

# Tappe di un ciclo di concepimento assistito



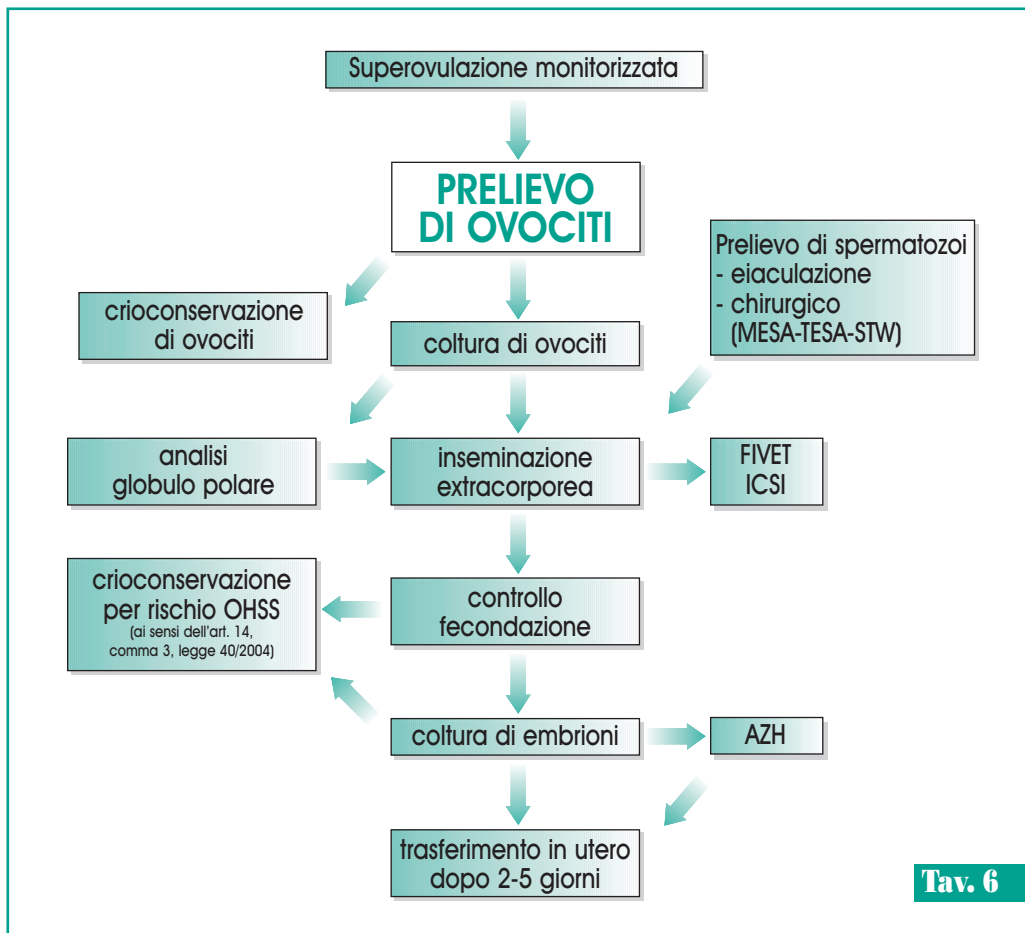




# Tappe di un ciclo di concepimento assistito

Prima di accedere al ciclo di trattamento, è necessario eseguire una serie di esami preliminari (di cui si riporta elenco nel fascicolo 5) ed essere informati sui rischi, sulle possibilità di successo e sulle varie problematiche connesse al trattamento (vedi fascicoli 4, 5 e 7).

Nella Tavola 6 sono schematizzate le varie tappe di un ciclo di concepimento assistito con le diverse possibilità di prelievo di spermatozoi, di metodiche di insemi-



Tav. 6

nazione, di trasferimento e/o di crioconservazione di gameti, zigoti o embrioni, in osservanza alla legge 40/2004 e Linee guida integrative.

## Induzione della maturazione follicolare multipla

La prima fase è rappresentata da una stimolazione ovarica. La maggior parte di pazienti che eseguono cicli di concepimento assistito non ha problemi ovulatori ma, come in tutte le donne, ogni mese matura ed ovula un unico follicolo. Lo scopo della stimolazione è di indurre, nel ciclo prescelto, una maturazione contemporanea di più follicoli per poter avere a disposizione più ovociti per l'inseminazione in vitro. Questa superovulazione può essere ottenuta utilizzando varie sostanze a seconda dei differenti protocolli.

