

# **Le metodiche di PMA**

**Procreazione Medicalmente Assistita**

**La sindrome da iperstimolazione  
ovarica (OHSS)**



POLIAMBULATORIO PRIVATO  
**SISMER**<sup>®</sup>  
CLINICA DAY SURGERY





# Le metodiche di procreazione medicalmente assistita

Dalla nascita della prima bambina concepita in vitro nel 1978 con la FIVET, nel corso degli anni sono state progressivamente messe a punto varianti e nuove tecniche che hanno permesso di ampliare sempre più le indicazioni ed aumentare l'efficacia del trattamento.

Oggi, le metodiche di procreazione medicalmente assistita (PMA) comprendono una serie di trattamenti medici che possono risolvere molte forme di infertilità.

Nella fig. 3 sono elencate le varie tecniche messe a punto negli anni.

Alcune di queste metodiche sono oggi scarsamente utilizzate (la GIFT, la TET e la ZIFT), mentre le altre sono sempre più diffuse in tutto il mondo.

Dati dai vari Registri Internazionali stimano che ogni anno vengono eseguiti nel mondo circa mezzo milione di cicli e che, grazie a queste tecnologie, siano nati quasi 2 milioni di bambini.

La legge 40/2004 sulla PMA entrata in vigore nel marzo 2004, e le linee guida integrative (DM 21-7-04) hanno reso **illecite in Italia** molte di queste metodiche: la donazione di ovociti (oltre che di spermatozoi), la crioconservazione di embrioni, la biopsia dell'embrione per la diagnosi pre-impianto.

## FIVET

La prima metodica di concepimento assistito messa a punto per la coppia sterile è stata la cosiddetta FIVET (fertilizzazione "in vitro" e trasferimento in utero di embrioni) che, nel **1978**, ha permesso la nascita della prima bambina al mon-

