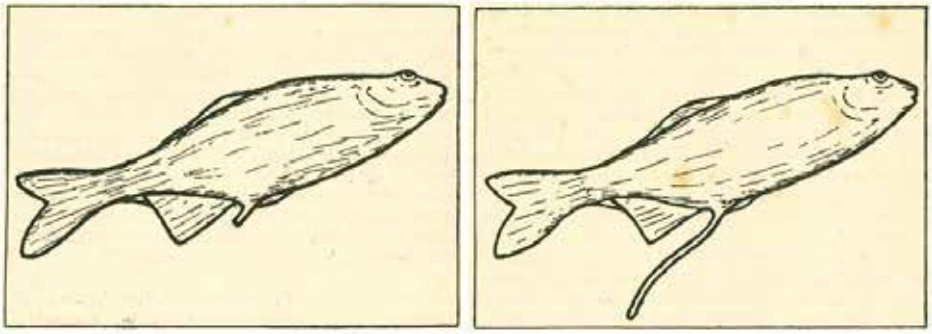


Figura 36. Prova di gravidanza di Ehrhardt e Kuhn

La seconda metà del secolo XX e i primi decenni del XXI

La seconda metà del Novecento, a seguito dei fondamentali lavori di Asccheim, Zondek ed altri studiosi, è caratterizzata da un aumento dell'interesse per l'endocrinologia della riproduzione ed in particolare del sistema riproduttivo femminile. Di conseguenza si assiste ad un sempre maggiore coinvolgimento del laboratorio nella diagnosi di gravidanza anche per la disponibilità di parametri di nuova concezione, derivati dal progredire degli studi della biochimica, della immunologia e della immunometria[13].

Nel 1960 il medico svedese Carl Axel Gemzell (1910-2007), pioniere della endocrinologia della riproduzione, ed il collega Leif Edvin Wide (n. 1934) presentano il primo test immunologico (*hemoagglutination inhibition test*) per confermare lo stato di gravidanza. Il metodo prevede che l'urina in esame sia mescolata con hCG purificata e anticorpi anti-hCG. Il test risulta molto più rapido e meno costoso delle prove biologiche ma si rivela poco sensibile specialmente per la diagnosi precoce, inoltre l'interferenza di alcuni componenti dell'urina può dare risultati falsi-positivi o falsi-negativi.

Il metodo Gemzell-Wide apre la via ad una lunga serie di esami di laboratorio per la diagnosi di gravidanza, che impegna scienziati di tutto il mondo nello studio degli ormoni coinvolti, in particolare della molecola hCG. Questi studi saranno alla base dei test immunologici che risultano oggi più affidabili e di maggiore supporto alla clinica ostetrico ginecologica.

13 Le prime determinazioni immunometriche derivano dagli studi di Salomon Aaron Berson (1918-1972), Rosalyn Sussman Yalow (1921-2011) e Roger Philip Ekins (n. 1926). R.S. Yelow riceverà il premio Nobel per la Medicina nel 1977 con la motivazione: *"for the development of radioimmunoassays of peptide hormones"*.

La molecola hCG

La gonadotropina corionica umana (hCG) è una glicoproteina composta da 237 aminoacidi con una massa molecolare di 25,7 kDa (65).

È un eterodimero costituito da due differenti subunità α e β, legate non covalentemente. La subunità α è identica a quella dell'ormone luteinizzante (LH), dell'ormone follicolo-stimolante (FSH), dell'ormone stimolante la tiroide (TSH), la subunità ß è specifica per hCG prodotta dal tessuto trofoblastico nella gravidanza e nella patologia trofoblastica ed in piccola quantità da alcune neoplasie scarsamente differenziate. La subunità α dell'hCG, simile a quella degli ormoni glicoproteici ipofisari, è composta da 92 amminoacidi ed è stabilizzata da 5 ponti disolfuro, ha inoltre due catene laterali oligosaccaridiche legate all'azoto dei residui amminoacidici 52 e 78. La subunità β è unica e distingue l'hCG dagli altri ormoni glicoproteici: è composta da 145 aminoacidi, codificati da sei geni altamente omologhi che sono disposti in tandem a coppie invertite sul cromosoma 19q13.3 – CGB, ed è stabilizzata da 6 ponti disolfuro (2,64-68). Ha due catene laterali oligosaccaridiche legate all'azoto dei residui aminoacidici 13 e 30 e contiene inoltre quattro unità oligosaccaridiche legate all'ossigeno, localizzate nella caratteristica zona C-terminale che presenta un elevato contenuto di Prolina e Serina (residui dal 122 al 145). Le due subunità creano un piccolo centro idrofobico circondato da un involucro con un elevato rapporto superficie-volume: 2,8 volte quello di una sfera. La grande maggioranza degli amminoacidi disposti sulla superficie sono idrofili (Figura 37).

Mentre LH ed FSH sono prodotti dall'adenoipofisi, l'hCG è una glicoproteina liberata, in gravidanza, dal trofoblasto, quindi dalla placenta. In realtà l'hCG inizia ad essere prodotta già dalla blastocisti, ancora prima che avvenga lo stesso impianto, e la sua presenza nel sangue materno può essere rilevata circa una settimana dopo l'ovulazione (se è stata seguita dal concepimento) (69).

La concentrazione della forma biologicamente attiva dell'hCG (hCG integra), nel siero e nelle urine, cresce in modo esponenziale nel corso del primo trimestre della gravidanza, raddoppia ogni 48 ore, sino a raggiungere un picco attorno alla decima settimana di gestazione (calcolata dall'ultima mestruazione). Le concentrazioni successivamente diminuiscono dalla decima alla sedicesima settimana di gestazione, raggiungendo un valore di circa un quinto rispetto al valore del picco e rimanendo approssimativamente a questo livello sino al termine della gravidanza. Da notare che il calo di hCG nel sangue materno si verifica in contemporanea con l'aumento di produzione, sempre a livello placentare, di progesterone. (Figura 38).

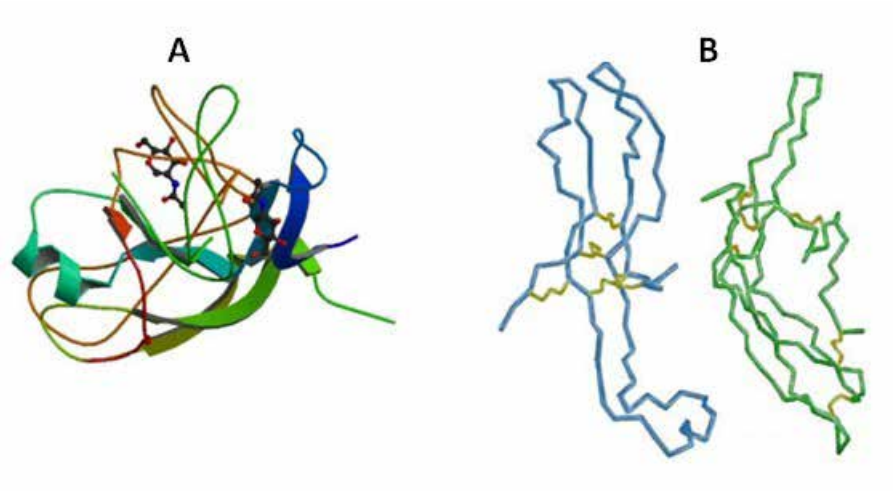


Figura 37. Struttura della molecola dell'hCG: A) eterodimero e B) singole sub unità.

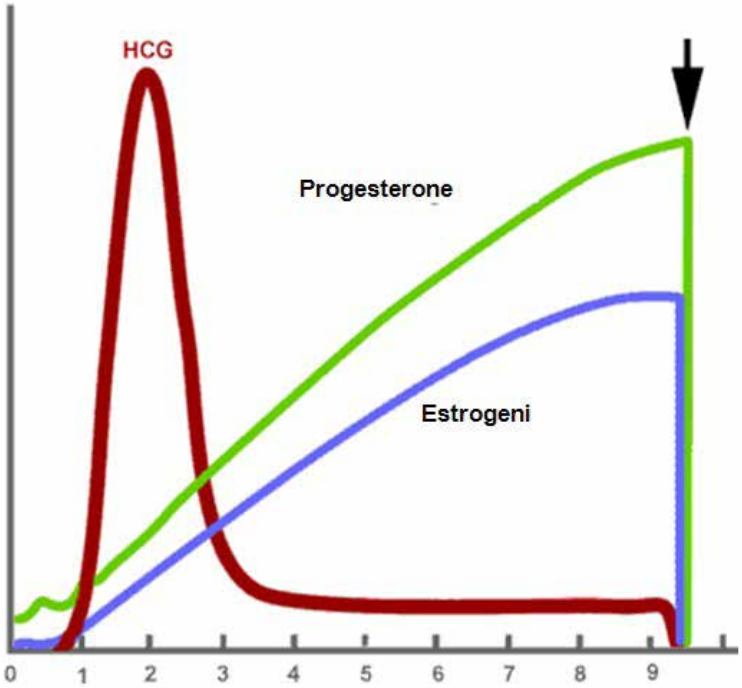


Figura 38. Livelli circolanti di ormoni nel corso della gravidanza.

L'ormone è presente nei campioni di siero e di urina delle donne in gravidanza anche come forme molecolari differenti, derivanti da dissociazione o degradazione, che possono avere o meno attività biologica.

Nei campioni di siero e di urina di donne in gravidanza sono presenti numerose molecole correlate all'hCG: tra queste si includono molecole degradate di hCG, forme iper- ed ipoglicosilate, subunità libere, macro subunità libere e frammenti (Figura 39) (70).

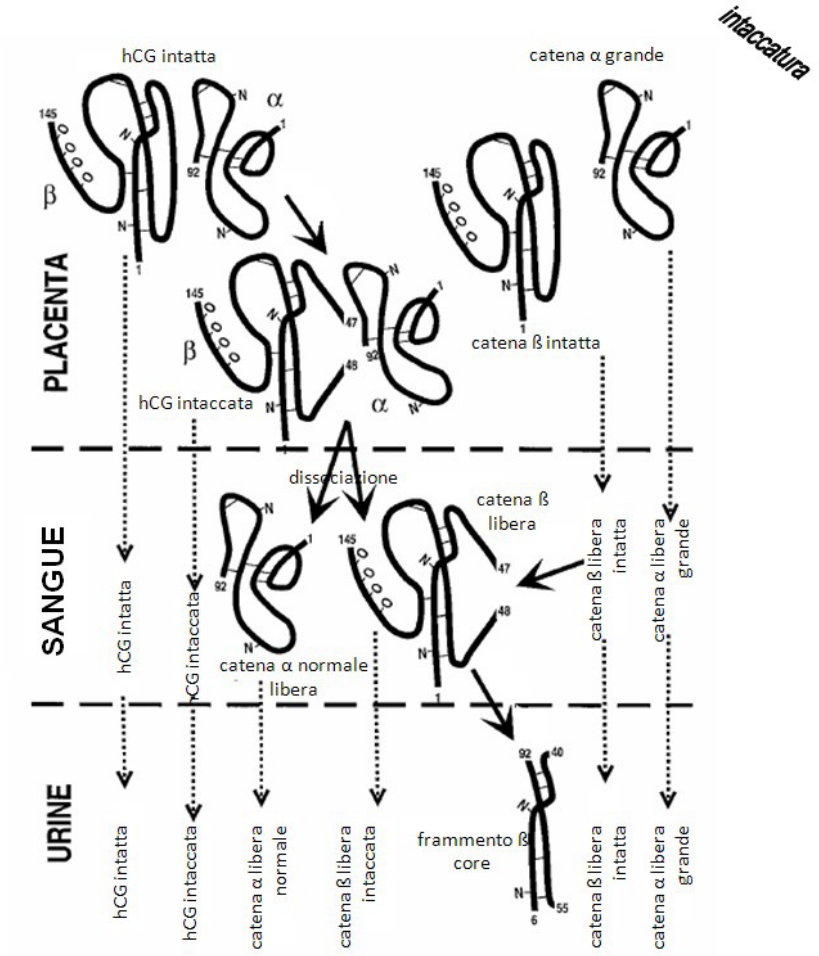


Figura 39. Molecole derivate dall'hCG presenti nei campioni di sangue e urine nel corso della gravidanza (da riferimento 70).

La forma "intaccata" dell'hCG presenta una sola zona di deplezione nel peptide della subunità β, tra i residui 47 e 48, o meno frequentemente tra 43 e 44 o 44 e 45 (Figura 39). La concentrazione di tale forma dell'hCG raggiunge il valore massimo contemporaneamente alla forma integra attorno alla decima settimana di gestazione. Nel secondo mese di gestazione il numero delle molecole della forma "intaccata" di hCG presenti nel siero rappresentano circa il 9% (valore medio) del numero totale di molecole di hCG, questa proporzione sale sino al 21% (valore medio) al nono mese di una gravidanza normale (Figura 40). Anche nei campioni di urina si riscontrano valori simili del rapporto tra forma "intaccata" e integra (71). Sebbene questi valori di percentuale siano molto bassi, si possono riscontrare variazioni interindividuali molto evidenti (Figura 40). In uno studio, effettuato su 176 campioni di siero di donne al primo trimestre di gravidanza, sono state rilevate percentuali di forma "intaccata" dell'hCG che variavano dallo 0 al 59% (72).

Nei campioni di siero ed urina sono presenti due forme di subunità a libere (Figura 39): una corrisponde alla forma normale di subunità a libera, che è la stessa che si ritrova nella subunità a della molecola dell'hCG, ed una subunità a più grande. Quest'ultima è costituita da una subunità a iperglicosilata, contenente delle catene oligosaccaridiche, legate all'azoto, più grandi e più complesse (73): la presenza di queste particolari catene oligosaccaridiche non consentono il legame delle macro subunità α alle subunità β e di conseguenza le macro subunità a sono prodotte dalle cellule trofoblastiche esclusivamente come subunità libere e non possono essere incluse nella costituzione delle molecole intere di hCG (73). Studi elettorforetici hanno dimostrato che le subunità a libere presenti in campioni di urina di donne in gravidanza sono costituite prevalentemente dalla forma macro (73). Attualmente non sono disponibili metodi immunometrici che consentano di determinare separatamente le concentrazioni delle subunità a libere con struttura normale o iperglicosilata, di conseguenza deve essere considerata la somma dei due analiti. La concentrazione delle subunità a libere nel siero rappresenta il 5% (valore medio) della concentrazione totale dell'hCG nel corso del secondo mese di gravidanza; percentuale che sale al 54% nel corso del nono mese (mol/mol) (Figura 40). Nelle urine la percentuale delle subunità α libere può essere leggermente più elevata (71). Anche i valori del rapporto tra le varie forme di subunità a libere, come nel caso delle molecole di hCG "intaccata", possono variare notevolmente (Figura 40).