I farmaci in grado di stimolare la maturazione follicolare sono:

<b>sostanza</b>	<b>nome commerciale</b>
Clomifene citrato	Clomid Serofene
FSH urinario	Fostimon
FSH ricombinante	Gonal - F Puregon
LH ricombinante	Luveris
HMG urinario	Menogon

Per la maturazione finale dell'ovocita, i farmaci utilizzati sono:

HCG urinario	Gonasi - Pregnyl
HCG ricombinante	Ovitrelle

I protocolli di stimolazione si dividono fondamentalmente in due categorie:

a) protocolli che prevedono la somministrazione di FSH e/o LH dopo aver indotto uno stato di cosiddetto "ipogonadismo farmacologico" (protocollo con agonista).

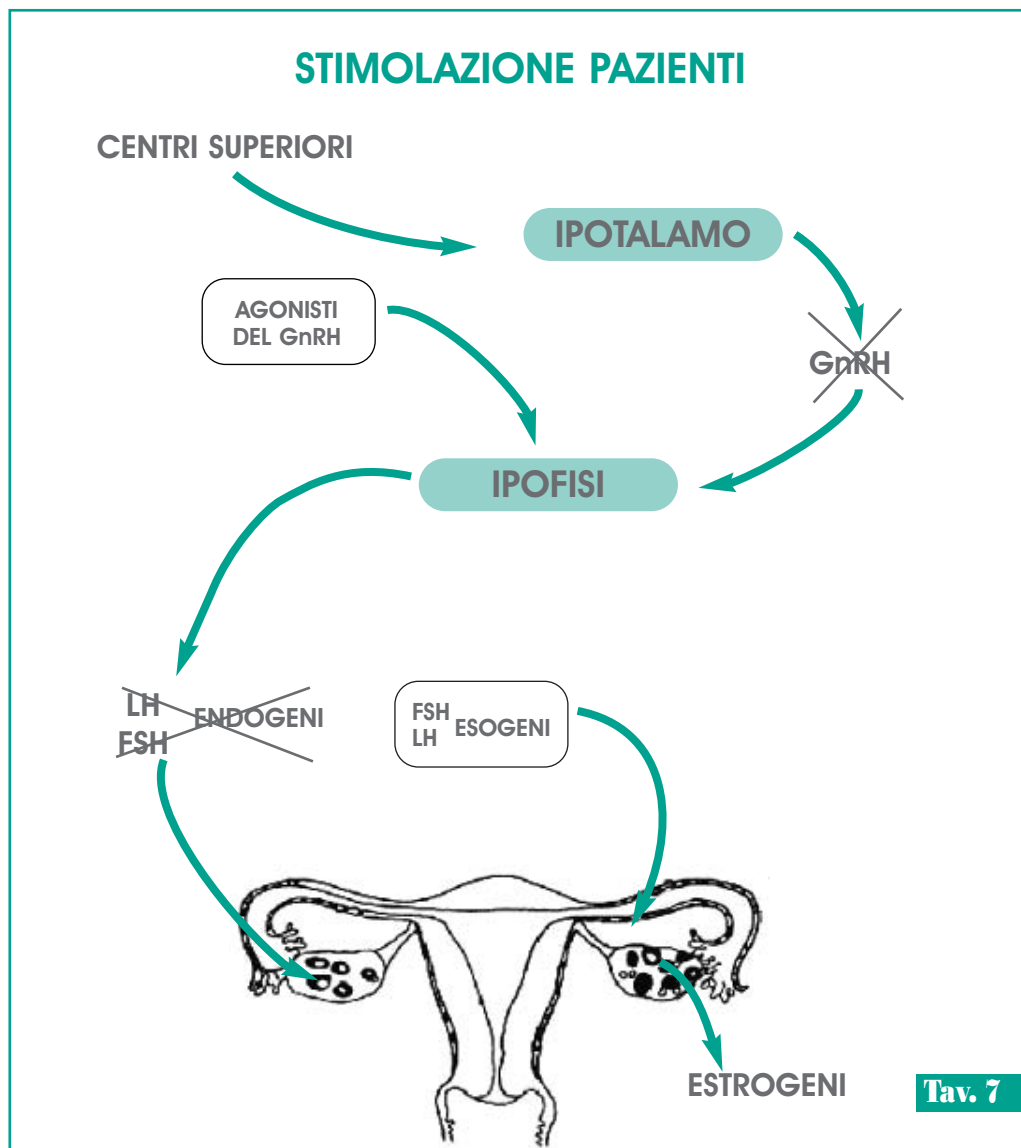
Per indurre questo stato vengono somministrate sostanze analoghe al GnRH (Decapeptyl, Enantone, Suprefact, Zoladex), dette anche agonisti del GnRH, che inibiscono la produzione endogena degli ormoni ipofisari deputati alla regolazione dell'attività ovarica (Tavola 7).