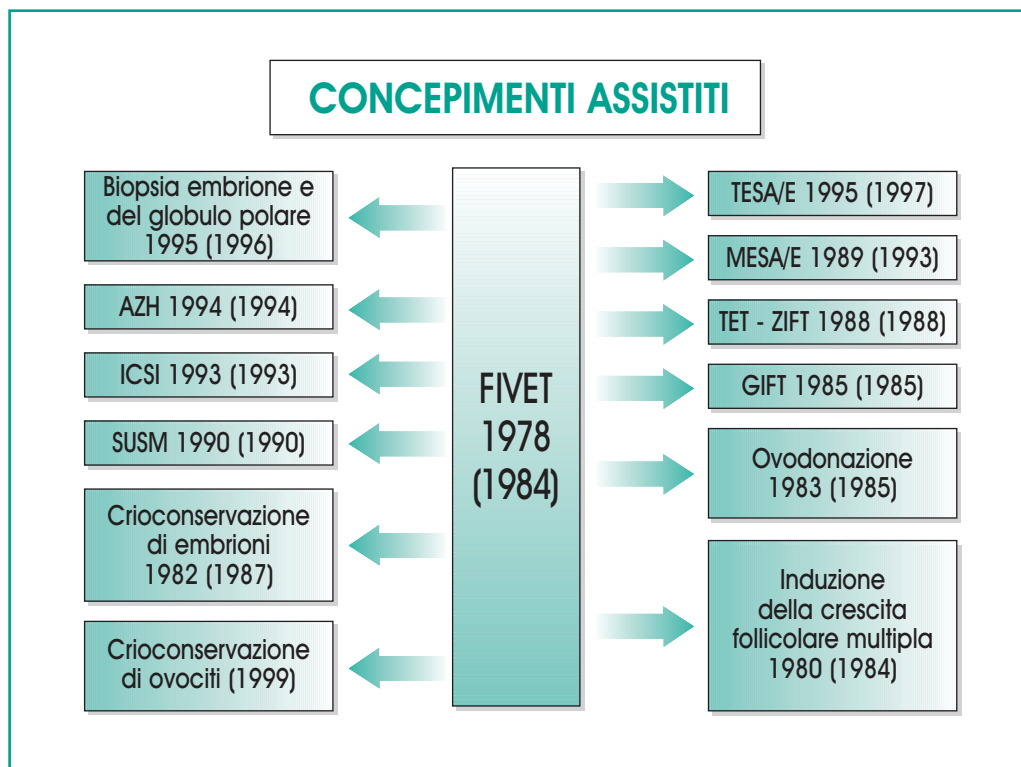


Figura 3. L'anno a fianco della tecnica indica la prima gravidanza riportata per la metodica nella letteratura scientifica internazionale dai vari gruppi di lavoro. La data tra parentesi indica l'anno della prima gravidanza ottenuta dai medici che afferiscono attualmente al S.I.S.M.E.R.

do concepita "in vitro", in una donna affetta da sterilità tubarica.

Per alcuni anni, la FIVET ha rappresentato l'unica metodica disponibile; poteva essere eseguita con seme omologo del partner o con seme di un donatore, qualora il liquido seminale del partner presentasse parametri nettamente al di sotto dei valori normali.

Le tappe fondamentali della FIVET sono sempre rappresentate dal prelievo degli ovociti, dalla loro fecondazione extracorporea e dal successivo trasferimento degli embrioni sviluppatasi in vitro (cioè in laboratorio) all'interno dell'utero materno. La FIVET è ancora una delle metodiche maggiormente utilizzate.

### Induzione della crescita follicolare multipla

La prima gravidanza del 1978 fu ottenuta in un ciclo spontaneo, prelevando cioè l'unico ovocita presente normalmente nel ciclo ovulatorio della donna e trasferendo quindi un unico embrione.



Fin dall'inizio degli anni Ottanta, fu chiaramente dimostrato che l'efficacia della FIVET aumentava qualora la paziente venisse stimolata con farmaci induttori dell'ovulazione per portare a contemporanea maturazione più follicoli, prelevare più ovociti e trasferire così 4-5 embrioni all'interno dell'utero nello stesso ciclo.

La prima gravidanza ottenuta in un ciclo "superstimolato" risale al **1980**, e da allora, l'induzione multipla della crescita follicolare è divenuta una tappa fondamentale dei cicli di Procreazione Medicalmente Assistita.

Nel corso degli anni, i protocolli di stimolazione sono stati modificati e migliorati varie volte grazie alla disponibilità di sempre nuovi farmaci.

Dalla metà degli anni 90, il miglioramento delle tecnologie ha portato ad un aumento significativo delle percentuali di successo e da allora il numero massimo di embrioni trasferiti è stato progressivamente ridotto a 3, poi a 2, per ridurre sempre più la incidenza di gravidanze plurigemellari.

L'uso di farmaci per la stimolazione ovarica è causa di una delle complicanze più severe della PMA: la "sindrome di iperstimolazione ovarica severa" (OHSS). (v. pag. 12)

## Crioconservazione di embrioni

In seguito alla "superovulazione", il numero di embrioni sviluppatasi "in vitro" può superare il numero ottimale di embrioni da trasferire.

La possibilità di conservare embrioni in eccesso attraverso un congelamento in azoto liquido (a temperature inferiori a  $-196^{\circ}\text{C}$ ), permette alla coppia di poterli trasferire all'interno dell'apparato genitale della partner in un tempo successivo senza dover affrontare tutte le tappe di un nuovo ciclo.

La prima gravidanza ottenuta con questa metodica risale al **1982**, e da allora la crioconservazione di embrioni "in eccesso" è divenuta un "imperativo" morale per tutti i Centri di Medicina della Riproduzione.


È infatti difficile negare la necessità etica di conservare patrimoni genetici umani qualora l'alternativa sia la loro distruzione.

Questa metodica è oggi **illecita** in Italia.

## Ovodonazione

La fecondazione in vitro di ovociti umani ha reso possibile la donazione di queste cellule (cioè del gamete femminile) da una donna all'altra.