Nei campioni di urina e di siero sono presenti anche le subunità β libere, sia nella forma "intaccata" che nella forma integra, e la loro concentrazione massima viene raggiunta, come per l'hCG, circa alla decima settimana di

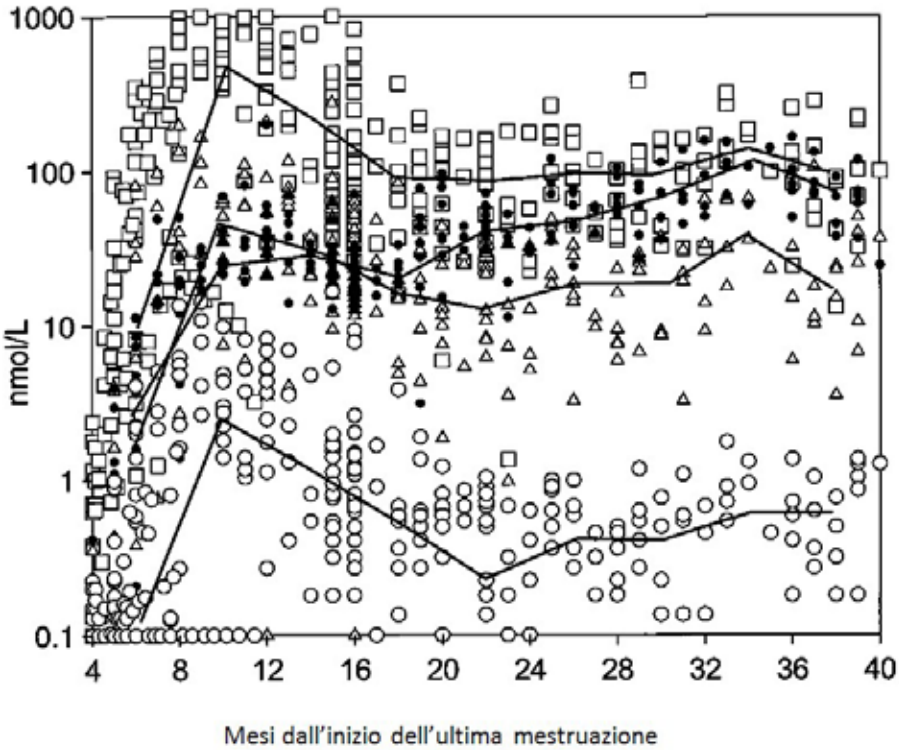


Figura 40. Concentrazioni dell'hCG e dei suoi metaboliti nel siero di donne in gravidanza: hCG integra (□),"intaccata" (Δ), subunità α libere (●) e subunità ß libere (❍) (da riferimento 70).

gestazione. La concentrazione totale nel siero delle subunità β libere è molto bassa: 0.9% della concentrazione totale dell'hCG (valore medio) nel corso del secondo mese di gravidanza; questo valore scende allo 0,5% al nono mese (Figura 40) (65). Nelle urine le subunità β libere sono presenti in percentuali più elevate: dal 9% al 40% (71).

Il frammento β core cosituisce il prodotto finale del processo di degradazione dell'hCG; sebbene esso rappresenti la principale molecola correlata alla subunità β dell'hCG nelle urine di donne in gravidanza, è praticamente non determinabile nei corrispondenti campioni di siero (<0.3% della concentrazione totale di hCG) (74,75). Il frammento β core comprende due peptidi derivanti dai residui amminoacidici delle sequenze da 6 a 40

e da 55 e 92 della catena β e mantenuti uniti da cinque ponti disolfuro (74) (Figura 40); le dimensioni del frammento b core (PM = 9000) sono circa un quarto della molecola intera dell'hCG (PM = 36700) (74). La concentrazione nelle urine rispecchia l'andamento generale delle concentrazioni sieriche dell'hCG; il valore massimo viene raggiunto circa alla decima settimana di gestazione. Le concentrazioni del frammento β core, partendo da livelli molto più bassi di quelli dell'hCG, verso la quinta settimana di gestazione aumentano rapidamente sino a raggiungere, tra la 6ª-7ª settimana, gli stessi livelli di quella dell'hCG (mol/mol); successivamente la concentrazione del frammento β core supera quella dell'hCG (71,72). Nelle urine la concentrazione del frammento β core rappresenta mediamente il 58% dell'hCG nel corso del secondo mese di gravidanza e raggiunge il 305% al termine della gravidanza (71,72).

Cellule trofoblastiche isolate sono in grado di secernere molecole di hCG integra, subunità β libere integre e macro subunità a libere (73,75-77); ma non secernono molecole di hCG "intaccata", subunità β libere e frammenti β core (71,76,78). Studi condotti su colture cellulari e con metodi immunoistochimici dimostrano che la molecola di hCG viene "intaccata" dopo la secrezione sotto l'azione di enzimi prodotti da macrofagi associati alle cellule trofoblastiche (71). La molecola di hCG "intaccata" è instabile (71,79) e nel siero si divide immediatamente dando origine alle subunità β "intaccata" libere ed alle subunità α libere. La non rilevabilità del frammento β core nel siero (75) e la sua maggiore concentrazione nelle urine suggerisce che esso sia prodotto a livello renale (74,75,77,78); valutazioni di tipo cinetico inoltre evidenziano che il substrato per questa sintesi sia costituito dalle subunità β "intaccate" libere (71,80). Una possibile sequenza di passaggi per la degradazione della molecola di hCG è la seguente: hCG integra ⇨hCG "intaccata" ⇨ subunità β "intaccata" libera ⇨ frammento β core (Figura 40) (71,79,80).

L'hCG interagisce con il recettore LhCG e promuove il mantenimento del corpo luteo durante l'inizio della gravidanza. Questo permette al corpo luteo di secernere il progesterone, durante il primo trimestre, la cui azione comporta il rivestimento dell'utero con uno spesso strato di vasi sanguigni e di capillari che sostengono la crescita del feto. Grazie alla sua carica altamente negativa, l'hCG svolge un'azione di repulsione nei confronti delle cellule immunitarie materne, proteggendo il feto durante il primo trimestre. È stato anche ipotizzato che l'hCG possa svolgere un ruolo a livello placentare per lo sviluppo della immunotolleranza materna locale: infatti, cellule endometriali trattate con hCG inducono un aumento dell'apoptosi delle cellule T. Queste evidenze suggeriscono che l'hCG possa costituire uno dei fattori che facilitano lo sviluppo di tolleranza immunitaria peritrofoblastica, favorendo la crescita del trofoblasto e quindi accelerare lo sviluppo fetale nell'endometrio (66).

È stato anche segnalato che elevati livelli di hCG sono legati alla comparsa di iperemesi nelle donne in gravidanza (81). A causa della sua somiglianza con la molecola dell'LH, l'hCG può anche essere impiegata per indurre l'ovulazione a livello ovarico, nonché per stimolare la produzione di testosterone a livello testicolare.

Nei campioni di siero ed urina derivanti da gravidanze affette da Sindrome di Down, preeclampsia e patologie trofoblastiche si riscontrano quantità maggiori, ed in proporzioni più variabili, di forme molecolari quali hCG "intaccata", subunità β libere e frammenti β core (82-85). Nel caso di alcuni pazienti portatori di patologia trofoblastica, neoplasia testicolare, neoplasia della vescica ed di donne con gravidanza normale a 3-10 giorni dopo il parto è stata riscontrata, nel siero e nelle urine, la presenza esclusiva delle forme di hCG "intaccata" o subunità β libere oppure solo il frammento β core nelle urine (86-88). Questa osservazione fa supporre che nelle gravidanze patologiche, nelle neoplasie, nelle patologie trofoblastiche e nei giorni successivi all'eliminazione dell'hCG vi sia una maggiore attività enzimatica relativa al processo di "intaccatura" ed alle vie di degradazione dell'hCG (79,80,86).

La determinazione dell'hCG

L'hCG è l'analita da sempre ricercato per la determinazione dello stato di gravidanza: prima con metodi biologici come quello di Galli-Mainini (su animali da esperimento) (2,4,49,64) e successivamente con le varie tecniche immunometriche che hanno permesso una migliore determinazione dell'hCG e delle sue frazioni α e ß. Tale determinazione risulta utile anche nel monitorare alcune condizioni patologiche, quali la minaccia d'aborto o la gravidanza ectopica. Il dosaggio dell'hCG può essere eseguito sia sulle urine che sul sangue.

Il metodo competitivo RIA hCGβ, con anticorpi policlonali diretti verso la subunità β, permetteva di determinare, contemporaneamente ed indistintamente, tutte le diverse forme molecolari della subunità β dell'hCG (hCG "intaccata" e integra, catene β libere e frammenti β core) (72). Ora le tecnologie si sono evolute ed i metodi isotopici competitivi RIA sono stati sostituiti da metodi basati sull'eccesso di anticorpo (*sandwich*), automatizzati o manuali, che utilizzano anticorpi monoclonali (Figura 41) e sofisticati sistemi di rilevazione del segnale non isotopico (spettrofotometria, fluorescenza di lantanidi e luminescenza). A seconda della combinazione di anticorpi monoclonali impiegati, questi dosaggi sono in grado di rilevare miscele differenti di molecole correlate all'hCG. È evoluta la tecnologia dei dosaggi immunometrici dell'hCG oppure la misura dell'hCG si è complicata per l'uso della tecnologia? Certamente vi è eterogeneità nelle molecole di

hCG presenti nei campioni, ma si deve anche considerare che vi è diversità tra quello che i dosaggi immunometrici disponibili riescono a rilevare.

Sull'hCG e sulle molecole ad essa correlate sono stati identificati numerosi epitopi riconoscibili dagli anticorpi (Figura 41): 5 siti non sovrapposti sulla forma integra dell'hCG, 4 sulla forma "intaccata", 2 sulla subunità α libera, 6 sulla subunità β integra libera, 5 sulla subunità β "intaccata" libera e 4 sul frammento β core (Tabella 1). Molti metodi commerciali disponibili per la determinazione dell'hCG, sia per l'impiego in laboratorio/ambulatorio che per l'uso domestico, utilizzano vari anticorpi diretti verso epitopi differenti dell'hCG o delle sue subunità libere (dosaggi non competitivi). In genere un anticorpo monoclonale è utilizzato per la cattura della molecola di hCG riconoscendo un epitopo specifico sulla molecola dell'ormone; quindi la molecola di hCG, catturata ed immobilizzata, viene evidenziata da un secondo anticorpo (monoclonale o policlonale) diretto su un secondo sito dell'ormone non interferente con il primo. Quest'ultimo anticorpo (anticorpo tracciante) può essere marcato con una sostanza colorata, un isotopo o un enzima (per la rilevazione spettrofotometrica o in luminescenza) in modo da poter quantificare l'hCG immobilizzato nel primo passaggio. In alcuni metodi di determinazione viene utilizzato un secondo anticorpo monoclonale di cattura che permette di immobilizzare le subunità β libere e successivamente queste vengono evidenziate con lo stesso anticorpo marcato che rileva l'hCG integra.

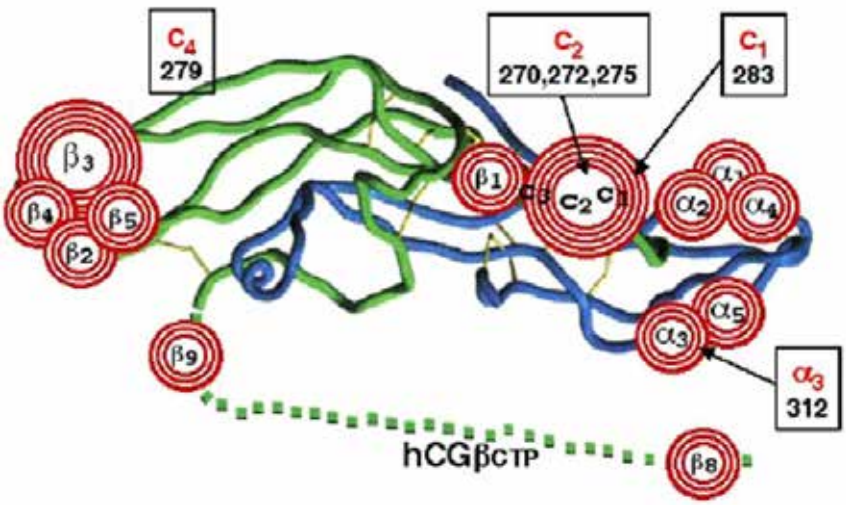


Figura 41. Mappa degli epitopi riconosciuti dagli anticorpi descritti dalla International Society for Oncology and Biomarkers (ISOBM) (da riferimento 89).

		Reattività						
Epitopo	**Descrizione**	**hCG integra**	**hCG intaccata**	**hCG terminale**	**Subunità ß libere integre**	**Subunità ß libere intaccate**	**Frammento ß core**	**Subunità a normali o iperglicosilate**
Anti- dimero hCG	*Sito comprendente l'interfaccia tra le subunità dell'hCG integra*	✓						
Anti-ß1 comune	*Sito presente sia sull'hCG, che sulle subunità ß libere e sul frammento ß core*	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Anti-ß2 comune	*Ulteriore sito presente sia sull'hCG, sulle subunità ß libere (frammento ß core?)*	✓	✓	✓	✓	✓		±[a]
Anti-ß C-terminale	*Sito presente esclusivamente sull'hCG e sulle subunità ß libere*	✓	✓		✓	✓		
Anti-a comune	*Sito presente esclusivamente sull'hCG e sulle subunità a libere*	✓	✓	✓				

(segue)

Tabella 1. Epitopi dell'hCG, delle sue subunità libere e dei prodotti di degradazione comunemente identificati dagli anticorpi

		Reattività						
Epitopo	**Descrizione**	**hCG integra**	**hCG intac-cata**	**hCG ter-minale**	**Subunità ß libere integre**	**Subunità ß libere intaccate**	**Frammento ß core**	**Subunità a normali o iperglicosi-late**
Anti- subunità ß libera	*Sito specifico delle subu-nità libere, è mascherato sull'hCG*				✓	✓		
Anti- subunità ß libera integra	*Sito specifico delle subu-nità libere, situato nei pressi dell'intaccatura*				✓			
Anti- subunità ß libera + ß core	*Sito presente sia sulle subunità ß libere che sul frammento ß core*				✓	✓	✓	
Anti-frammento ß core	*Sito specifico del fram-mento ß core, maschera-to sulle subunità ß libere*						✓	
Anti- subunità a libera	*Sito specifico delle subu-nità libere, è mascherato sull'hCG*							✓
[a] *alcuni anticorpi rivolti verso l'epitopo anti-ß comune riconoscono anche il frammento ß core*								

Tabella 1. Epitopi dell'hCG, delle sue subunità libere e dei prodotti di degradazione comunemente identificati dagli anticorpi

Sono commercializzati più di 100 differenti metodi immunometrici per la determinazione dell'hCG nel siero e nelle urine, ciascuno dei quali utilizza alcune delle sette combinazioni di anticorpi disponibili (68,89). Di queste combinazioni di anticorpi qualcuna permette di rilevare solo le molecole integre (ormone nativo: non-nicked) di hCG, qualcuna richiede la presenza del segmento C-terminale della subunità ß, altre rilevano le molecole integre e le subunità ß libere, altre rilevano le molecole di hCG integre ed intaccate (nicked), altre ancora rilevano sia le molecole di hCG intaccate ed integre che le subunità ß libere. Solo alcuni metodi permettono di rilevare il frammento ß core che costituisce la principale forma delle subunità ß dell'hCG nei campioni di urina.