Lo scopo di questo "azzeramento" è di far sì che l'FSH e l'LH esogeni somministrati con i farmaci agiscano direttamente su ovaia "a riposo", senza subire interferenze con la produzione interna (endogena) di tali ormoni. L'agonista ini-



bisce inoltre il picco spontaneo dell'LH, evitando che i follicoli maturati vadano incontro ad una ovulazione spontanea prima del prelievo degli ovociti.

b) protocolli che prevedono la somministrazione dei farmaci che stimolano le ovaie (FSH, LH, Clomifene) dal 2°-3° giorno di una mestruazione spontanea. Questo protocollo richiede che, in una fase più avanzata (verso il 7°-9° giorno) venga associata la somministrazione di una sostanza antagonista del GnRH (Cetrotide o Orgalutran) che ha il ruolo di ridurre il rischio di una ovulazione spontanea prima del prelievo di ovociti.





La scelta del farmaco, del dosaggio e del protocollo da utilizzare è valutata caso per caso in relazione all'età della paziente, alle sue caratteristiche ovulatorie ed in base ad eventuali cicli precedenti.

Durante la stimolazione, la risposta ovarica ai farmaci è controllata giornalmente od a giorni alterni con ecografie e dosaggi dell'estradiolo plasmatico (monitoraggio). Questi parametri permettono di modulare di giorno in giorno il dosaggio dei farmaci in base alla singola risposta di ogni paziente.

Durante questa fase, il ciclo può essere sospeso qualora il numero di follicoli in via di maturazione non sia considerato adeguato, o qualora, al contrario, la risposta sia eccessiva.

Nel primo caso, che si verifica in circa il 15-20% delle pazienti e più frequentemente in donne di età superiore a 35 anni, il ciclo è sospeso perché, in presenza di un numero ridotto di follicoli, non esistono i presupposti minimi per ottenere le migliori possibilità di successo. Nel secondo caso, che si verifica in circa il 15% dei cicli e più frequentemente in donne giovani, il ciclo è sospeso perché la presenza di un numero eccessivo di follicoli fin dai primi controlli espone la paziente ad un maggior rischio di iperstimolazione ovarica severa (OHSS). In entrambi i casi, il ciclo può essere ripetuto entro tempi brevi ed utilizzando un diverso protocollo da valutare paziente per paziente. Non sempre è comunque possibile migliorare la risposta alla stimolazione.

Quando la risposta alla stimolazione ovarica sia considerata adeguata, nel momento in cui i follicoli raggiungono una dimensione preovulatoria (diametro medio superiore a 18 mm) ed i livelli di estradiolo siano indicativi di una buona attività funzionale di questi follicoli, viene somministrato l'HCG, sostanza che induce la maturazione finale dell'ovocita rendendolo disponibile alla fecondazione.