Questa metodica ha aperto una possibilità di gravidanza a tutte quelle pazienti



che, pur possedendo un utero integro, non sono in grado di fornire i propri ovociti per il concepimento: donne che entrano precocemente in menopausa, donne le cui ovaie sono state asportate chirurgicamente o non sono più funzionanti a causa di terapie antitumorali.

Dal **1983**, anno della nascita del primo bambino attraverso una ovodonazione, questa metodica si è diffusa rapidamente, nonostante le implicazioni etico-giuridiche che possono insorgere.

Questa metodica è oggi **illecita** in Italia.

## GIFT - ZIFT - TET

Queste metodiche rappresentano un approccio terapeutico più fisiologico, in quanto prevedono di trasferire i gameti o il prodotto del concepimento all'interno delle tube, là dove fisiologicamente avviene la fecondazione e dove l'embrione trascorre i suoi primi giorni di vita.

Qualora si trasferiscano nelle tube i gameti femminili e maschili (ovociti e spermatozoi) la tecnica utilizzata è la GIFT; in questa metodica la fecondazione avviene all'interno del corpo umano, cioè "in vivo".

Qualora il trasferimento nelle tube avvenga dopo l'ottenimento di una fecondazione in vitro, si utilizza la tecnica ZIFT se si trasferiscono gli ovociti appena fecondati (zigoti) o la tecnica TET se si trasferiscono gli embrioni già in fase di divisione (a 2 - 4 cellule).

È ovvio che il trasferimento intratubarico può essere eseguito solo qualora la funzionalità delle tube sia conservata o solo lievemente alterata.

Per eseguire queste metodiche è solitamente necessario sottoporre la paziente ad una manovra chirurgica, in anestesia generale, chiamata laparoscopia o celioscopia.

Queste metodiche vengono utilizzate sempre più raramente, in quanto oggi offrono percentuali di successo simili alla FIVET, tecnica che non richiede l'intervento laparoscopico.

## Tecniche di microiniezione degli spermatozoi all'interno dell'ovocita (ICSI)

Fino alla fine degli anni Ottanta, l'inseminazione in vitro veniva sempre eseguita mettendo a contatto l'ovocita con un certo numero di spermatozoi mobili e morfologicamente normali in una piccola quantità di terreno di coltura.

---



Le varie tappe della fecondazione (superamento delle barriere dell'ovocita, fusione con la membrana plasmatica dell'ovocita, penetrazione all'interno del citoplasma) avvenivano spontaneamente se pur in condizioni "in vitro".

Per poter ottenere una elevata percentuale di fertilizzazione, era necessario poter selezionare dall'eiaculato "in toto" un numero sufficiente di spermatozoi mobili.

I campioni di liquido seminale con un basso numero e/o mobilità di spermatozoi, non erano in grado di fecondare gli ovociti neppure "in vitro".

Le tecniche di microiniezione (che sono metodiche di inseminazione degli ovociti), hanno rappresentato una importante conquista in quanto permettono oggi di ottenere una fecondazione "in vitro" anche in presenza di liquidi seminali con parametri estremamente scarsi, cioè con un bassissimo numero di spermatozoi e/o con una motilità estremamente ridotta.


La prima tecnica utilizzata, la SUSM, messa a punto nel **1990**, è stata completamente abbandonata nel **1993** a favore della **ICSI**, i cui risultati sono nettamente superiori e più facilmente riproducibili.

La ICSI prevede di iniettare, con un micromanipolatore costruito ad hoc, un unico spermatozoo direttamente all'interno del citoplasma dell'ovocita.



## MESA - TESA/E - STW

Queste sigle indicano un prelievo chirurgico di spermatozoi dalle vie seminali. Per MESA si intende un prelievo dall'epididimo, per TESA (e/o TESE) un prelievo dal testicolo, per STW un prelievo attraverso il lavaggio chirurgico delle vie seminali, MESA e TESA/E si rendono necessarie qualora il partner maschile presenti una azoospermia (cioè mancanza di spermatozoi nell'eiaculato) dovuta ad una ostruzio-



ne delle vie seminali: il testicolo produce spermatozoi, ma questi non sono in grado di riversarsi nelle vie seminali e, quindi, nell'eiaculato.