La gran quantità di combinazioni di anticorpi utilizzati nei metodi commerciali per la determinazione dell'hCG è all'origine di una notevole eterogeneità di risultati: in casi estremi, a causa dei differenti metodi utilizzati, si possono riscontrare scostamenti fino a 50 volte nei valori misurati sullo stesso campione. In alcune particolari situazioni, come nel caso della riduzione dell'hCG dopo il parto o dopo la risoluzione di una patologia trofoblastica oppure nella valutazione della permanenza di basse concentrazioni di hCG, le discordanze tra i vari metodi possono condurre a risultati falsamente positivi o falsamente negativi per l'hCG. La discordanza tra i metodi può costituire una fonte importante di informazioni, sia a livello clinico che di laboratorio, nella progettazione e nello sviluppo di un dosaggio immunometrico per la determinazione dell'hCG (70,90).

La determinazione dell'hCG è complicata, oltre che dalla sua eterogeneità molecolare nella struttura, anche dal contenuto di carboidrati. Infatti l'hCG è glicosilata in modo differente nei vari tessuti, dando origine ad una gamma di forme molecolari con diverso grado di glicosilazione (Figura 42). La forma iperglicosilata dell'hCG (hCG-H) è probabilmente la più nota di queste varianti (91-94).

Questa eterogeneità molecolare ha portato a numerosi problemi, tra cui l'uso di una nomenclatura non standardizzata per le varie forme di hCG, l'assenza di preparazioni purificate, idonee per effettuare calibrazioni accurate, e la diversa quantificazione delle varianti di hCG che sono riconosciute da diversi saggi immunologici. Questo, a sua volta, ha portato a confusione su quali test immunometrici per la misura dell'hCG sia più opportuno utilizzare nei diversi scenari clinici. Ad esempio, sebbene l'hCG intatta sia la variante principale riscontrabile nella maggior parte delle gravidanze (70) e l'hCG-H rappresenta la frazione dell'hCG totale relativamente più elevata nelle prime settimane di gestazione (95), nel corso della gravidanza la ßhCG è presente in quantità molto inferiore (96). Sebbene la maggior parte dei tumori trofoblastici produca prevalentemente hCG intatta, in queste patologie possono essere presenti anche aumenti delle concentrazioni di altre varianti

di hCG (particolarmente ßhCG) (97). Infine, tra i tumori a cellule germinali che producono hCG, il 20% -40% produce esclusivamente ßhCG (98).

Nel 1994, nel tentativo di risolvere alcuni di questi problemi, l'IFCC ha istituito un gruppo di lavoro per la Standardizzazione dell'hCG (99) che ha portato alla preparazione e caratterizzazione di nuovi standard per sei delle varianti di hCG sopra descritte (100,101) (Tabella 2). Inoltre è stata assegnata la nomenclatura e sono stati quantificati gli standard utilizzando la concentrazione molare dell'analita (102). Nel 2001, il comitato di esperti dell'OMS sulla Standardizzazione Biologica ha approvato i sei standard come il 1st WHO International Reference Reagent (IRR).

Attualmente, i metodi immunometrici per la determinazione dell'hCG sono calibrati contro il 3rd o 4th WHO International Standards (IS 75/537 o IS 75/589), che sono miscele impure di hCG alle quali sono stati assegnati valori in unità in base alla loro bioattività (70 mg, corrispondenti a 650 UI) (103).

In contrasto, gli IRR sono altamente purificati con solo l'IRR 99/642 (hCGn) contenente meno dell'1,4% di hCG, αhCG, e frammenti di ßhCG (101). Dal punto di vista clinico la preparazione più importante è la IRR 99/688 (hCG), che non contiene hCGn e solo quantità trascurabili delle altre varianti (101). È stato raccomandato che le preparazioni IRR devono essere utilizzate per caratterizzare la specificità analitica dei metodi immunometrici per la misura dell'hCG (104).

Isoforme dell'hCG	**Nomenclatura IFCC**	**Riferimento WHO**
hCG intatta	hCG	IRR 99/688
hCG nicked	hCGn	IRR 99/642
hCG subunità ß	hCGß	IRR 99/650
hCG nicked - subunità ß	hCGßn	IRR 99/692
hCG frammento ß core	hCGßcf	IRR 99/708
hCG subunità α	hCGα	IRR 99/720

Tabella 2. Nomenclatura IFCC e codici WHO relativi al 1st WHO IRR per le sci principali isoforme di hCG.

Per il monitoraggio della gravidanza, la misurazione della sola hCG intatta è sufficiente, in quanto questa forma è presente in concentrazioni molto più elevate di qualsiasi altra delle varianti. Tuttavia, quando si utilizza l'hCG come marcatore tumorale, è essenziale che sia misurata anche la subunità ß libera in quanto alcune neoplasie possono produrre solo questa subunità libera. Nelle patologie gestazionali trofoblastiche le molecole di hCG sono estremamente eterogenee e possono essere prodotte altre varianti, poiché non sono ancora ben definiti clinicamente e biochimicamente gli insiemi di varianti molecolari che si possono riscontrare in queste situazioni, è prudente usare tecniche immunometriche con un'ampia specificità che consentano di rilevare più varianti dell'hCG.

È fondamentale che ciascun laboratorio conosca la specificità del metodo impiegato per queste determinazioni e la applicabilità di tale metodo per il monitoraggio della gravidanza e/o in campo oncologico (105-110).

L'hCG iperglicosilata (hCG-H)

La forma iperglicosilata dell'hCG è prodotta dalle cellule invasive del citotrofoblasto nelle fasi più precoci dell'impianto all'inizio della gravidanza e nelle forme di coriocarcinoma o altre patologie invasive del trofoblasto (Tabella 3 e Figure 42-43) (111).

Laurence A. Cole e altri autori hanno dimostrato (112-115) che la hCG-H è un fattore autocrino che promuove la crescita cellulare e il processo invasivo attraverso le membrane. Nella fase iniziale della gravidanza la hCG-H può essere considerato un indicatore precoce del processo di impianto, infatti se i livelli di hCG-H non sono adeguati in genere si va incontro ad una gravidanza "biochimica" e alla sua interruzione (Tabella 4). La determinazione dell'hCG-H può consentire la diagnosi di gravidanza in fasi molto precoci, prima della mancata mestruazione, e predire la probabilità di impianto degli embrioni nei processi di fecondazione assistita.

La placentazione emocoriale è il risultato finale dell'azione di invasione in profondità del miometrio, combinata con la stimolazione ormonale dell'hCG normale che promuove la crescita e lo sviluppo delle arteriole spirali.

Nel corso dell'evoluzione si evidenzia un progressivo perfezionamento dell'efficacia del processo di placentazione emocoriale e nell'uomo si riscontra il maggior livello di efficienza (90). Il modello dell'efficacia della placentazione emocoriale, essendo alla base dei meccanismi di nutrizione del feto e dello sviluppo del cervello, può giustificare la differenza di massa cerebrale degli umani (2,4%) rispetto a quella (0,07%) delle proscimmie e di altri mammiferi (Tabella 5) e quindi potrebbe aver dato un contribuito importante all'evoluzione dei mammiferi (116).

molecola	Struttura
hCG IPERGLICOSILATA (PM ~40.000)	Polipeptide composto da 92 (subunità α) e 145 (subunità ß) residui aminoacidici Subunità ß: prevalente la forma con oligosaccaridi tri-ramificati legati all'azoto (N-*linked*) Subunità α: prevalenti esasaccaridi N-*linked* con eccesso di fucosio e oligosaccaridi legati all'ossigeno (O-*linked*)

Tabella 3. Caratteristiche della molecola dell'hCG iperglicosilata.

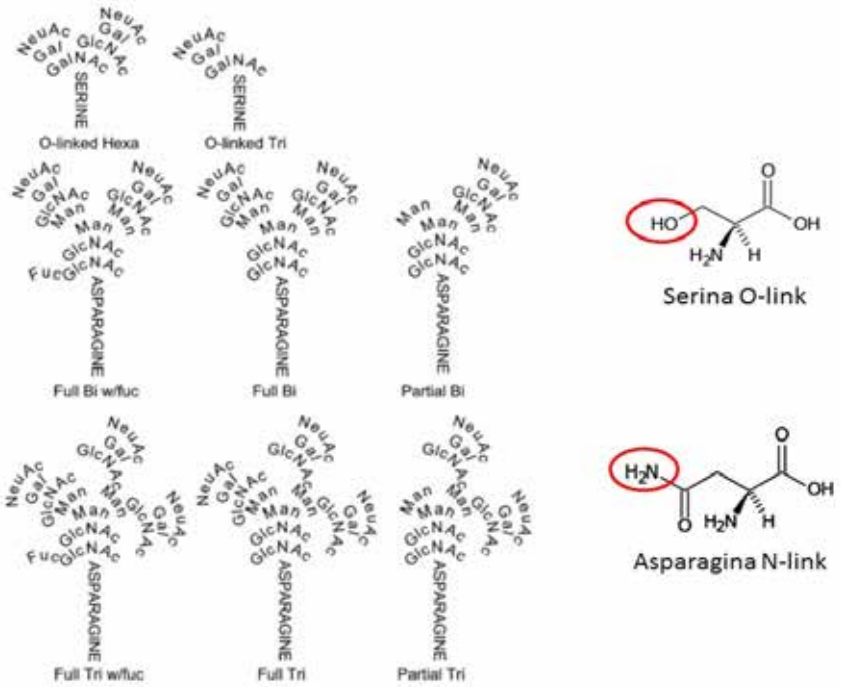


Figura 42. Struttura di O-linked esa- e tri-saccaridi e di oligosaccaridi N-linked bi- e tri-ramificati legati a molecole normali di hCG, di hCG iperglicosilata e catene ß libere di hCG.

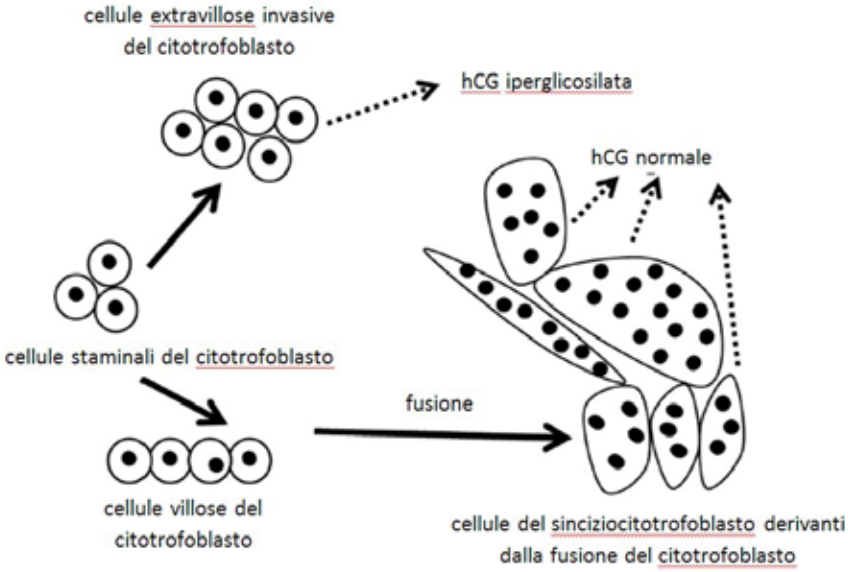


Figura 43. Processo di differenziazione delle cellule del trofoblasto in villi placentali. La fusione delle cellule villose del citotrofoblasto è controllato dalle molecole normali di hCG. Le cellule invasive extravillose del citotrofoblasto producono hCG iperglicosilata, mentre le cellule fuse nel sinciziotrofoblasto producono hCG normale.

L'hCG-H promuove la crescita cellulare e i processi invasivi, non solo durante la gravidanza, anche nelle patologie neoplastiche originate da cellule del citotrofoblasto in particolare attraverso meccanismi di inibizione dell'apoptosi (Tabella 4) (114).

.

L'hCG nella diagnosi immunologica di gravidanza oggi

La possibilità per le donne di verificare il loro stato di gravidanza nella privacy della loro casa è stata definita 35 anni fa come una "piccola rivoluzione privata" (117,118).

Sin dall'introduzione dei metodi basati sull'agglutinazione di particelle di lattice con una sensibilità di 1000 – 3000 UI/L di hCG (Figura 44), in misura più evidente a metà degli anni '80 con l'avvento dei metodi immunocromatografici (Figura 45) in grado di rilevare concentrazioni di 25 – 50 UI/L, l'impiego di metodi immunologici qualitativi per la ricerca della hCG nelle urine ha cambiato radicalmente le modalità di diagnosi della gravidanza.

	Gravidanza fisiologica		Mola iatidiforme			Patologia trofoblastica gestazionale persistente	Coriocarcinoma	Altre patologie
Molecole di hCG	**3-6 settimane**	**7 settimane**	**Prima dell'asportazione**	**Dopo dell'asportazione hCG >100 IU/L**	**Dopo dell'asportazione hCG <100 IU/L**	**Concentrazioni di hCG in aumento**	**Prima della terapia**	
hCG normale	++	+++	+++	+++	+	+	±	- -
hCG ipergli-cosilato	+++	+	+	+	+	+++	+++	±
hCG "Intaccato"	- -	+	+	+	++	+	+	±
ß-subunità dell'hCG senza peptide C-terminale	- -	- -	±	±	±	±	±	±
Subunità ß libere	+	+	+	+	+++	+	+	±
Frammento ß-core nelle urine	+	+++	++	++	+++	++	+	+++

Tabella 4. Livelli delle varie forme di hCG riscontrabili in situazioni fisiologiche e patologiche.