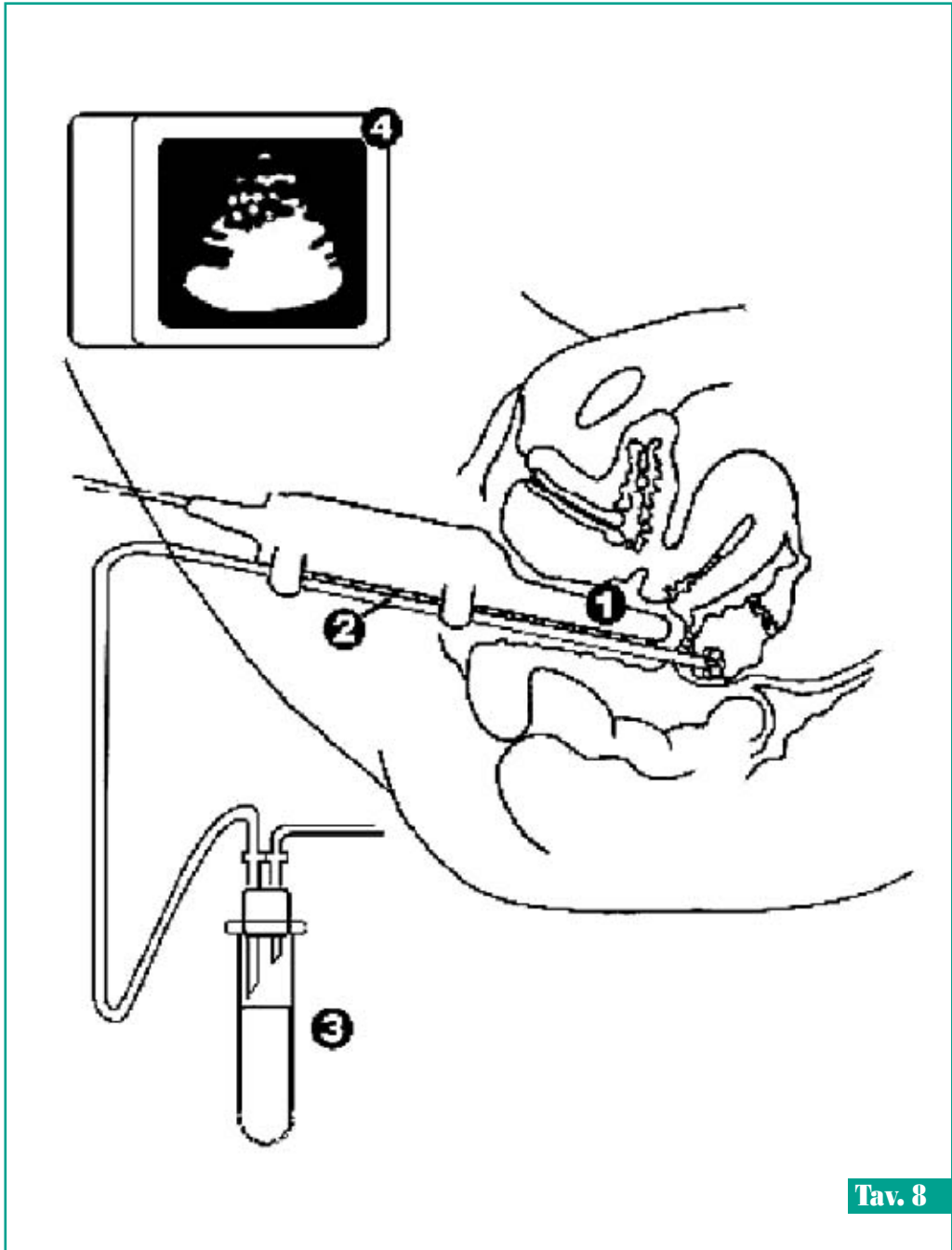
34-36 ore dopo la somministrazione dell'HCG, si procede alla 2ª tappa, anche questa comune a tutte le metodiche che prevedono una fecondazione "in vitro", rappresentata dal prelievo di ovociti.

## **Prelievo di ovociti**

Il prelievo di ovociti viene eseguito per via trasvaginale, sotto controllo ecoguidato, utilizzando aghi molto sottili (16-18 g) che raggiungono i follicoli con la sola perforazione della parete vaginale (Tavola 8).

Questa manovra chirurgica viene eseguita in anestesia per cui la procedura è assolutamente indolore.

Durante il prelievo di ovociti, vengono somministrati antibiotici per la comune profilassi operatoria ed, in certi casi, può essere somministrata Albumina umana per la prevenzione della OHSS.



**Tav. 8**

Schematizzazione del prelievo ecoguidato transvaginale di ovociti

1) sonda ecografica vaginale

2) ago di aspirazione

3) Falcon in cui viene raccolto il liquido follicolare, cioè il contenuto del follicolo in cui "nuota" l'ovocita

4) Schermo dell'ecografo, sotto la cui visione diretta viene eseguita la manovra

Vengono aspirati tutti i follicoli presenti (ed eventuali cisti ovariche formatesi durante la stimolazione), ed il liquido ottenuto viene immediatamente controllato in laboratorio, sotto microscopio, per la ricerca delle cellule-uovo (ovociti).