La TESA/E è inoltre indicata in caso di parziale arresto maturativo degli spermatozoi. L'indicazione alla STW è invece data dai casi di eiaculazione retrograda o altre patologie.

Non sempre comunque, durante l'atto chirurgico, è possibile recuperare cellule spermatiche mature.

Gli spermatozoi prelevati chirurgicamente vengono utilizzati per la inseminazione in vitro degli ovociti, per lo più utilizzando la tecnica ICSI.

La partner femminile deve quindi sottoporsi ad un ciclo di trattamento PMA.

Per evitare il rischio di sottoporre inutilmente la donna al trattamento, il prelievo chirurgico di spermatozoi viene eseguito in una fase preliminare.

Qualora si prelevino spermatozoi, questi vengono crioconservati e solo allora la partner femminile inizierà la stimolazione, avendo già a disposizione i gameti maschili per la inseminazione degli ovociti prelevati.

Può comunque succedere che allo scongelamento del tessuto prelevato durante la TESE-MESA non si reperiscano spermatozoi idonei per la ICSI, soprattutto quando il numero recuperato è estremamente basso.

## AZH (Assisted Zona Hatching)

Questa procedura consiste nel produrre una piccola apertura della zona pellucida negli embrioni subito prima del loro trasferimento nell'utero.

La zona pellucida è una membrana di protezione che fisiologicamente riveste l'ovocita e l'embrione fino al momento dell'impianto.

L'AZH è una metodica di laboratorio che ha lo scopo di favorire, quando ritenuto necessario, la fuoriuscita della blastocisti dalla zona pellucida per entrare direttamente in contatto con l'utero materno.

## Biopsia dell'embrione

La messa a punto di sofisticate tecniche di citogenetica e di biologia molecolare permette oggi di eseguire una indagine cromosomica su una unica cellula ed in tempi brevissimi (5-6 ore), quando normalmente sono richiesti 10-15 giorni ed un numero elevatissimo di cellule in divisione.

È quindi possibile asportare un blastomero da un embrione di 6-8 cellule senza danneggiarlo (biopsia dell'embrione) ed eseguire su di esso una valutazione cromosomica prima del trasferimento dell'embrione nell'utero materno.



Nel nostro Centro la biopsia dell'embrione è stata resa disponibile alle coppie dal 1996; in particolare veniva proposta a:

- pazienti di età superiore a 38 anni, in cui il rischio di aneuploidie (cioè di una alterazione numerica dei cromosomi) è notevolmente aumentato e in cui la possibilità di ogni singolo embrione di impiantarsi è ridotta,
- coppie con rischio di trasmissione di alcune malattie genetiche;
- pazienti che hanno eseguito più di 3 cicli di concepimento assistito senza aver mai ottenuto una gravidanza.
- pazienti con aborti ripetuti.

Dal marzo 2004 questa tecnica non è più eseguita perché resa **illecita** dalla legge 40/2004 e linee guida integrative.

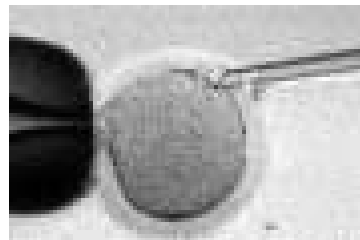
## Biopsia del 1° globulo polare

Il 1° globulo polare è un corpuscolo che viene espulso dall'ovocita nella fase finale della sua maturazione per dimezzare il patrimonio cromosomico prima della fecondazione.

Contiene quindi un corredo cromosomico che dovrebbe essere speculare a quello conservato dall'ovocita.

Il globulo polare non ha alcun ruolo e normalmente degenera dopo alcune ore. Questo corpuscolo può essere asportato (biopsia) ed utilizzato per la valutazione del numero di cromosomi contenuti con la stessa procedura messa a punto per la biopsia del blastomero. I tempi per avere il risultato devono essere molto più rapidi: al massimo 3-4 ore per potere inseminare gli ovociti considerati idonei nei tempi giusti.