Specie	Caratteristiche di impianto	Profondità di invasione	Struttura glucidica - pI	Massa cerebrale (%)
Ominidi	emocoriale	1/3 del miometrio	hCG – 8 strutture pI 3,5	2,4 %
Scimmie primati evoluti	emocoriale	1/10 del miometrio	hCG – 6 strutture pI 4,9	0,74 %
Scimmie primati precoci	emocoriale	attraverso la decidua	hCG – 5 strutture pI 6,3	0,17 %
Proscimmie	epiteliocoriale	nessuna invasione	hCG non prodotta LH – 3 strutture pI 8,4	0,07 %

Tabella 5. Correlazione tra i processi di impianto della placenta e le relative caratteristiche di invasività nei primati, la presenza e il grado di glicosilazione dell'hCG o dell'LH, e la relativa massa cerebrale.

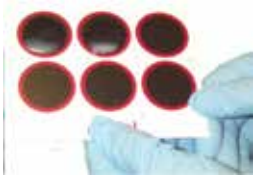


Figura 44. Evoluzione dei metodi e relativa sensibilità per la diagnosi immunologica di gravidanza.

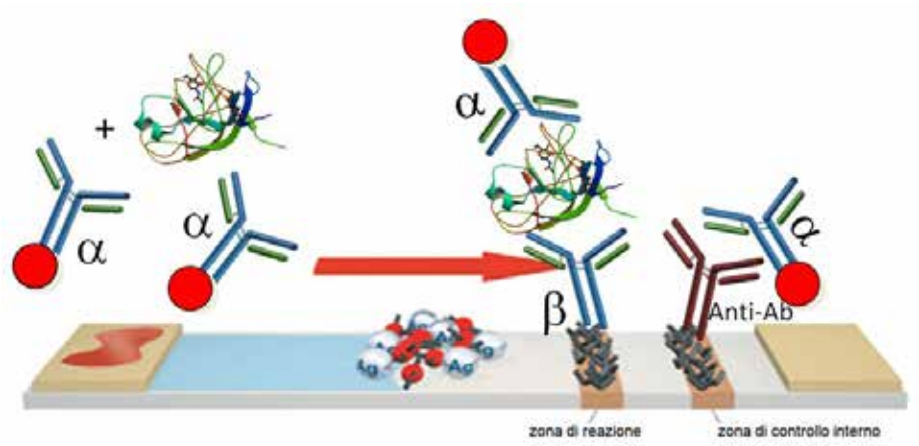


Figura 45. Determinazione qualitativa immunocromatografica dell'hCG.

L'indiscusso vantaggio raggiunto dei primi metodi a bassa sensibilità è stato di raggiungere risultati quasi sempre inequivocabili: difficilmente si potevano riscontrare risultati falsamente positivi se la prova era fatta ad una adeguata distanza dal giorno della mancata mestruazione, mentre nei casi di dubbia interpretazione era sufficiente ripetere la determinazione dopo 24-48 ore. Maggiori difficoltà interpretative sono state descritte da vari autori (118-122) nell'impiego dei metodi qualitativi a più elevata sensibilità.

La diagnosi immunologica di gravidanza è l'esame di laboratorio da più tempo utilizzato come "*point of care*" o come "*home test*", sul cui risultato vengono assunte decisioni terapeutiche/comportamentali rilevanti, ma che più volte si è dimostrato fonte di errori, per la presenza di interferenze di varia natura, portando a risultati spesso falsamente positivi o falsamente negativi. Un altro fattore, che contribuisce in modo determinante alla elevata incidenza di risultati di non corretta interpretazione, è che la quasi totalità dei metodi impiegati per la diagnosi immunologica di gravidanza hanno una struttura "*one step*", cioè non prevedono una fase di lavaggio e allontanamento delle molecole interferenti prima dell'aggiunta del secondo anticorpo legato al sistema di rilevazione.

Nella figura 46 sono riportati i risultati della valutazione di sei differenti metodi immunocromatografici per la determinazione qualitativa dell'hCG. Sono stati analizzati campioni di urine di donne non in gravidanza in età fertile e di maschi, di donne in menopausa, di donne in gravidanza e campioni di urina con elevata concentrazione di emoglobina. Complessivamente sono state effettuate 500 prove. Le concentrazioni di hCG dei campioni analizzati, determinate con un metodo quantitativo immunochemiluminescente, sono

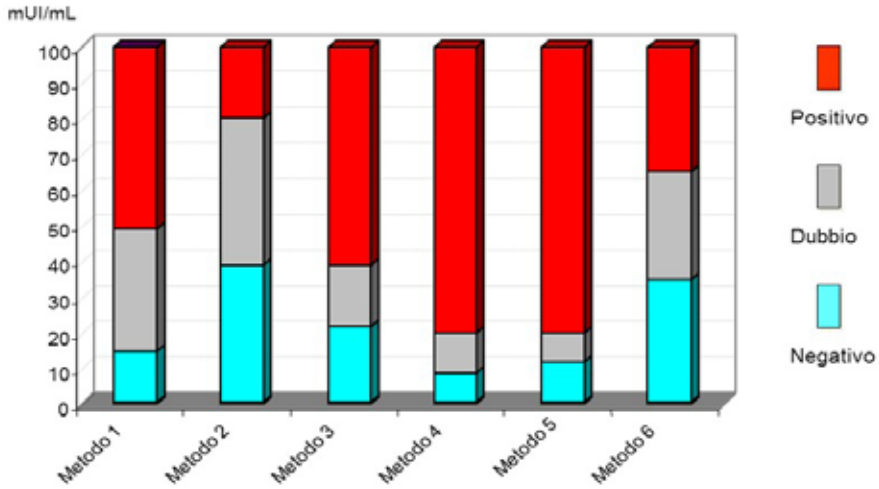


Figura 46. Confronto dell'interpretazione dei risultati di differenti metodi per la diagnosi immunologica di gravidanza: particolare dei risultati ottenuti su campioni di urina contenenti fino a 100 mUI/mL di hCG.

risultate comprese tra 0 e 2000 UI/L. Il "*metodo 5*" è l'unico basato su una procedura con architettura a "*due step*", mentre il "*metodo 4*" impiega un lettore automatizzato per l'interpretazione del risultato. Nelle prove eseguite non si sono evidenziati risultati falsamente positivi dovuti alla presenza di interferenti (Hb, LH). Nella figura 46 (123) sono evidenziati gli esiti dell'interpretazione dei risultati ottenuti per i campioni con concentrazione di hCG fino a 100 UI/L. Questo intervallo di concentrazione rappresenta la situazione di maggiore criticità in quanto al suo interno avviene la discriminazione tra esito positivo e negativo. I risultati, oltre ad evidenziare una consistente discordanza tra i livelli di concentrazione che portano a classificare in modo chiaro il risultato come positivo, mostrano che tra i vari metodi vi è un'ampia variabilità nella zona di incertezza di interpretazione del risultato dell'esame.

Un'altra criticità riscontrata sui dispositivi immunocromatografici per la diagnosi immunologica della gravidanza è data dalla limitata linearità di alcuni di questi dispositivi. In questi casi, se il campione da analizzare contiene elevate concentrazioni di hCG (come nelle gravidanze tra la ottava e decima settimana), si verifica il cosiddetto effetto "*hook*": la limitata disponibilità di anticorpi nel sistema porta ad una sottostima o ad un risultato erroneamente classificato come negativo.

Viste le criticità legate all'uso dei metodi qualitativi, si può ipotizzare che il ricorso alle determinazioni quantitative dell'hCG può rappresentare una sicura soluzione al problema. L'impiego delle tecnologie immunometriche quantitative, se da una parte non consentono di avere i risultati in tempi paragonabili ai sistemi qualitativi e non possono essere eseguite in modo autonomo da parte della paziente, consentono di raggiungere elevate prestazioni di sensibilità, specificità e linearità. La maggior parte dei sistemi commercializzati consente di misurare anche concentrazioni di hCG di 1 UI/L: con questo livello di sensibilità si riesce a evidenziare, oltre alla produzione di hCG in fasi molto precoci della gravidanza, anche la cosiddetta secrezione di hCG da parte della ghiandola pituitaria (124,125) che è possibile riscontrare durante la menopausa. Alla luce di queste considerazioni, l'interpretazione dei risultati delle determinazioni quantitative di hCG per l'identificazione dello stato di gravidanza risulta semplice se la concentrazione della glicoproteina è dosabile (esclusione della gravidanza), mentre deve essere basata sulla definizione di opportuni valori soglia, dipendenti dal metodo utilizzato, al di sopra dei quali lo stato di gravidanza è molto probabile. Nei casi di incertezza la ripetizione della determinazione a distanza di 24-48 ore può chiarire in modo definitivo lo stato della paziente vista l'andamento esponenziale con cui aumenta la concentrazione di hCG nelle prime fasi della gravidanza.

L'hCG nelle patologie neoplastiche

L'hCG può essere impiegato come un utile indicatore biochimico di neoplasia nella valutazione delle neoplasie germinali e delle malattie proliferative del trofoblasto (mola vescicolare, mola invasiva, gestocoriocarcinoma). Nel caso delle neoplasie germinali, il dosaggio dell'hCG, generalmente associato a quello della α-fetoproteina (AFP), si è dimostrato di estrema utilità in ogni fase della gestione clinica del paziente, dalla diagnosi, alla stadiazione, alla prognosi, al *follow-up* fino al monitoraggio delle terapie anti-neoplastiche (126-130). Nei tumori del testicolo a cellule germinali gli indicatori biochimici di neoplasia hanno alti valori di sensibilità e specificità diagnostica, l'hCG risulta elevata nel 10-30% dei casi, anche nei seminomi puri, e risulta positiva nel 50-60% delle forme non seminomatose. Le neoplasie testicolari sono in grado sia di produrre molecole intere di hCG, sia di rilasciare catene ß libere, quindi per la determinazione sono da utilizzare preferibilmente i metodi in grado di rilevare sia le catene ß libere che quelle legate (ßhCG totale). La presenza di catene ß libere dell'hCG è stata dimostrata nelle membrane di tutte le linee cellulari neoplastiche con un ruolo di antagonista dei recettori

del TGFß (131,132). Nella tabella 6 sono riportati i livelli di evidenza che, nelle varie patologie e fasi diagnostico/terapeutiche, supportano l'uso dell'hCG.

Obiettivo clinico	Patologia	Livello di Evidenza
Diagnosi differenziale verso malattia benigna	T. germinale testicolo T. germinale ovaio Mola vescicolare	A C B
Stadiazione	T. germinale testicolo T. germinale ovaio Mola vescicolare	A B B
Risposta alla terapia	T. germinale testicolo T. germinale ovaio Mola vescicolare	A B B
Rilevazione delle recidive	T. germinale testicolo T. germinale ovaio Mola vescicolare	A B B
Monitoraggio della terapia nella malattia metastatica	T. germinale testicolo T. germinale ovaio Mola vescicolare	A B B

Tabella 6. Utilizzo clinico dell'hCG nelle patologie neoplastiche.

L'hCG come integratore alimentare

Nell'esplorare la RETE si può scoprire che le funzioni dell'hCG possono non limitarsi agli scopi diagnostici, infatti ci si imbatte facilmente in siti che propongono l'impiego di questa molecola anche per scopi non diagnostici. Si tratta della dieta dimagrante che combina iniezioni quotidiane di hCG e l'assunzione al massimo di 500 calorie al giorno. (Figura 47) (133-135). Questo tipo di trattamento era già stato proposto negli anni '50 da A.T.W. Simeons che sottopose oltre 500 pazienti a questo tipo di regime, pubblicandone poi i risultati nel 1954 su The Lancet. Studi successivi, però, ne evidenziarono l'inefficacia nonché la pericolosità.

La Food and Drug Administration degli Stati Uniti e la Mayo Clinic (136) mettono in guardia contro tutto ciò sottolineandone i rischi per la salute: trombosi, depressione, cefalea, tensione o ingrossamento del seno. Inoltre, si tratterebbe di una manipolazione, poiché si fa credere alle persone che viene somministrato loro un integratore portentoso che altro non è se non placebo.

Quel che funziona, eventualmente, è il regime calorico estremamente limitato, molto inferiore alla quantità di calorie che si dovrebbero assumere quotidianamente.

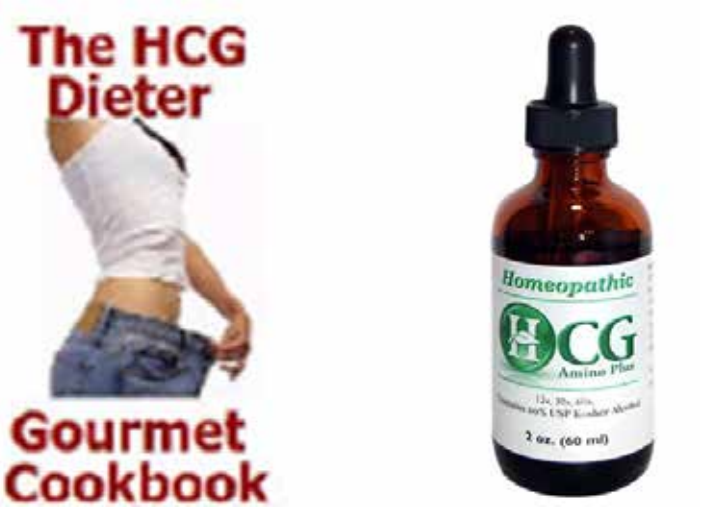


Figura 47. Utilizzo dell'hCG come presidio per la cura dello stress e per le cure dimagranti.

Ringraziamenti:

Un particolare ringraziamento al prof. Vincenzo Roetta per gli utili suggerimenti nelle traduzioni dal latino.

Bibliografia

1. Cuboni E. Reazioni biologiche di gravidanza. Milano: Opera medica Wassermann; 1935.

2. Cuboni E. La diagnosi di gravidanza mediante la ricerca degli ormoni sessuali nell'urina. Lo Sperimentale 1932; 86:260-99.

3. Dall'Olio G. Fortunato A. La diagnosi precoce di gravidanza prima dei metodi immunologici. Lo "stato dell'arte" nei primi decenni del Novecento. Ligand Assay 2000; 5:66-9.

4. Ghalioungui P, Khalil Sh, Ammar AR. On an ancient egiptian method of diagnosing pregnancy an determining foetal sex. Med Hist 1963; 7:241-6.

5. Cederqvist LL, Fucs F. Antenatal sex determination. A historical review. Clinical Obstetrics & Gynecology 1970; 13:159-77.