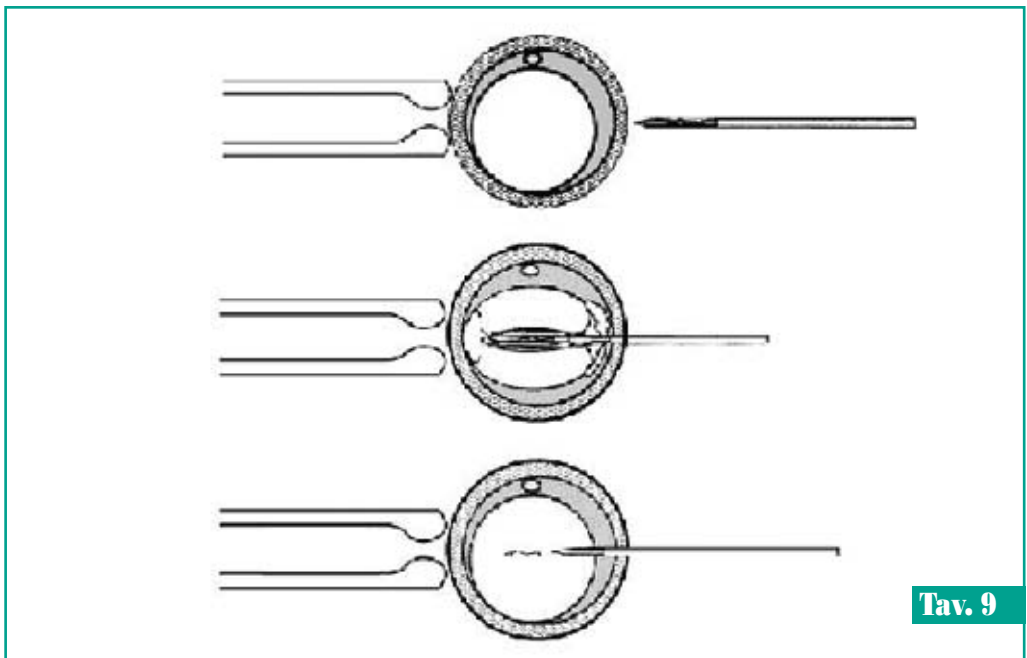
Il giorno del prelievo di ovociti viene convenzionalmente definito "giorno 0".

Indipendentemente dalla corretta esecuzione del prelievo, la manovra chirurgica prevede un rischio di complicanze dello 0.1% (un caso su mille). Le complicanze sono rappresentate da lesioni ad organi interni, con conseguente necessità di un intervento chirurgico riparatore, o da ascessi ovarici e peritoniti, con conseguente necessità di ricovero urgente in ambiente ospedaliero per le cure mediche necessarie.

Il prelievo di ovociti può esitare inoltre nel mancato recupero di ovociti o nel recupero solo di ovociti immaturi o post-maturi non idonei per la inseminazione. Nella casistica del S.I.S.Me.R., questa evenienza si verifica nello 0.5% dei casi.

## Inseminazione e coltura

Gli ovociti prelevati sono posti in coltura all'interno di appositi incubatori che mantengono le condizioni idonee per la loro sopravvivenza, e dopo alcune ore vengono inseminati.



**Tav. 9**

Passaggi della tecnica ICSI



Il liquido seminale per l'inseminazione è fornito con una eiaculazione o, quando indicato, si utilizza il materiale prelevato chirurgicamente dalle vie seminali (**MESA - TESA/E - STW**) e crioconservato.

La metodica di inseminazione può seguire le FIVET convenzionali (2-3 mila spermatozoi mobili posti a contatto con ciascun ovocita) o può richiedere una fecondazione microassistita (**ICSI**), (Tavola 9).

La scelta del tipo di inseminazione ( FIVET o ICSI ) dipende in prima istanza dalla qualità del liquido seminale (numero, motilità e morfologia degli spermatozoi), ma può dipendere anche da altri fattori.

La attuale normativa vigente in Italia dal marzo 2004 ( Legge 40/2004 e Linee Guida integrative) pone, di fatto, un limite nel numero di ovociti da inseminare : al massimo tre.

Al momento del prelievo, gli ovociti appaiono rivestiti da uno cumulo di cellule di origine follicolare (detto "corona radiata ") che rende difficoltosa la visione diretta della cellula uovo. Qualora vengano prelevati più di tre ovociti, può essere necessario rimuovere queste cellule allo scopo di valutare meglio la qualità di ciascun ovocita e scegliere quindi tre ovociti maturi (sempre che siano disponibili) da inseminare. L'ovocita può essere normalmente fecondato solo se ha completato la prima fase di maturazione nucleare ed ha espulso il primo globulo polare (ovocita in Metafase II) (tav.10) Una volta rimosso il cumulo di cellule, la inseminazione deve essere eseguita con la tecnica ICSI anche in presenza di un liquido seminale normale, per evitare che all'interno dell'ovocita penetrino più di un singolo spermatozoo.