La biopsia del globulo polare può fornire importanti informazioni sulla competenza cromosomica degli ovociti e può quindi in parte sostituire la biopsia degli embrioni per alcune indicazioni: età materna, ripetuti fallimenti, precedenti aborti. Può inoltre rappresentare uno strumento utile per una selezione non solo morfologica degli ovociti da inseminare, qualora si abbia a disposizione un numero elevato di cellule uovo.



## Crioconservazione di zigoti

Lo zigote è l'ovocita fecondato, con la presenza dei due pronuclei (maschile e femminile).

Lo zigote rappresenta lo stadio che ha le migliori possibilità di sopravvivenza al congelamento ed allo scongelamento.

Nel nostro Centro, la crioconservazione di tutti gli zigoti è utilizzata dal 1996 nelle pazienti a rischio di iperstimolazione ovarica (OHSS) per ridurre la incidenza e la severità di questa complicanza.

La attuale Legge Italiana non permette la crioconservazione degli zigoti in quanto considera l'ovocita fecondato già un embrione, ma in caso di problemi di salute, e quindi anche di elevato rischio di OHSS, la legge prevede una eccezione al divieto di congelare embrioni e zigoti. (art. 4)

## Crioconservazione di ovociti

La crioconservazione di ovociti ha evidenti vantaggi di ordine etico rispetto al congelamento di embrioni, ma nel mondo è utilizzata solo in casi eccezionali in quanto, ad oggi, si è dimostrata meno efficiente rispetto al congelamento di zigoti ed embrioni.

Dall'entrata in vigore della Legge 40/2004, l'Italia è uno di quei contesti, forse l'unico al mondo, in cui il divieto normativo al congelamento di embrioni "obbliga" al congelamento di ovociti per evitare di sprecare materiale genetico così prezioso.

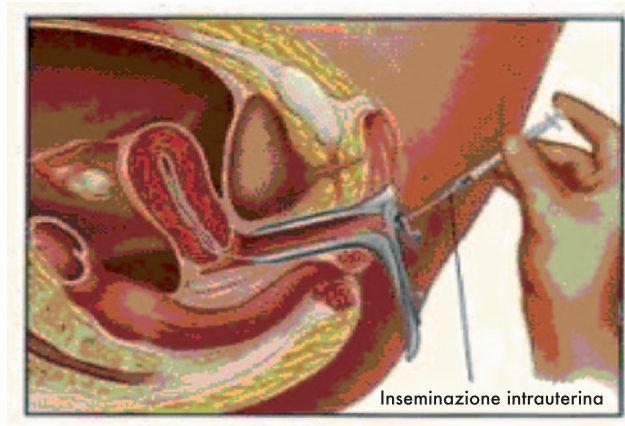
## Inseminazione artificiale omologa (IAO)

La inseminazione artificiale non rappresenta una metodica di concepimento assistita vera e propria in quanto tutto il processo avviene "in vivo".

È indicata nei casi di infertilità idiopatica o di un fattore lieve di infertilità maschile (v. fascicolo 1).

Consiste nella introduzione di liquido seminale opportunamente preparato all'interno della cavità uterina utilizzando una cannula che permette il passaggio indolore e atraumatico attraverso il canale cervicale.

Il trattamento del liquido seminale è una metodica che permette di selezionare spermatozoi mobili e vitali inducendo il processo di capacitazione. Il razionale è quello di aumentare il numero degli spermatozoi nel sito della fecondazione su-



perando anche eventuali problemi legati al “filtro meccanico” esercitato dal muco cervicale e di ottimizzare il “timing” dell’incontro degli ovociti con gli spermatozoi.

Vari studi rilevano che la possibilità di successo è aumentata dalla associazione della IAO con una stimolazione ovarica, cioè con la presenza di più follicoli ovarulatori. La stimolazione può essere però responsabile delle complicanze del trattamento in particolare dell’insorgere di gravidanze multiple e della sindrome d’iperstimolazione ovarica (OHSS). È quindi raccomandabile eseguire stimolazioni blande e monitorare la risposta ovarica con controlli ecografici e se necessario ormonali.