6. Ravasini C. L'urologia in Italia. Udine: Istituto delle edizioni Accademiche; 1936.

7. U.T. L'urologia in Italia. Il farmacista Italiano. La scienza del farmaco. 1937; 5(1):57-8 (recensione).

8. Rosenhek J. History of Medicine: liquid gold. Doctor's Rev. Med Move. 2005; 23.

9. Armstrong JA. Urinalysis in Western culture: A brief history. Kidney Int. 2007; 71:384-7.

10. Cau G. Urologi, Uromanti, Uroscopi, e la matula. Rivista di Storia delle Scienze Mediche e Naturali. 1927; 17:244-59.

11. Rosenfeld L. Four centuries of clinical chemistry. New York; Taylor & Francis; 1999.

12. White WI. A new look at the role of urinalysis in the history of diagnostic medicine. Clin Chem 1991; 37:119-25.

13. Garcia-Webb P. Urinalysis in 10th century. Clini Chem. 1991; 37:1660.

14. Voswinckel P. From uroscopy to urinalysis. Chimica Clinica Acta. 2000; 297:5-16.

15. Angeletti LR, Cavarra B. Critical Historical Approach to Theophilus' De Urinis. Am J Nephrol 1994; 14:282-9.

16. Graupner H. Elisir di vita. Ormoni e vitamine. Milano: Ist. Tip. Mariani e Bossi; 1943.

17. Dawson WR. Magician and Leech, a study in the beginnings of medicine with special reference to ancient Egypt. London: Methuen; 1929.

18. Bayon HP. Ancient Pregnancy tests in the Light of Contemporary Knowledge. Proc R Soc Med 1939; 32:1527-1538 (sectional page 61-72).

19. Forbes TR. Early pregnancy and fertility tests. Yale J Biol Med 1957; 30:14-29.

20. Griffith FL, Thompson H. The domotic magical papyrus of London and Leiden. London: Grevel H; 1904.

21. Iversen E. Papyrus Carlsberg N. VII, with some remarks on the Egyptian origin of some popular birth prognoses. København: Munksgaard E; 1939.

22. Latronico N. Il cuore nella storia della Medicina. Milano: Recordati; 1955.

23. Littré Emile. Oeuvres complètes d'Hippocrate. Paris: Baillière JB; 1844.

24. Cosmacini G. L'arte lunga. Storia della medicina dall'antichità a oggi. Roma-Bari: Laterza; 1999.

25. Dunn PM. Eucharius Rösslin (1470-1526) of Germany and the rebirth of midwifery. Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed 1998; 79:F77-8.

26. Dunn PM. Jacob Rueff (1500-1558) of Zurich and The expert midwife. Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed 2001; 85:F222-4.

27. MacKinney LC. Early mediaeval medicine with special reference to France and Chartres. Baltimore: John Hopkins Press; 1937.

28. Sabatini S. Women, Medicine and Life in Middle Ages (500-1500 AD). Am J Nephrol 1994; 14:391-8.

29. Savonarola I M. Practica canonica de febribus. Venetiae: Vincentius Valgrisius; 1561.

30. Nauche JL. Kiesteina. Biblioteca di farmacia, chimica, fisica, medicina, chirurgia, terapeutica, storia naturale 1839; 11:199-200.

31. Miscellany (1841). Kiesteine. AJP 1841; 12:347.

32. Recensione (1839). Researches of kiesteine in the urine of pregnant women. The medico-chirurgical review and Journal of practical medicine 1839; 31:228-9.

33. Churchill F. Observations on the diseases incident to pregnancy and childbed. Dublino: M. Keen; 1840.

34. Marshall M. The Kyesteine pellicle: an early biological test for pregnancy. Bull Hist Med 1948; 22:179-95.

35. Dunglison R. (1841). Human Physiology. Philadelphia: Lea and Blanchard; 1841.

36. Bird G. Observation on the existence of certain elements of the milk in the urine during utero-gestation; and on the application of this fact to the diagnosis of pregnancy. The Journal of the medical sciences. 1839; 26:501-3.

37. Bird G. Observation sur l'existence de certains éléments de lait dans l'urine pendant la grossesse et sur l'application de cet fait au diagnostic de la grossesse. Gazette Médicale de Paris 1840; 8:409-11.

38. Bird G. Osservazione dell'esistenza di alcuni elementi del latte nell'orina delle gravide, ed applicazione di questo fatto al diagnostico della gravidanza. Annali Universali di Medicina 1840; 96:648-51.

39. Recensione. Gravidina, o sostanza trovata nell'orina delle donne incinte. Annali Universali di Medicina 1843; 11:642-3.

40. Dall'Olio G. Kiesteina: un componente dell'urina per la diagnosi di gravidanza. Riv Ital Med Lab 2013; 9:110-4.

41. Dall'Olio G. Personaggi della Chimica Clinica Italiana dell'Ottocento. Genova: Medical Systems; 2004.

42. Arena F. Trattato Pratico di Chimica Clinica sull'analisi dell'Urina. Napoli: Jovene G; 1884.

43. Schwabacher H. The laboratory diagnosis of pregnancy. Postgrad Med J 1956; 32:392-7.

44. Covie AT. Pregnancy diagnosis tests: a review. Commonwealth Agricoltural Bureaux. Joint Publication n° 13, 1948.

45. Cetroni MB. Apparato genitale femminile. In: Frugoni C. Diagnostica Funzionale. Milano: Wassermann A;1941. p. 488-519.

46. Michaelis L, Lagermarck L. Die Abderhaldensche Scwangerschaftsdiagnose. Dtsch med Wochenschr 1914; 40(7): 316-19.

47. Murray JA. Prof. A. Leitch. Obituary. Nature 1931; 127:206-7.

48. Leitch A. The serum diagnosis of pregnancy and of cancer. A critical study of Abderhalden's method. The theory of protective ferments and its practical application to the serun diagnosis of pregnancy. Brit Med J 1914; 2:161-5.

49. Viganò L. Reazioni biologiche. Milano: Istituto Sieroterapico Milanese; 1934.

50. Hobson BM. Pregnacy diagnosis. Review. J Reprod Fer. 1966; 12:33-48.

51. Ferreira HP. The relative merits of the various biological tests for pregnancy. Postgrad Med J 1954; 30:355-69.

52. Selmar Aschheim http://www.whonamedit.com/doctor.cfm/254.html (ultima cons.ultazione 31.10.2014).

53. Rudloff U, Ludwig H. Jewish gynecologists in Germany in the first half of the twentieth century. Arch Gynecol Obstet 2005; 272 (4):245-60.

54. Schneck P. Selmar Aschheim (1878-1965) and Bernhard Zondek (1891-1966). On the fate of 2 Jewish physicians and researchers at the Berlin Charité Hospital. Z Arztl Forbild Qualitatssich 1997; 91(2):187-94.

55. Bernard Zondek http://www.whonamedit.com/doctor.cfm/1717.html (ultima consultazione 31.10.2014).

56. Aschheim S, Zondek B. Hypophysenvordelappenhormon und Ovarialhormon in Harn von Schwangeren. Klin Wchenschr 1927; 6: 1322-5.

57. Aschheim S, Zondek B. Das Hormon des Hypophysenvordelappens. Klin Wchenschr 1927; 6:248-52.

58. Evans HM, Simpson ME. Aschheim-Zondek test for pregnancy-Its present status Cal West Med 1930; 32:145-7.

59. Sarkar S. Lancalot Hogben , 1895-1975. Genetics 1996;142:655-60.

60. Landgrebe FW, Hobson BM. Aschheim-Zondek and Hogben pregnancy test modified and compared BMJ 1949; 2:17-8.

61. Galli Mainini C. Pregnancy test using the male toad. J Clin Endocrinol Metab 1947; 7:653-8.

62. Galli Mainini. Pregnancy test using the male Batrachia. JAMA 1948; 138:121-5.

63. Jeffree GM. The comparative sensitivity of the male toad pregnancy test and the Friedman test. J Clin Path 1953; 6:150-4.

64. Raggio-Guarnaschelli AE, Gigante D. Analisi Cliniche. Roma: Il Pensiero Scientifico; 1961.

65. Lapthorn AJ, Harris DC, Littlejohn A, et al. Crystal structure of human chorionic gonadotropin. Nature 1994; 369 (6480): 455–61.

66. Kayisli U, Selam B, Guzeloglu-Kayisli O, et al. Human chorionic gonadotropin contributes to maternal immunotolerance and endometrial apoptosis by regulating Fas-Fas ligand system. J. Immunol. 2003; 171 (5): 2305–13.

67. Askling J, Erlandsson G, Kaijser M, et al. Sickness in pregnancy and sex of child. Lancet 1999; 354 (9195): 2053.

68. Berger P, Sturgeon C, Bidart JM, et al. The ISOBM TD-7 Workshop on hCG and related molecules. Towards useroriented standardization of pregnancy and tumor diagnosis: assignment of epitopes to the three-dimensional structure of diagnostically and commercially relevant monoclonal antibodies directed against human chorionic gonadotropin and derivatives. Tumour Biol. 2002; 23(1): 1-38.

69. Choi J, Smitz J. Luteinizing hormone and human chorionic gonadotropin: Origins of difference. Molecular and Cellular Endocrinology 2014; 383:203–13.

70. Cole LA. Immunoassay of human chorionic gonadotropin, its free subunits, and metabolites. Clin Chem 1997; 43 (12): 2233–43.

71. Cole LA, Kardana A, Park SY, et al. The deactivation of hCG by nicking and dissociation. J Clin Endocrinol Metab 1993; 76:704–13.

72. Cole LA, Seifer DB, Kardana A, et al. Selecting human chorionic gonadotropin immunoassays: consideration of crossreacting molecules in first-trimester pregnancy serum and urine. Am J Obstet Gynecol 1993; 168:1580–6.

73. Blithe DL, Nisula BC. Variations in the oligosaccharides on free and combined a-subunits of human choriogonadotropin in pregnancy. Endocrinology 1985;117:2218–28.

74. Birken S, Armstrong EG, Kolks MAG, et al. Structure of human chorionic gonadotropin b-subunit core fragment from pregnancy urine. Endocrinology 1988; 123:572–80.

75. Alfthan H, Stenman UH. Pregnancy serum contains the beta-core fragment of human choriogonadotropin. J Clin Endocrinol Metab 1990; 70:783–7.

76. Bidart J-M, Puisieux A, Troalen F, et al. Characterization of the cleavage product in the human choriogonadotropin b-subunit. Biochem Biophys Res Comm 1988;154: 626–32.

77. Nisula BC, Wehmann RE. Distribution, metabolism, and excretion of human chorionic gonadotropin and its subunits in man. In: Segal SJ. Chorionic gonadotropin. New York: Plenum Press, 1980:231–52.

78. Lefort GP, Stolk JM, Nisula BC. Renal metabolism of the betasubunit of human choriogonadotropin in the rat. Endocrinology 1986; 119:924–31.

79. Kardana A, Cole LA. The stability of hCG and free b in serum samples. Prenat Diagn 1997; 17:141–7.

80. Kardana A, Cole LA. Human chorionic gonadotropin b-subunit nicking enzymes in pregnancy and cancer patient serum. J Clin Endocrinol Metab 1994; 79:761–7.

81. Cole LA, Kardana A, Andrade-Gordon P, at al. The heterogeneity of hCG: III. The occurrence, biological and immunological activities of nicked hCG. Endocrinology 1991; 129:1559–68.

82. Macri JN, Kasturi RV, Krantz DA, et al. Maternal serum Down syndrome screening: free beta-protein is a more effective marker than human chorionic gonadotropin. Am J Obstet Gynecol 1990; 163:1248–53.

83. Cuckle HS, Iles RK, Chard T. Urinary b-core human chorionic gonadotropin: a new approach to Down's syndrome screening. Prenat Diagn 1994; 14:953–8.

84. Canick JA, Kellner LH, Saller DN Jr, et al. Second trimester levels of maternal urinary gonadotropin peptide in Down syndrome pregnancy. Prenat Diagn 1995; 15:752–9.

85. Hsu CD, Chung YK, Kardana A, et al. Elevated serum hCG, free b and b-core fragment hCG in severe preeclampsia. Abstract presented at Soc Gyn Invest, Philadelphia, 1996.

86. Cole LA. New perspectives in measuring human chorionic gonadotropin levels for measuring and monitoring trophoblast disease. J Reprod Med 1994; 39:193–200.

87. Berkowitz R, Ozturk M, Goldstein D, et al. Human chorionic gonadotropin and free subunits' serum levels in patients with partial and complete hydatidiform moles. Obstet Gynecol 1989; 74:212–6.

88. Fan C, Goto S, Furuhashi Y, et al. Radioimmunoassay of the serum free beta-subunit of human chorionic gonadotropin in trophoblastic disease. J Clin Endocrinol Metab 1987; 64:313–8.

89. Berger P, Bidart JM, Delves PS, et al. Immunochemical mapping of gonadotropins. Mol Cell Endocrinol. 1996; 125(1-2):33-43.

90. Cole LA. New discoveries on the biology and detection of human chorionic gonadotropin. Reproductive Biology and Endocrinology 2009, 7:8 (doi:10.1186/1477-7827-7-8).

91. Bahl OP, Carlsen RB, Bellisario R, et al. Human chorionic gonadotrophin: Amino acid sequences of the f and g subunits. J Biol Chem 1975; 250:5247-53.

92. Morgan FJ, Birken S, Canfield RE. The amino acid sequence of human chorionic gonadotropin. The f-subunit and the g-subunit. Endocrinology 1975; 250:5247.

93. Elliott MM, Kardana A, Lustbader JW, et al. Carbohydrate and Peptide structure of the f- and g-subunits of human chorionic gonadotropin from normal and aberrant pregnancy and choriocarcinoma. Endocrine 1997; 7:15-32.

94. Kobata A, Takeuchi M. Structure pathology and function of the N-linked sugar chains of hCG. Biochim Biophys Acta 1999; 1455:315-26.

95. Cole LA, Khanlian SA, Sutton JM, et al. Hyperglycosylated hCG (invasive trophoblast antigen, ITA) a key antigen for early pregnancy detection. Clin Biochem 2003; 36:647–55.

96. Thomas CM, Reijnders FJ, Segers MF, et al. Human choriogonadotropin (hCG): comparisons between determinations of intact hCG, free hCG beta-subunit, and "total" ßhCG in serum during the first half of high-risk pregnancy. Clin Chem 1990; 36:651–5.

97. Khazaeli MB, Buchina ES, Pattillo RA, et al. Radioimmunoassay Radioimmunoassay of free betasubunit of human chorionic gonadotropin in diagnosis of high-risk and low-risk gestational trophoblastic disease. Am J Obstet Gynecol 1989; 160:444–9.