Prima della inseminazione, quando indicato, può essere aspirato il globulo polare per la valutazione della competenza cromosomica degli ovociti prelevati (vedi fascicolo n.10).

Qualora la paziente abbia prodotto un numero di ovociti superiore a quello che la Legge consente di inseminare, è possibile crioconservare gli ovociti in eccesso, previo consenso informato.

Gli ovociti inseminati vengono posti in coltura per ulteriori 15-20 ore, dopo le quali viene valutata la avvenuta fecondazione. Un ovocita fecondato normalmente (zigote) è facilmente riconoscibile per la presenza di due pronuclei: maschile e femminile, che contengono il corredo cromosomico di origine paterna e materna (Tavola 10).

Gli zigoti vengono posti nuovamente in coltura, rinnovando il terreno, e vengono controllati ogni 20-24 ore per osservare lo sviluppo embrionale fino al trasferimento. La percentuale di fecondazione è del 75%, sia con la tecnica FIVET che con la tecnica ICSI.

Una volta avvenuta una normale fecondazione, la probabilità di sviluppo embrionale è elevata ma non certa.

**Ovocita maturo in metafase II  
(presenza del I globulo polare)**



**Ovocita fecondato  
(presenza di due pronuclei e di due globuli polari)**



**Tav. 10**



A 24 ore dal controllo della fecondazione (2 giorni dopo il prelievo di ovociti), un regolare sviluppo deve portare alla formazione di un embrione a 2, 3 o 4 cellule. Il giorno successivo (giorno + 3), l'embrione deve possedere 6-8 cellule. Il giorno + 4, il regolare stadio è rappresentato dalla **morula**, embrione con 12-20 cellule che non sono più facilmente distinguibili in quanto compattate tra loro. Nel giorno + 5, l'embrione deve avere raggiunto lo stadio di **blastocisti**, costituita da circa 100 cellule che si sono organizzate formando una cavità contenente sostanza liquida e suddividendosi in trofoblasto ed embrioblasto. La blastocisti rappresenta lo stadio di sviluppo a cui inizia l'annidamento nell'utero materno. Grazie ai moderni terreni di coltura, l'embrione può essere mantenuto in coltura fino a questo stadio senza alterare la sua potenzialità di sviluppo.

Nella tavola 11 sono schematizzate le varie tappe di sviluppo embrionale, dalla fecondazione alla formazione della blastocisti, con i tempi necessari a ciascuna fase e con le varie percentuali di passaggio da uno stadio a quello successivo. Come risulta dalla tavola, circa il 15-20% degli embrioni si arresta durante i primi tre giorni di sviluppo. È quindi possibile che per alcune coppie non siano disponibili embrioni vitali e che il trasferimento non venga eseguito. Questa evenienza può essere legata alle caratteristiche del liquido seminale utilizzato per la inseminazione od alla scarsa qualità degli ovociti prelevati, fenomeni che non è possibile prevedere prima del trattamento.

Con la attuale normativa, una volta avvenuta la fecondazione, gli zigoti o gli embrioni possono essere crioconservati solo in presenza di condizioni di salute della paziente che controindichino il trasferimento degli embrioni o la insorgenza di una gravidanza per rischio di OHSS non prevedibile al momento della inseminazione.

## Trasferimento di embrioni

Il trasferimento degli embrioni può essere eseguito tra il giorno + 2 ed il giorno + 5 a seconda dei singoli casi e, quindi, a stadi diversi di sviluppo embrionale.