Le linee guida integrative alla legge 40/2004 hanno inserito questa procedura nelle tecniche di PMA sotto il termine di “tecniche di **I livello**” e distinguendole dalle:

- tecniche di **II livello**, che prevedono un *prelievo di ovociti*
  - FIVET
  - ICSI
  - crioconservazione di ovociti ed embrioni (nei limiti delle normative vigenti) od un *prelievo percutaneo di spermatozoi* dal testicolo
- tecniche di **III livello**, che prevedono una laparoscopia (GIFT, ZIFT, TET) od un prelievo chirurgico di spermatozoi dal testicolo.

## LA SINDROME DA IPERSTIMOLAZIONE OVARICA (OHSS)

### ***Che cosa è la sindrome da iperstimolazione ovarica***

È una conseguenza della stimolazione ovarica e può essere definita come una serie di sintomi causati da un aumento notevole del volume delle ovaie e dal passaggio anormale di liquidi, sali e proteine dal circolo ematico (sangue) a distretti che normalmente non contengono liquidi (ad es. addome, pleura, pericardio).

La sindrome è quindi caratterizzata da intenso gonfiore addominale, aumento di peso e della circonferenza addominale, restrizione della diuresi, riduzione della pressione ed aumento della frequenza cardiaca.

Possono associarsi sintomi quali nausea, vomito, diarrea e dispnea.

La forma severa può provocare ulteriori complicanze quali: fenomeni trombotici, ischemia renale e ARDS (distress acuto respiratorio dell'adulto) che compromettono severamente la salute della paziente. Anche se rarissimi, sono riportati casi di decesso conseguente a questi fenomeni.

L'incidenza della sindrome è fortunatamente molto bassa, ma non è possibile prevedere con certezza quali pazienti, tra quelle con parametri a rischio, andranno effettivamente incontro a questa complicanza.

L'insorgere della sindrome è infatti legata ad una predisposizione soggettiva che ad oggi non è identificabile a priori.

I meccanismi responsabili della sindrome non sono noti ma è probabile che la crescita anormale di follicoli produca (attraverso l'emissione in circolo di un fattore non ancora identificato) una alterazione della permeabilità della parete dei vasi sanguigni ed un conseguente passaggio di liquido nelle cavità virtuali del corpo.

La sindrome non compare mai durante la stimolazione e prima della iniezione dell'HCG, ma può comparire alcuni giorni dopo il prelievo degli ovociti o, nella maggiore parte dei casi, nel momento in cui inizia la gravidanza.

Quando uno o più embrioni si impiantano nell'utero, producono elevate quantità dell'ormone HCG che, immesso nel circolo materno, continua a stimolare le ovaie, mantenendo attivi per alcune settimane i fattori responsabili della sindrome.

L'instaurarsi di una gravidanza aumenta quindi l'incidenza di queste complicanze, ma anche la sua durata e severità.

Questo è il motivo, per cui, nelle pazienti a rischio, non si procede al trasferimento degli embrioni e tutti gli zigoti vengono crioconservati per essere trasferiti in cicli successivi non stimolati.

**N.B.** Quando si parla di rischio di OHSS, non significa che la sindrome è già presente, o che si manifesterà sicuramente, ma che la paziente entra nella fascia di rischio in cui la sindrome ha maggiori probabilità di comparire, rischio le cui percentuali sono riportate nelle tavole successive

---



## Incidenza di comparsa della sindrome di iperstimolazione ovarica

	Ciclo con gravidanza	Ciclo senza gravidanza
Pazienti a rischio di OHSS (> 15 ovociti e E <sub>2</sub> > 1500 pg/ml)	6%	0.4%
Pazienti non a rischio	0.5%	0%

## Durata della sindrome

	Ciclo con gravidanza	Ciclo senza gravidanza
Durata (giorni)	16 ± 3	6 ± 2

## Come accorgersi e controllare l'insorgenza della sindrome

Al di là di sensazioni dolorose e fastidiose dovute al traumatismo del prelievo di ovociti ed all'aumento del volume ovarico conseguente alla stimolazione, generalmente la sindrome da iperstimolazione si manifesta con:

- abnorme sensazione di gonfiore addominale
- aumento di peso
- senso di pesantezza al bacino
- diminuzione della quantità di urina giornaliera
- aumentata sensazione di sete
- difficoltà respiratorie


Nel caso questi parametri mostrino variazioni importanti è assolutamente necessario eseguire una ecografia ed esami clinici per valutare o meno la necessità di un ricovero.