98. Saller B, Clara R, Spottl G, et al. Testicular cancer secretes intact human choriogonadotropin (hCG) and its free betasubunit: evidence that hCG

(ßhCG) assays are the most reliable in diagnosis and follow-up. Clin Chem 1990; 36:234–9.

99. Sturgeon CM, Ellis AR. Standardization of FSH, LH and hCG current position and future prospects. Mol Cell Endocrinol. 2007; 260-262: 301-9.

100. Gronowski AM, Grenache DG. Characterization of the hCG Variants Recognized by Different hCG Immunoassays: An Important Step Toward Standardization of hCG Measurements. Clin Chem 2009; 55:1447–9.

101. Birken S, Berger P, Bidart JM, et al. Preparation and characterization of new WHO reference reagents for human chorionic gonadotropin and metabolites. Clin Chem 2003; 49:144–54.

102. Bristow A, Berger P, Bidart J-M, et al. On behalf of the IFCC Working Group on human chorionic gonadotropin. Establishment, value assignment, and characterization of new who reference reagents for six molecular forms of human chorionic gonadotropin. Clin Chem 2005; 51:177– 82.

103. Kardana A, Elliott ME, Gawinowicz MA, et al. The heterogeneity of hCG: I. Characterization of peptide variations in 13 individual preparations of hCG. Endocrinology 1991; 129:1541–9.

104. World Health Organization (WHO). WHO Expert Committee on Biological Standardization: fifty-second report. Geneva: WHO; 2004. 232 p. (WHO technical report series: 924).

105. Sturgeon CM, Berger P, Bidart J-M, et al. Differences in recognition of the 1st WHO International Reference Reagents for hCG-related isoforms by diagnostic immunoassays for human chorionic gonadotropin. Clin Chem 2009; 55:1484–91.

106. Cole LA, Sutton JM, Higgins TN, Cembrowski GS. Between-method variation in human chorionic gonadotropin test results. Clin Chem 2004; 50:874–82.

107. Cole LA, Shahabi S, Butler SA, et al. Utility of commonly used commercial human chorionic gonadotropin immunoassays in the diagnosis and management of trophoblastic diseases. Clin Chem 2001; 47:308 –15.

108. Kato Y, Braunstein GD. Beta-core fragment is a major form of immunoreactive urinary chorionic gonadotropin in human pregnancy. J Clin Endocrinol Metab 1988; 66:1197–201.

109. Stenman UH. Standardization of assays for human chorionic gonadotropin. Clin Chem 2004; 50:798–800.

110. Cao ZT, Rej R. Are laboratories reporting serum quantitative hCG results correctly? Clin Chem 2008; 54:761–4.

111. Butler SA, Khanlian SA, Cole LA. Detection of early pregnancy forms of human chorionic gonadotropin by home pregnancy test devices Clin Chem 2001; 47:2131-36.

112. Cole LA, Dai D, Butler SA, et al. Gestational trophoblastic diseases: I. Pathophysiology of hyperglycosylated hCG-regulated neoplasia. Gynecol Oncol 2006; 102:144-9.

113. Cole LA, Khanlian SA, Riley JM, et al. Hyperglycosylated hCG in gestational implantation and in choriocarcinoma and testicular germ cell malignancy tumorigenesis. J Reprod Med 2006; 51:919-25.

114. Hamade AL, Nakabayashi K, Sato A, et al. Transfection of antisense chorionic gonadotropin β gene into choriocarcinoma cells suppresses the cell proliferation and induces apoptosis. J Clin Endocrinol Metab 2005; 90:4873-79.

115. Lei ZM, Taylor DD, Gercel-Taylor C, et al. Human chorionic gonadotropin promotes tumorigenesis of choriocarcinoma JAR cells. Troph Res 1999, 13:147-59.

116. Cole LA, Khanlian SA, Kohorn EI: Evolution of the Human Brain, Chorionic Gonadotropin and Hemochorial Implantation of the Placenta: Insights into Origins of Pregnancy Failures, Preeclampsia and Choriocarcinoma. J Reprod Med 2008; 53:449-557.

117. Glenn D. Braunstein. The Long Gestation of the Modern Home Pregnancy Test. Clin Chem 2014; 60 (1):18-21.

118. Leavitt SA. "A private little revolution": the home pregnancy test in American culture. Bull Hist Med 2006; 80:317–45.

119. G Planet. False-positive pregnancy test. Clin Chem 1990; 36:1522-3.

120. Tze-Kiong Er, Yuh-Jyh Jong, Eing-Mei Tsai, et al. False-Negative Pregnancy Test in Hydatidiform Mole. Clin Chem 2006; 52:1616-8.

121. Gronowski AM, Cervinski M, Stenman UH, et al. False negative results in point-of-care qualitative human chorionic gonadotropin (hCG) devices due to excess hCGß core fragment. Clin Chem 2009; 55:1389–94.

122. Mas EA, Bedini JL, Carmona F, et al. False-negative urinary pregnancy test in a woman with a combined pancreas-kidney transplant. Clin Chem 1994; 40:943-4.

123. Fortunato A, Marchetti C, Pinaffo GF, et al. Diagnosi immunologica di gravidanza: un test qualitativo di qualità critica. Ligand Assay 2007; 12:218.

124. Cole LA, Sasaki Y, Muller CY. Normal Production of Human Chorionic Gonadotropin in Menopause. N Engl J Med 2007; 356:1184-6.

125. Stenman UH, Alfthan H, Ranta T et al. Serum levels of human chorionic gonadotropin in nonpregnant women and men are modulated by gonadotropin releasing hormone and sex steroid. J Clin Endocrinol Metab 1987; 64:730–7.

126. Sturgeon C. Practice guidelines for tumor marker use in the clinic. Clin Chem 2002; 48:1151–9.

127. Lamerz R, Albrecht W, Bialk P, et al. Tumour markers in germ cell cancer: EGTM recommendations. Anticancer Res 1999; 19:2785–820.

128. Cole LA, Sutton JM. Selecting an appropriate hCG test for managing gestational trophoblastic disease and cancer. J Reprod Med 2004; 49:545–53.

129. Cole LA, Khanlian SA, Muller CY, et al. Gestational trophoblastic diseases: 3. Human chorionic gonadotropin-free ß-subunit, a reliable marker of placental site trophoblastic tumors. Gynecol Oncol 2006; 102:160–4.

130. Sailer B, Clara R, Spottl G, et al. Testicular cancer secretes intact human choriogonadotropin (hCG) and its free ß-subunit: evidence that hCG (+hCG- ß) assays are the most reliable in diagnosis and follow-up. Clin Chem 1990; 36:234–9.

131. Acevedo HF, Tong JY, Hartsock RJ. Human chorionic gonadotropin-beta subunit gene statement in cultured human fetal and cancer cells of different types and origins. Cancer 1995; 76:1467-75.

132. Acevedo HF, Hartstock RJ. Metastatic phenotype correlates with high expression of membrane-associated complete β-human chorionic gonadotropin in vivo. Cancer 1996; 78:2388-99.

133. http://www.hcgplan.net/hcg_diet_menu_home.html (ultima consultazione 31 agosto 2015).

134. http://hcgrecipes.com/cookbooks/ (ultima consultazione 31 agosto 2015).

135. http://hcgdietinfo.com/ (ultima consultazione 31 agosto 2015).

136. http://www.mayoclinic.org/healthy-lifestyle/weight-loss/expert-answers/hcg-diet/faq-20058164 (ultima consultazione 31 agosto 2015).

Indice

Editoriale .. .. pag. 3

Introduzione ... ... ″ 5

Uroscopia.. ... ... ″ 7

I test di gravidanza, fertilità e predizione del sesso .. .. ″ 9

Dagli Egizi al secono XIX. ... ... ″ 9

Dal secolo XIX alla prima metà del XX . ... ″ 29

La seconda metà del secolo XX e i primi decenni del XXI ... ... ″ 54

La molecola hCG... ... ... ″ 55

La determinazione dell'hCG ... ... ″ 61

L'hCG iperglicosilata (hCG-H) ... ... ″ 67

L'hCG nella diagnosi immunologica di gravidanza oggi... ... ... ″ 69

L'hCG nelle patologie neoplastiche ... ... ″ 74

L'hCG come integratore alimentare ... ... ″ 75

Ringraziamenti ... ... ″ 76

Bibliografia ... ... ″ 77

Indice. ... ...″ 89

Caleidoscopio Italiano

... il futuro ha il cuore antico MEDICAL SYSTEMS SpA

1. Rassu S.: *Principi generali di endocrinologia.* Gennaio '83
2. Rassu S.: *L'ipotalamo endocrino.* Giugno '83
3. Rassu S.: *L'ipofisi.* Dicembre '83
4. Alagna., Masala A.: *La prolattina.* Aprile '84
5. Rassu S.: *Il pancreas endocrino.* Giugno '84
6. Fiorini I., Nardini A.: *Citomegalovirus, Herpes virus, Rubella virus (in gravidanza).* Luglio '84.
7. Rassu S.: *L'obesità.* Settembre '84
8. Franceschetti F., Ferraretti A.P, Bolelli G.F., Bulletti C.:*Aspetti morfofunzionali dell'ovaio.* Novembre '84.
9. Kubasik N.P.: *Il dosaggio radioimmunologico (1)*. Dicembre '84.
10. Kubasik N.P.: *Il dosaggio radioimmunologico (2) parte prima.* Gennaiò85.
11. Kubasik N.P.: *Il dosaggio radioimmunologico (2) parte seconda.* Febbraio '85.
12. Kubasik N.P.: *Il dosaggio radioimmunologico (3) parte prima.* Aprile '85.
13. Nacamulli D, Girelli M.E, Zanatta G.P, Busnardo B.: *Il TSH.* Giugno '85.
14. Facchinetti F. e Petraglia F.: *La β-endorfina plasmatica e liquorale.* Agosto '85.
15. Baccini C.: *Le droghe d'abuso (1).* Ottobre '85.
16. Kubasik N.P.: *Il dosaggio radioimmunologico (3) parte seconda.* Dicembre '85.
17. Nuti R.: *Fisiologia della vitamina D: Trattamento dell'osteoporosi post-menopausale.* Febbraio '86
18. Cavallaro E.: *Ipnosi: una introduzione psicofisiologica.* Marzo '86.
19. Fanetti G.: *AIDS: trasfusione di sangue emoderivati ed emocomponenti.* Maggio '86.
20. Fiorini I., Nardini A.: *Toxoplasmosi, immunologia e clinica.* Luglio '86.
21. Limone P.: *Il feocromocitoma.* Settembre '86.
22. Bulletti C., Filicori M., Bolelli G.F., Flamigni C.: *Il Testicolo. Aspetti morfo-funzionali e clinici*. Novembre '86.
23. Bolcato A.: *Allergia.* Gennaio '87.
24. Kubasik N.P.: *Il dosaggio enzimoimmunologico e fluoroimmunologico.* Febbraio '87.
25. Carani C.: *Patologie sessuali endocrino-metaboliche.* Marzo '87.
26. Sanna M., Carcassi R., Rassu S.: *Le banche dati in medicina.* Maggio '87.
27. Bulletti C., Filicori M., Bolelli G.F., Jasonni V.M., Flamigni C.: *L'amenorrea.* Giugno '87.
28. Zilli A., Pagni E., Piazza M.: *Il paziente terminale.* Luglio '87.
29. Pisani E., Montanari E., Patelli E., Trinchieri A., Mandressi A.: *Patologie prostatiche.* Settembre '87.
30. Cingolani M.: *Manuale di ematologia e citologia ematologica.* Novembre '87.

31. Kubasik N.P.: *Ibridomi ed anticorpi monoclonali.* Gennaio '88.
32. Andreoli C., Costa A., Di Maggio C.: *Diagnostica del carcinoma mammario.* Febbraio '88.
33. Jannini E.A., Moretti C., Fabbri A., Gnessi L., Isidori A.: *Neuroendocrinologia dello stress.* Marzo '88.
34. Guastella G., Cefalù E., Carmina M.: *La fecondazione* in vitro. Maggio '88.
35. Runello F., Garofalo M.R., Sicurella C., Filetti S., Vigneri R.: *Il gozzo nodulare.* Giugno '88.
36. Baccini C.: *Le droghe d'abuso (2).* Luglio '88.
37. Piantino P., Pecchio F.: *Markers tumorali in gastroenterologia.* Novembre '88.
38. Biddau P.F., Fiori G.M., Murgia G.: *Le leucemie acute infantili.* Gennaio '89.
39. Sommariva D., Branchi A.: *Le dislipidemie.* Febbraio '89.
40. Butturini U., Butturini A.: *Aspetti medici delle radiazioni.* Marzo '89.
41. Cafiero F., Gipponi M., Paganuzzi M.: *Diagnostica delle neoplasie colo-rettali.* Aprile '89.
42. Palleschi G.: *Biosensori in Medicina.* Maggio '89.
43. Franciotta D.M., Melzi D'Eril G.V. e Martino G.V.: *HTLV-I.* Giugno '89.
44. Fanetti G.: *Emostasi: fisiopatologia e diagnostica.* Luglio '89.
45. Contu L., Arras M.: *Le popolazioni e le sottopopolazioni linfocitarie.* Settembre '89.
46. Santini G.F., De Paoli P., Basaglia G.: *Immunologia dell'occhio.* Ottobre '89.
47. Gargani G., Signorini L.F., Mandler F., Genchi C., Rigoli E., Faggi E.: *Infezioni opportunistiche in corso di AIDS.* Gennaio '90.
48. Banfi G., Casari E., Murone M., Bonini P.: *La coriogonadotropina umana.* Febbraio '90.
49. Pozzilli P., Buzzetti R., Procaccini E., Signore E.: *L'immunologia del diabete mellito*. Marzo '90.
50. Cappi F.: *La trasfusione di sangue: terapia a rischio*. Aprile '90.
51. Tortoli E., Simonetti M.T.: *I micobatteri*. Maggio '90.
52. Montecucco C.M., Caporali R., De Gennaro F.: *Anticorpi antinucleo*. Giugno '90.
53. Manni C., Magalini S.I. e Proietti R.: *Le macchine in terapia intensiva.* Luglio '90.
54. Goracci E., Goracci G.: *Gli allergo-acari.* Agosto '90.
55. Rizzetto M.: *L'epatite non A non B (tipo C).* Settembre '90.
56. Filice G., Orsolini P., Soldini L., Razzini E. e Gulminetti R.: *Infezione da HIV-1: patogenesi ed allestimento di modelli animali*. Ottobre '90.
57. La Vecchia C. *Epidemiologia e prevenzione del cancro (I).* Gennaio '91.
58. La Vecchia C. *Epidemiologia e prevenzione del cancro (II).* Febbraio '91.
59. Santini G.F., De Paoli P., Mucignat G., e Basaglia G., Gennari D.: *Le molecole dell'adesività nelle cellule immunocompetenti.* Marzo '91.
60. Bedarida G., Lizioli A.: *La neopterina nella pratica clinica.* Aprile '91.
61. Romano L.: *Valutazione dei kit immunochimici.* Maggio '91.
62. Dondero F. e Lenzi A.: *L'infertilità immunologica*. Giugno '91.
63. Bologna M. Biordi L. Martinotti S.: *Gli Oncogèni*. Luglio '91.
64. Filice G., Orsolini P., Soldini L., Gulminetti R., Razzini E., Zambelli A. e Scevola D.: *Infezione-malattia da HIV in Africa*. Agosto '91.
65. Signore A., Chianelli M., Fiore V., Pozzilli P., Andreani D.: *L'immunoscintigrafia nella diagnosi delle endocrinopatie autoimmuni.* Settembre '91.
66. Gentilomi G.A.: *Sonde genetiche in microbiologia*. Ottobre '91.
67. Santini G.F., Fornasiero S., Mucignat G., Besaglia G., Tarabini-Castellani G. L., Pascoli L.: *Le sonde di DNA e la virulenza batterica.* Gennaio '92.
68. Zilli A., Biondi T.: *Il piede diabetico.* Febbraio '92.