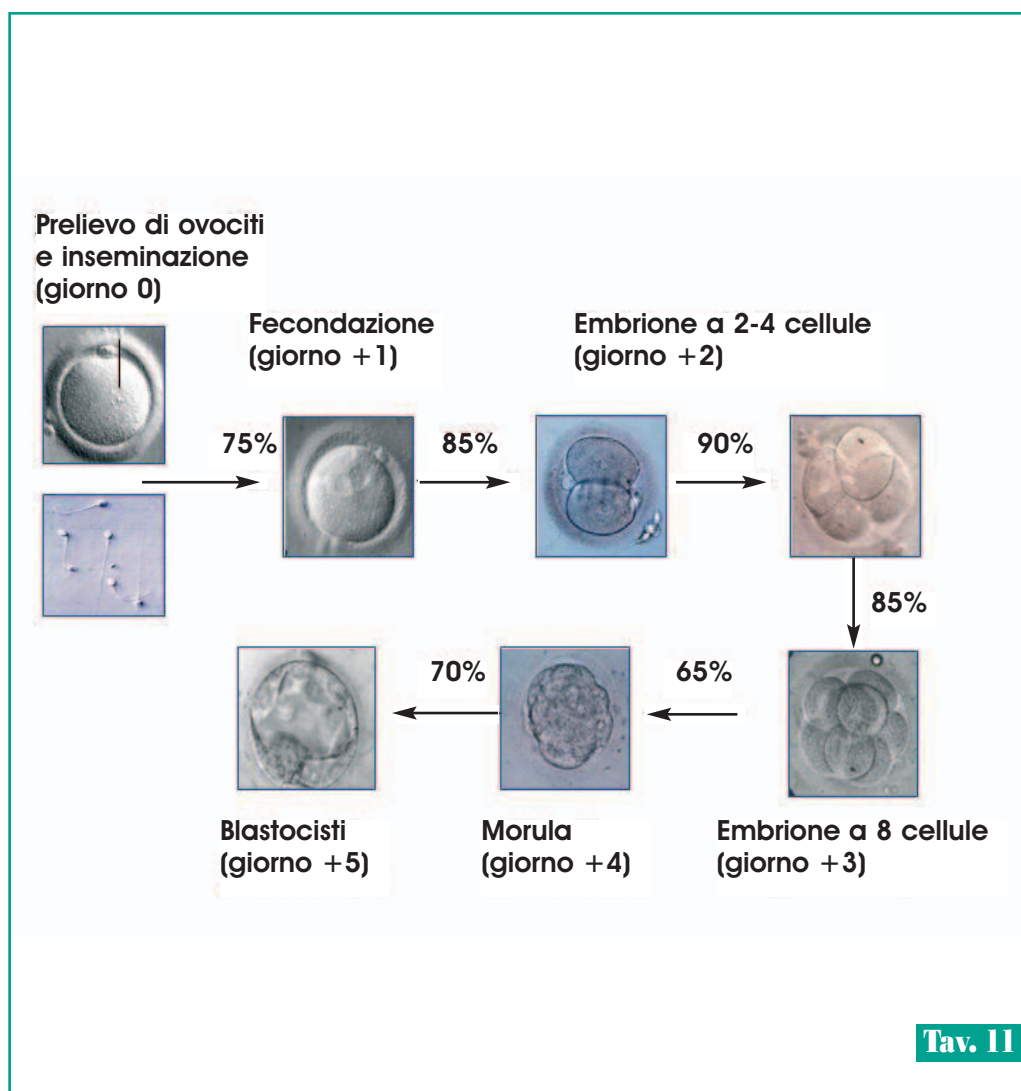
La metodica di trasferimento intrauterino è generalmente semplice e indolore: non richiede alcuna forma di anestesia o sedazione e consiste nell'introdurre un sottilissimo catetere (del diametro di circa 1-1,5 mm.) all'interno della cavità uterina attraverso il canale cervicale.

È una manovra comunque molto delicata in quanto è necessario evitare ogni stress agli embrioni ed alla mucosa che riveste la cavità uterina (endometrio).

## Dimissione

Dopo il trasferimento di embrioni, la paziente viene dimessa ricevendo la relazione del ciclo di trattamento e con tutte le informazioni necessarie sul comportamento da seguire nella fase successiva in attesa dell'esito finale.

Per le pazienti che hanno presentato una risposta **a rischio di OHSS**, vengono raccomandate misure particolari, illustrate nel fascicolo informativo n. 2 (pag. 12) e nella relazione del ciclo di trattamento (MD-PS PMA 1-16 rev. 2).





## Comportamento della paziente nel periodo post-trattamento

Dopo il ciclo di concepimento assistito da Lei eseguito, all'interno del suo apparato genitale sono presenti gameti o embrioni con potenzialità di impiantarsi nell'utero e di dare origine ad una gravidanza. Per questo motivo Le consigliamo di seguire con attenzione i seguenti suggerimenti.

### 1) Terapia di supporto

La sua fase luteale viene accompagnata dalla somministrazione di progesterone secondo lo schema allegato a pag. 8. In questo modulo è indicato anche il giorno in cui dovrà eseguire il prelievo del sangue da inviarci.

Esegua sempre la terapia nelle dosi raccomandate cerchi di mantenere l'intervallo, tra una somministrazione e l'altra, costante.

Non interrompa la terapia per alcun motivo se non lo ha concordato preventivamente con un medico del Servizio di Medicina della Riproduzione.