## Come gestire la sindrome

Se viene accertata l'insorgenza della sindrome e se i sintomi sono severi, è necessario il ricovero in una struttura specializzata, per eseguire:

- 1) controlli giornalieri emato-chimici, dell'assetto emocoagulativo e della funzionalità renale
- 2) controlli ecografici
- 3) consulenze internistiche e nefrologiche

L'ospedalizzazione e il monitoraggio ravvicinato delle pazienti è il miglior approccio per instaurare le terapie mediche necessarie.



La terapia prevede somministrazione di quantità controllate di liquidi, Albumina, farmaci anticoagulanti, infusione lenta di Dopamina (secondo il protocollo, messa a punto dal nostro gruppo di Studio: 4.32 mg/Kg di peso corporeo nelle 24 ore).

La terapia farmacologica e la infusione di liquidi deve essere modulata quotidianamente in base ai parametri clinici della paziente.

In alcuni casi, può essere necessario la paracentesi (cioè l'aspirazione del liquido ascitico) e/o il drenaggio del liquido pleurico (toracocentesi).

Nei casi più severi può rendersi indispensabile il ricovero in Centri di Rianimazione. In casi estremi, qualora la terapia medica non si dimostrasse in grado di controllare i parametri vitali, potrebbe essere indispensabile ricorrere alla interruzione della eventuale gravidanza instauratasi.

### **Quando si risolve la sindrome**

Al dicembre 2003 sono insorte 64 sindromi da iperstimolazione ovarica severa in 10.062 cicli di induzione della crescita follicolare multipla eseguiti presso il nostro Centro, ma sono state fornite consulenze a colleghi di altri Centri per ulteriori 15 pazienti in cui la sindrome era insorta in seguito a trattamenti diversi.

Nei 41 casi in cui la sindrome era associata ad una gravidanza si è avuta la risoluzione completa del quadro clinico entro un massimo di 8 settimane, senza ulteriori complicanze. 39 pazienti hanno portato regolarmente a termine la gravidanza, 2 pazienti hanno abortito spontaneamente.

Nelle pazienti affette dalla sindrome ma non gravide la sindrome si è risolta quasi sempre spontaneamente con la comparsa delle mestruazioni; solo in 3 casi è perdurata per ulteriori 7-10 giorni.

## IN QUESTA COLLANA

- 1 Infertilità di coppia
- 2 Le metodiche di procreazione medicalmente assistita
- 3 Tappe di un ciclo di concepimento assistito
- 4 Risultati dei trattamenti PMA dei Centri S.I.S.ME.R.
- 5 Informazioni e preparazione al ciclo di trattamento PMA
- 6 La biopsia dell'embrione e la diagnosi pre-impianto (1996-2003)
- 7 Consensi informati
- 8 Per saperne di più
- 9 Glossario
- 10 Studio dei cromosomi in spermatozoi e cellule uovo



**Società Italiana di Studi  
di Medicina della Riproduzione s.r.l.**

Via Mazzini, 12 - 40138 Bologna  
tel. 0039 051.307307 (5 linee r.a.)  
fax 0039 051.302933

[www.simer.it](http://www.simer.it) - [www.simer.com](http://www.simer.com)  
e-mail: [pazienti@simer.it](mailto:pazienti@simer.it)



CERTIF. UNI EN ISO 9002 N. 1298/1  
CERTIF. UNI EN ISO 9001:2000 N. 1298/2



Azienda che opera con sistema Qualità certificato