69. Rizzetto M.: ***L'epatite Delta.*** **Marzo '92.**
70. Bracco G., Dotti G., Pagliardini S., Fiorucci G.C.: ***Gli screening neonatali.*** **Aprile '92.**
71. Tavani A., La Vecchia C.: ***Epidemiologia delle patologie cardio e cerebrovascolari.*** **Luglio '92.**
72. Cordido F., Peñalva A., De la Cruz L. F., Casanueva F. F., Dieguez C.: ***L'ormone della crescita.*** **Agosto '92.**
73. Contu L., Arras M.: ***Molecole di membrana e funzione immunologica (I)*****. Settembre '92.**
74. Ferrara S.:***Manuale di laboratorio I*****. Ottobre '92.**
75. Gori S.: ***Diagnosi di laboratorio dei patogeni opportunisti*****. Novembre '92.**
76. Ferrara S.: ***Manuale di laboratorio II*****. Gennaio '93.**
77. Pinna G., Veglio F., Melchio R.: ***Ipertensione Arteriosa.*** **Febbraio '93.**
78. Alberti M., Fiori G.M., Biddau P.: ***I linfomi non Hodgkin.*** **Marzo '93.**
79. Arras M., Contu L.: ***Molecole di membrana e funzione immunologica (II)*****. Aprile '93.**
80. Amin R.M., Wells K.H., Poiesz B.J.: ***Terapia antiretrovirale*****. Maggio '93.**
81. Rizzetto M.: ***L'epatite C*****. Settembre '93.**
82. Andreoni S.: ***Diagnostica di laboratorio delle infezioni da lieviti*****. Ottobre '93.**
83.Tarolo G.L., Bestetti A., Maioli C., Giovanella L.C., Castellani M.: ***Diagnostica con radionuclidi del Morbo di Graves-Basedow.*** **Novembre '93.**
84. Pinzani P., Messeri G., Pazzagli M.: ***Chemiluminescenza.*** **Dicembre '93.**
85. Hernandez L.R., Osorio A.V.: ***Applicazioni degli esami immunologici*****. Gennaio 94.**
86. Arras M., Contu L.: ***Molecole di Membrana e funzione immunologica. Parte terza: I lnfociti B*****. Febbraio '94.**
87. Rossetti R.: ***Gli streptoccocchi beta emolitici di gruppo B (SGB).*** **Marzo '94.**
88. Rosa F., Lanfranco E., Balleari E., Massa G., Ghio R.: ***Marcatori biochimici del rimodellamento osseo*****. Aprile '94.**
89. Fanetti G.: ***Il sistema ABO: dalla sierologia alla genetica molecolare*****. Settembre '94.**
90. Buzzetti R., Cavallo M.G., Giovannini C.: ***Citochine ed ormoni: Interazioni tra sistema endocrino e sistema immunitario*****. Ottobre '94.**
91. Negrini R., Ghielmi S., Savio A., Vaira D., Miglioli M.: ***Helicobacter pylori*****. Novembre '94.**
92. Parazzini F.: ***L'epidemiologia della patologia ostetrica*****. Febbraio '95.**
93. Proietti A., Lanzafame P.: ***Il virus di Epstein-Barr*****. Marzo '95.**
94. Mazzarella G., Calabrese C., Mezzogiorno A., Peluso G.F., Micheli P, Romano L.: ***Immunoflogosi nell'asma bronchiale*****. Maggio '95.**
95. Manduchi I.: ***Steroidi*****. Giugno '95.**
96. Magalini S.I., Macaluso S., Sandroni C., Addario C.: ***Sindromi tossiche sostenute da principi di origine vegetale*****. Luglio '95.**
97. Marin M.G., Bresciani S., Mazza C., Albertini A., Cariani E.: ***Le biotecnologie nella diagnosi delle infezioni da retrovirus umani*****. Ottobre '95.**
98.La Vecchia C., D'Avanzo B., Parazzini F., Valsecchi M.G.: ***Metodologia epidemiologica e sperimentazione clinica*****. Dicembre '95.**
99.Zilli A., Biondi T., Conte M.: ***Diabete mellito e disfunzioni conoscitive*****. Gennaio '96.**
100.Zazzeroni F., Muzi P., Bologna M.: ***Il gene oncosoppressore p53: un guardiano del genoma*****. Marzo '96.**
101.Cogato I. Montanari E.: ***La Sclerosi Multipla*****. Aprile '96.**
102.Carosi G., Li Vigni R., Bergamasco A., Caligaris S., Casari S., Matteelli A., Tebaldi A.: ***Malattie a trasmissione sessuale.*** **Maggio '96.**

103.Fiori G. M., Alberti M., Murtas M. G., Casula L., Biddau P.: *Il linfoma di Hodgkin*. Giugno '96.
104.Marcante R., Dalla Via L.: *Il virus respiratorio sinciziale*. Luglio '96.
105.Giovanella L., Ceriani L., Roncari G.: *Immunodosaggio dell'antigene polipeptidico tissutale specifico (TPS) in oncologia clinica: metodologie applicative.* Ottobre '96.
106.Aiello V., Palazzi P., Calzolari E.: *Tecniche per la visualizzazione degli scambi cromatici (SCE): significato biologico e sperimentale*. Novembre '96.
107.Morganti R.: *Diagnostica molecolare rapida delle infezioni virali*. Dicembre '96.
108.Andreoni S.: *Patogenicità di Candida albicans e di altri lieviti*. Gennaio '97.
109.Salemi A., Zoni R.: *Il controllo di gestione nel laboratorio di analisi*. Febbraio '97.
110.Meisner M.: *Procalcitonina*. Marzo '97.
111.Carosi A., Li Vigni R., Bergamasco A.: *Malattie a trasmissione sessuale (2)*. Aprile '97.
112.Palleschi G. Moscone D., Compagnone D.: *Biosensori elettrochimici in Biomedicina.* Maggio '97.
113.Valtriani C., Hurle C.: *Citofluorimetria a flusso*. Giugno '97.
114.Ruggenini Moiraghi A., Gerbi V., Ceccanti M., Barcucci P.: *Alcol e problemi correlati*. Settembre '97.
115.Piccinelli M.: *Depressione Maggiore Unipolare*. Ottobre '97.
116.Pepe M., Di Gregorio A.: *Le Tiroiditi*. Novembre '97.
117.Cairo G.: *La Ferritina*. Dicembre '97.
118.Bartoli E.: *Le glomerulonefriti acute*. Gennaio '98.
119.Bufi C., Tracanna M.: *Computerizzazione della gara di Laboratorio*. Febbraio '98.
120.National Academy of Clinical Biochemistry: *Il supporto del laboratorio per la diagnosi ed il monitoraggio delle malattie della tiroide.* Marzo '98.
121.Fava G., Rafanelli C., Savron G.: *L'ansia*. Aprile '98.
122.Cinco M.: *La Borreliosi di Lyme*. Maggio '98.
123.Giudice G.C.: *Agopuntura Cinese*. Giugno '98.
124.Baccini C.: *Allucinogeni e nuove droghe (1)*. Luglio '98.
125.Rossi R.E., Monasterolo G.: *Basofili*. Settembre '98.
126. Arcari R., Grosso N., Lezo A., Boscolo D., Cavallo Perin P.: *Eziopatogenesi del diabete mellito di tipo 1*. Novembre '98.
127.Baccini C.: *Allucinogeni e nuove droghe (1I)*. Dicembre '98.
128.Muzi P., Bologna M.: *Tecniche di immunoistochimica*. Gennaio '99.
129.Morganti R., Pistello M., Vatteroni M.L.: *Monitoraggio dell'efficacia dei farmaci antivirali*. Febbraio '99.
130.Castello G., Silvestri I.:*Il linfocita quale dosimetro biologico*. Marzo '99.
131.AielloV., Caselli M., Chiamenti C.M.: *Tumorigenesi gastrica Helicobacter pylori - correlata.* Aprile '99.
132.Messina B., Tirri G., Fraioli A., Grassi M., De Bernardi Di Valserra M.: *Medicina Termale e Malattie Reumatiche.* Maggio '99.
133.Rossi R.E., Monasterolo G.: *Eosinofili.* Giugno '99.
134.Fusco A., Somma M.C.: *NSE (Enolasi Neurono-Specifica)*. Luglio '99.
135.Chieffi O., Bonfirraro G., Fimiani R.: *La menopausa*. Settembre '99.
136.Giglio G., Aprea E., Romano A.: *Il Sistema Qualità nel Laboratorio di Analisi.* Ottobre '99.

137.Crotti D., Luzzi I., Piersimoni C.: ***Infezioni intestinali da Campylobacter e microrganismi correlati.*** **Novembre '99.**
138.Giovanella L.: ***Tumori Neuroendocrini: Diagnosi e fisiopatologia clinica*****. Dicembre '99.**
139.Paladino M., Cerizza Tosoni T.: ***Umanizzazione dei Servizi Sanitari: il Case Management*****. Gennaio 2000.**
140.La Vecchia C.: ***Come evitare la malattia*****. Febbraio 2000.**
141.Rossi R.E., Monasterolo G.: ***Cellule dendritiche*****. Marzo 2000.**
142.Dammacco F.: ***Il trattamento integrato del Diabete tipo 1 nel bambino e adolescente (I).*** **Aprile 2000.**
143.Dammacco F.: ***Il trattamento integrato del Diabete tipo 1 nel bambino e adolescente (II).*** **Maggio 2000.**
144.Croce E., Olmi S.: ***Videolaparoscopia.*** **Giugno 2000.**
145.Martelli M., Ferraguti M.: ***AllergoGest.*** **Settembre 2000.**
146.Giannini G., De Luigi M.C., Bo A., Valbonesi M.: ***TTP e sindromi correlate: nuovi orizzonti diagnostici e terapeutici.*** **Gennaio 2001.**
147.Rassu S., Manca M.G., Pintus S., Cigni A.: ***L'umanizzazione dei servizi sanitari*****. Febbraio 2001.**
148. Giovanella L.: ***I tumori della tiroide*****. Marzo 2001.**
149.Dessì-Fulgheri P., Rappelli A.: ***L'ipertensione arteriosa*****. Aprile 2001.**
150. The National Academy of Clinical Biochemistry: ***Linee guida di laboratorio per lo screening, la diagnosi e il monitoraggio del danno epatico*****. Settembre 2001.**
151.Dominici R.: ***Riflessioni su Scienza ed Etica*****. Ottobre 2001.**
152.Lenziardi M., Fiorini I.: ***Linee guida per le malattie della tiroide*****. Novembre 2001.**
153.Fazii P.: ***Dermatofiti e dermatofitosi*****. Gennaio 2002.**
154.Suriani R., Zanella D., Orso Giacone G., Ceretta M., Caruso M.: ***Le malattie infiammatorie intestinali (IBD) Eziopatogenesi e Diagnostica Sierologica*****. Febbraio 2002.**
155. Trombetta C.: ***Il Varicocele.*** **Marzo 2002.**
156.Bologna M., Colorizio V., Meccia A., Paponetti B.: ***Ambiente e polmone*****. Aprile 2002.**
157. Correale M., Paradiso A., Quaranta M.: I ***Markers tumorali.*** **Maggio 2002.**
158. Loviselli A., Mariotti S.: ***La Sindrome da bassa T3*****. Giugno 2002.**
159. Suriani R., Mazzucco D., Venturini I., Mazzarello G., Zanella D., Orso Giacone G.: ***Helicobacter Pylori: stato dell'arte.*** **Ottobre 2002.**
160. Canini S.: ***Gli screening prenatali: marcatori biochimici, screening nel 1° e 2° trimestre di gravidanza e test integrato.*** **Novembre 2002.**
161. Atzeni M.M., Masala A.: ***La β-talassemia omozigote*****. Dicembre 2002.**
162. Di Serio F.: ***Sindromi coronariche acute*****. Gennaio 2003.**
163. Muzi P., Bologna M.: ***Il rischio di contaminazione biologica nel laboratorio biosanitario*****. Febbraio 2003.**
164. Magni P., Ruscica M., Verna R., Corsi M.M.: ***Obesità: fisiopatologia e nuove prospettive diagnostiche*****. Marzo 2003.**
165. Magrì G.: ***Aspetti biochimici e legali nell'abuso alcolico*****. Aprile 2003.**
166. Rapporto dello Hastings Center: ***Gli scopi della medicina: nuove priorità.*** **Maggio 2003.**
167. Beelke M., Canovaro P., Ferrillo F.: ***Il sonno e le sue alterazioni*****. Giugno 2003.**
168. Macchia V., Mariano A.: ***Marcatori tumorali nel cancro della vescica*****. Luglio 2003.**
169. Miragliotta G., Barra Parisi G., De Sanctis A., Vinci E.: ***La Turbercolosi Polmonare: Diagnostica di Laboratorio*****. Agosto 2003.**