### 2) Perdite ematiche vaginali

È possibile che durante la fase luteale possano manifestarsi perdite ematiche. Queste possono essere esterne (derivare cioè dalla pinzettatura del canale cervicale al momento del trasferimento in utero) o essere simili a flussi mestruali veri e propri. Le perdite ematiche possono essere scure, scarse oppure rosate. In tutti i casi non interrompa la terapia e mantenga invariato il programma per il prelievo di sangue.

### 3) Prelievo del sangue

Al momento della Sua dimissione il medico Le consegnerà alcune provette per ricevere, nel giorno stabilito, un campione del Suo sangue.

Lo scopo è quello di valutare l'ormone che segnala l'eventuale inizio di gravidanza (βHCG) e la quantità di progesterone circolante nel Suo organismo.

Il nostro servizio è in grado di fornire la risposta nell'arco di 1-2 giorni per tutto il periodo dell'anno. Il laboratorio collegato a noi può fornire valori di βHCG appena rilevabili nel sangue (5-6 m UI/ml) permettendo di valutare l'insorgenza di una gravidanza molto precocemente. Questi dati sono fondamentali, per poter modificare la terapia di supporto della fase luteale o per consigliarLe di interrompere qualsiasi trattamento. Per questo motivo anche se può risultare poco agevole, è indispensabile che Lei faccia avere al Centro (anche tramite corriere) una provetta di sangue prelevato nel giorno stabilito. La provetta può essere introdotta in un contenitore termico, precedentemente raffreddato (ad es. lasciandolo aperto in frigorifero dalla sera precedente).

Al momento della dimissione il medico, oltre a fissare la data per l'invio del campione di sangue Le dirà anche quando telefonare per avere la risposta.

#### **4) Consigli per la vita quotidiana**

*a) È sconsigliabile*

- 1) Svolgere attività lavorative fisicamente impegnative
- 2) Eseguire sports o esercizi (ad es. lunghe camminate) che affatichino il fisico
- 3) Fare bagni prolungati (vasca, piscina, mare, ecc.)
- 4) Utilizzare saponi o lavande vaginali che possono alterare l'ambiente vaginale
- 5) Aumentare i «potenziali piccoli traumi» all'apparato genitale (ad es. Rapporti sessuali, utilizzo prolungato di mezzi di locomozione, ecc.)

*b) è possibile*

- 1) Fare la doccia e lavarsi i capelli (in caso di avvenuta laparoscopia è consigliabile riparare dall'acqua i cerotti che proteggono i punti di sutura)
- 2) Svolgere una vita di relazione normale.

#### **5) Rapporti col medico curante o col ginecologo che ha inviato la coppia per un ciclo di concepimento assistito**

Anche se molto spesso è il ginecologo o il medico curante ad inviare la coppia per il trattamento, a volte è la paziente che si rivolge direttamente al Servizio di Medicina della Riproduzione senza avvertire i propri medici. Questa procedura è sconsigliabile soprattutto per le pazienti che abitano lontano da Bologna e che, in ogni modo possono aver bisogno di un consiglio o di un parere dei loro sanitari.

È consigliabile rivolgersi al proprio medico per la rimozione dei punti di sutura, qualora sia stata eseguita una celioscopia.

Se si instaura una gravidanza, quest'ultima può essere seguita fino dal secondo mese dallo specialista della coppia.

#### **6) Comunicazione dell'esito del trattamento**

Siamo tutti pienamente consapevoli che la comunicazione dell'esito del test di gravidanza rappresenta il momento psicologicamente più difficile da affrontare per la coppia. Purtroppo per motivi logistici, la comunicazione dell'esito del test può essere solo telefonica e può quindi risultare «fredda e frettolosa» da parte del medico. In caso di test di gravidanza negativo, non è possibile in quel momento approfondire il caso specifico, ma il Dott. Luca Gianaroli e la Dott. ssa Anna Pia Ferraretti sono sempre disponibili, previa prenotazione di un appuntamento telefonico, per fornire qualsiasi ulteriore informazione e chiarimento sul ciclo e per discutere sul programma futuro.

In caso di test di gravidanza positivo, si richiede l'invio di ulteriori prelievi di sangue, ogni 7-8 giorni per le prime tre settimane e l'esecuzione della prima ecografia (alla 7°-8° settimana) presso il Centro S.I.S.ME.R.. Vengono inoltre date istruzioni sul proseguimento della terapia di supporto con Progesterone.

## 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