170. Aebischer T.: ***Il Comitato Internazionale della Croce Rossa ed il Diritto Internazionale Umanitario*****. Settembre 2003.**
171. Martino R., Frallicciardi A., Tortoriello R.: ***Il manuale della sicurezza*****. Ottobre 2003.**
172. Canigiani S. e Volpini M.: ***Infarto acuto del miocardio: biochimica del danno cellulare e marcatori di lesione.*** **Novembre 2003.**
173. La Brocca A. Orso Giacone G. Zanella D. Ceretta M.: ***Laboratorio e clinica delle principali affezioni tiroidee.*** **Dicembre 2003.**
174. Savron G.: ***Le Fobie*****. Gennaio 2004.**
175. Paganetto G.: ***Evoluzione storica del rischio di patologie umane per contaminazione chimica ambientale*****. Febbraio 2004.**
176. Giovanella L.: ***Iperparatiroidismo e tumori paratiroidei*****. Marzo 2004.**
177. Severino G., Del Zompo M.: ***Farmacogenomica: realtà e prospettive per una "Medicina Personalizzata".*** **Aprile 2004.**
178 Arigliano P.L.: ***Strategie di prevenzione dell'allergia al lattice nelle strutture sanitarie.*** **Maggio 2004.**
179. Bruni A.: ***Malattia di Alzheimer e Demenza Frototemporale.*** **Giugno 2004.**
180. Perdelli F., Mazzarello G., Bassi A.M., Perfumo M., Dallera M.: ***Eziopatogenesi e diagnostica allergologica.*** **Luglio 2004.**
181. Franzoni E., Gualandi P. Pellegrini G.: ***I disturbi del comportamento alimentare.*** **Agosto 2004.**
182. Grandi G., Peyron F.: ***La toxoplasmosi congenita*****. Settembre 2004.**
183. Rocca D.L., Repetto B., Marchese A., Debbia E.A: ***Patogeni emergenti e resistenze batteriche*****. Ottobre 2004.**
184. Tosello F., Marsano H.: ***Scientific English Handout*****. Novembre 2004.**
185. La Brocca A., Orso Giacone G., Zanella D.: ***Ipertensione arteriosa secondaria: clinica e laboratorio*****. Dicembre 2004.**
186. Paganetto G.: ***Malattie Neoplastiche: dalla Paleopatologia alle Fonti Storiche*****. Gennaio 2005.**
187. Savron G.: ***La sindrome dai mille tic: il disturbo di Gilles de la Tourette*****. Febbraio 2005.**
188. Magrì G., Baghino E., Floridia M., Ghiara F.: ***Leishmania.*** **Marzo 2005.**
189. Lucca U., Forloni G., Tiraboschi P., Quadri P., Tettamanti M., PasinaL.: ***Invecchiamento, deterioramento cognitivo e malattia di Alzheimer*****. Aprile 2005.**
190. Volpe G., Delibato E., Orefice L., Palleschi G.: ***Tossinfezioni alimentari e metodiche recenti ed innovative per la ricerca dei batteri patogeni responsabili*****. Maggio 2005.**
191. Mazzarello M.G., Albalustri G., Audisio M., Perfumo M., L. Cremonte G.: ***Aerobiologia ed allergopatie*****. Giugno 2005.**
192. Scalabrino G., Veber D., Mutti E.:***Nuovi orizzonti biologici per la vitamina B12*****. Luglio 2005.**
193. Zepponi E.: ***Guida pratica per gli utenti del laboratorio analisi*****. Settembre 2005.**
194. Faricelli R., Esposito S., Martinotti S.: ***La sindrome da anticorpi anti-fosfolipidi.*** **Ottobre 2005.**
195. Baccini C., Bezzi F., Conti M., Tazzari V.: ***Doping e antidoping nello sport*****. Novembre 2005.**
196. Lozzi M.: ***La Mediazione pacifica dei conflitti. Una risorsa socio-relazionale in ambito medico-sanitario*****. Dicembre 2005.**
197. Bracco G.: ***Progettare un Laboratorio di Analisi*****. Gennaio 2006.**

198. Angelucci A.: *Apoptosi e sistema immunitario: regolazione e patologie associate*. Febbraio 2006.
199. Commissione Tecnica sul Rischio Clinico: *Risk management in Sanità. Il problema degli errori*. Marzo 2006
200. Casati G., Marchese E., Roberti V., Vichi M.C.: *La gestione dei processi clinico assistenziali per il miglioramento delle prassi*. Aprile 2006.
201. Zanella D., Ceretta M., Orso Giacone G.: *Peptidi natriuretici: nuove frontiere in cardiologia?* Maggio 2006.
202. Cicala M., Dal Lago U., Vinci P., Maggiorotti M.: *L'accusa di malpractice in ambito medico*. Giugno 2006.
203. Martino R.: *Manuale Qualità UNI EN ISO 9001*. Luglio 2006.
204. Mazzarello M.G., Arata M., Perfumo M., Marchese A., Debbia E.A.: *Tubercolosi e micobatteri*. Settembre 2006.
205. Matrullo R.: *Anoressia: la negazione della sessualità come difesa narcisistica*. Ottobre 2006.
206. Crotti D.: *Le parassitosi intestinali ed uro-genitali*. Novembre 2006.
207. Orso Giacone G., Zanella D., Ceretta M.: *Il referto interpretativo in infettivologia*. Dicembre 2006.
208. Baghino E., Magrì G., Nicoletti L., Novaro G., Vignale C., Mazzei C.: *Stato dell'arte delle aneuploidie fetali, dall'indagine clinica prenatale alla diagnosi anatomopatologica*. Gennaio 2007.
209. Mazzarello M.G., Brunetti R., Perfumo M., Torriglia A.M., Montresor G.: *Principali Tecniche Analitiche in uso nei Laboratori di Analisi Chimico Cliniche e Microbiologiche*. Febbraio 2007.
210. Orso Giacone G., Zanella D., Ceretta M.: *Celiachia dalla A alla Z*. Marzo 2007.
211. Cingolani M., Sparviero E.: *Decidere ora per allora: il testamento biologico (dichiarazioni anticipate di trattamento). Aprile 2007.*
212. Barletta G., Pastacaldi V., Peracino A.P.: *La misura dei processi nella medicina di laboratorio*. Maggio 2007.
213. Rassu S., Masia L., Delussu P., Chessa P., Demartis M.G., Moroso G.: *Manuale per il supporto vitale di base e la defibrillazione precoce (BLS-D)*. Giugno 2007.
214. Anchisi R., M. Gambotto Dessy: *Il Burnout del personale sanitario*. Marzo 2008.
215. Gulletta E., Orrico F., Foti D.P.: *Clinical Governance nel Laboratorio Biomedico*. Aprile 2008.
216. Rochira V., Scaltriti S., Zirilli L., Carani C.: *Il ruolo degli estrogeni nel maschio*. Maggio 2008.
217. Gulletta E., Foti D.P., Corsi M.M., Galliera E.: *Citochine e Chemochine*. Giugno 2008.
218. Zambotto F.M.: *La biotecnologia transgenica utilizzata nella produzione degli alimenti di origine vegetale*. Settembre 2008
220. Morra A., Odetto L., Bozza C., Bozzetto P., Agostinis S., Bariona M.: *Compendio di Medicina delle Grandi Emergenze*. Novembre 2008
221. Di Lonardo A., Fagnani C., Pulciani S.: *I Microarray*. Dicembre 2008

222. Di Lonardo A., Fagnani C., Pulciani S.: *Applicazioni dei microarray (1)*. **Marzo 2009**
223. Di Lonardo A., Fagnani C., Pulciani S.: *Applicazioni dei microarray (2)*. **Giugno 2009**
224. Di Carlo A., Mariano A., Macchia V.: *Struttura e Funzioni delle Matrix Metallo-Proteinasi (MMPs)*. **Settembre 2009**
225. Torricelli F. Giuliani C.: *Farmacogenetica: aspetti diagnostici, applicazioni cliniche e prospettive future.* **Febbraio 2010.**
226. Montagnana M., Lippi G., Salvagno G.L, Guidi G.C.: *Vecchi e nuovi marcatori di Sindrome Coronarica Acuta. "Ischemia Modified Albumin": Storia di un marcatore "cardiaco".* **Marzo 2010.**
227. Coghe F., Coni P., Orrù G., Gavino G.: *Determinazione molecolare del KRas.* **Giugno 2013.**
228. Tozzoli R., D'Aurizio F.: *L'Immunochemiluminescenza nella Diagnostica di Laboratorio.* **Gennaio 2014.**
229 Giavarina D.: *Evidence Based Medicine: impiego dei test di laboratorio.* **Luglio 2014.**
230 Fiore E., Latrofa F., Provenzale M. A., Vitti P.: *Tiroidite Cronica Autoimmune.* **Settembre 2014.**
231. Crapanzano C.: *Vitamina D.* **Ottobre 2014.**
232. Pulcinelli F. M., Maltese T., Temperilli F.: *Piastrine, farmaci antiaggreganti e metodiche di laboratorio.* **Aprile 2015.**
233. Testino G., Florio A., Balbinot P.: *Le patologie alcol correlate.* **Settembre 2015.**

Caleidoscopio
Rivista mensile di Medicina
anno 33, numero 234

Direttore Responsabile
Sergio Rassu
Tel. mobile 338 2202502
E-mail: sergiorassu@yahoo.it

Responsabile Ufficio Acquisti
Giusi Cunietti

Servizio Abbonamenti
Laura Cecchi

Progettazione e Realizzazione

Restless Architect
of Human Possibilities s.a.s.

Consulenti di Redazione
Giancarlo Mazzocchi ed
Angelo Maggio

Segretaria di Direzione
Maria Speranza Giola

EDITORE

... il futuro ha il cuore antico MEDICAL SYSTEMS SpA

Via Rio Torbido, 40
16165 Genova (Italy)
Tel. 010 83401 Numero Verde 800 801005 (senza prefisso);
Telefax 010/8340310- 809070.
Internet URL: http://www.medicalsystems.it

Stampa
Tipolitografia Nuova ATA
Via Gelasio Adamoli, 283 - Genova
Tel. 010 513120 - Fax 010 503320 - info@nuovaata.it - www.nuovaata.com

Registrazione Tribunale di Genova n. 34 del 31/7/1996
Iscrizione al Registro Nazionale della Stampa n° 2661 del 2 Settembre 1989
Iscrizione al Registro degli Operatori di Comunicazione (ROC) n° 1188

Finito di stampare: Ottobre 2015
Sped. in Abb. Post. 45%

Pubblicazione protetta a norma di legge dall'Ufficio proprietà letteraria, artistica e scientifica della Presidenza del Consiglio dei Ministri, dedicata all'aggiornamento professionale continuo e riservata ai medici.

Snibe Diagnostic

Chemiluminescenza a Flash con Marcatura ABEI e Separazione con Microsferette Nanomagnetiche

Maglumi 600
180T/H

Maglumi 800
180T/H

Maglumi 1000
120T/H

Analizzatori per la completa Automazione di Immunodosaggi in Chemiluminescenza (CLIA)

Maglumi 2000
180T/H

Maglumi 2000 Plus
180T/H

Maglumi 4000
280T/H

MEDICAL SYSTEMS

Snibe Diagnostic

TEST MENU

Tumor Markers

Ferritin
AFP
CEA
Total PSA
f-PSA
CA 125
CA 15-3
CA 19-9
PAP
CA 50
CYFRA 21-1
CA 242
CA 72-4
NSE
S-100
Pepsinogen I
Pepsinogen II
Gastrin-17
Helicobacter Pylori
SCCA
TPA

Bone Metabolism

Intact PTH
Calcitonin
Osteocalcin
25-OH Vitamin D

Glyco Metabolism

C-Peptide
Insulin
ICA
IAA
Proinsulin
GAD 65
IA-2

Fertility

FSH
LH
HCG/ß-HCG
PRL
Estradiol
free Estriol
Progesterone
Testosterone
free Testosterone
DHEA-S
17-OH Progesterone
*AMH (Anti - Mullerian Hormone)

Thyroid

TSH
T_4
T_3
FT_4
FT_3
TG
TGA (Anti - Tireoglobulina)
TRAb
TMA (Anti - Microsomi)
Anti-TPO
Rev T_3

Inflammation Monitoring

CRP
* PCT

Prenatal screening*

*cAFP
*free ß-HCG
*PAPP-A

Kidney Function

$ß_2$- Microglobulina
Albumin

Hepatic Fibrosis

HA-Acido Ialuronico
PIIIP N-P
C IV
Laminin
Cholyglycine

TORCH

Toxo IgG
Toxo IgM
Rubella IgG
Rubella IgM
CMV IgG
CMV IgM
HSV-1/2 IgG
HSV-2 IgG
HSV-1/2 IgM

EBV

EBV EA IgG
EBV EA IgA
EBV VCA IgG
EBV VCA IgM
EBV VCA IgA
EBV NA IgG

Immunoglobulin

IgM
IgA
IgE
IgG

Anemia

Vitamin B_{12}
Ferritin
FA-Folic Acid

Drug Monitoring

Cyclosporine A
Tacrolimus, FK 506
Digoxin

Cardiac

CK-MB
Troponin I
Myoglobin
*NT-proBNP
Aldosterone
Angiotensin I
Angiotensin II
D-Dimer
*Renin (PR)
*LP-PLA2

Infectious*

*HBsAg
*Anti-HBs
*HBeAg
*Anti-HBe
*Anti-HBc
*Anti-HCV
*HIV
*Syphilis
*Chagas
*HTLV
*Anti-HAV
*HAV IgM
Helicobacter Pylori

Others

GH
IGF-I
Cortisol
ACTH

***di prossima disponibilità**

I dati contenuti nel presente documento hanno carattere puramente indicativo e sono suscettibili di variazioni senza preavviso.

... il futuro ha il cuore antico
MEDICAL SYSTEMS S.p.A.
Via Rio Torbido, 40 - 16165 Genova • Tel. 010 83401 - Fax 010 808362
www.medicalsystems.it - e-mail: info@medicalsystems.it

MP005/13 REV3

www.medicalsystems.it

ISSN 0394 3291

Caleidoscopio
Italiano

Gianni Testino, Antonietta Florio, Patrizia Balbinot

Centro Alcologico Regionale – Regione Liguria

Le patologie alcol correlate

Direttore Responsabile
Sergio Rassu

233

... il futuro ha il cuore antico MEDICAL SYSTEMS SpA

Tariffa R.O.C.: "Poste Italiane S.p.a. - Sped. in A.P. - D.L. 353/2003, (conv. in L. 27/02/2004 n. 46) art. 1 comma 1, DCB Genova" - n° 233 Luglio 2015 - Dir. resp.: Sergio Rassu - Editore: Medical Systems S.p.A. Genova - Contiene I.P. - Stampa: Nuova AATA - Genova

In caso di mancato recapito,
pregasi ritornare al mittente che pagherà la tassa dovuta.

CALEIDO 234

€ 10,33