

Fecondazione in vitro

Informazioni per la coppia

**UNITÀ OPERATIVA
MEDICINA DELLA RIPRODUZIONE**

**FONDAZIONE IRCCS CA' GRANDA
OSPEDALE MAGGIORE POLICLINICO**

VIA M. FANTI, 6 - 20122 MILANO
TEL. 02 55034311-09
centrosterilita@policlinico.mi.it

Rev.: 28 gennaio 2014

INTRODUZIONE

La nascita nel 1978 di Louise Brown mediante fecondazione in vitro e trasferimento in utero dell'embrione – FIVET – ha aperto nuove possibilità di terapia per molte coppie infertili che non avrebbero possibilità di gravidanza con le terapie tradizionali. Il presente "manuale" vuole spiegare questa tecnica di Procreazione medico-assistita, ormai accettata in tutto il mondo come trattamento di molte cause di infertilità.

Con questa tecnica sono già nati alcuni milioni di bambini, come risulta dai Registri Nazionali FIVET di vari Paesi.

INDICAZIONI

Danno tubarico irreversibile: è l'indicazione principale alla FIVET.

Infertilità maschile: in molti casi di infertilità maschile non trattabili con le terapie tradizionali è possibile praticare la FIVET. Nei casi in cui il numero e la qualità degli spermatozoi non siano idonei alla fecondazione in vitro "standard", all'inizio degli anni novanta è stata messa a punto una tecnica di fecondazione con microiniezione, che prevede una iniezione "meccanica" di un singolo spermatozoo all'interno dell'ovocita (ICSI, IntraCyttoplasmatic Sperm Injection).

Endometriosi: è un'altra delle principali indicazioni alla fecondazione in vitro, in quanto la tecnica consente di aggirare gli effetti negativi della malattia sul concepimento.

Sterilità a causa sconosciuta: nel 15% circa delle coppie sterili la causa della sterilità rimane ignota. In questi casi è proponibile la FIVET, anche se prima è corretto praticare tentativi di procreazione medico-assistita più semplici, quali le inseminazioni intrauterine.

TEMPI DELLA PROCEDURA

La FIVET è una tecnica di procreazione medico-assistita nella quale gli spermatozoi vengono messi a contatto con gli ovociti. La fecondazione avviene in laboratorio, in particolari provette. L'embrione così formato viene poi trasferito nell'utero della paziente.

I tempi della procedura possono essere così schematizzati:

1. induzione farmacologica della ovulazione multipla;
2. prelievo degli ovociti;
3. inseminazione e fecondazione;

4. trasferimento degli embrioni in utero.

1) Induzione della ovulazione multipla

Al fine di poter disporre di più ovociti da fecondare (non di uno soltanto come avviene nel ciclo spontaneo) alla paziente vengono somministrati farmaci in varie combinazioni tra loro (Agonisti ed Antagonisti del Gn-RH, Gonadotropine) che stimolano l'ovaio.

Questi farmaci permettono di raggiungere due scopi:

- facilitare la crescita e la maturazione di numerosi follicoli;
- controllare il momento della ovulazione, in modo che sia possibile prelevare gli ovociti prima di una loro spontanea fuoriuscita dai follicoli.

Essendo quindi molto importante sapere non solo cosa succede all'ovaio, ma anche quando questo succede, è necessario che la somministrazione dei farmaci sia accompagnata da una valutazione clinica, ecografica e talvolta anche ormonale.

Il monitoraggio ecografico viene eseguito con sonda vaginale a vescica vuota. Questo metodo, ben accettato dalle pazienti, permette di visualizzare in maniera ottimale i follicoli e di effettuare una corretta misurazione (Fig. 1).

Inoltre, secondo la risposta delle pazienti, è possibile modificare, se necessario, la dose dei farmaci somministrati.

Quando i follicoli raggiungono il diametro ottimale, alla paziente viene somministrata una fiala di gonadotropina corionica (HCG) o di agonista del GnRH che provoca l'ovulazione ed il prelievo degli ovociti viene programmato circa 36 ore dopo, vale a dire poco prima di quello che sarebbe lo "scoppio" spontaneo dei follicoli.

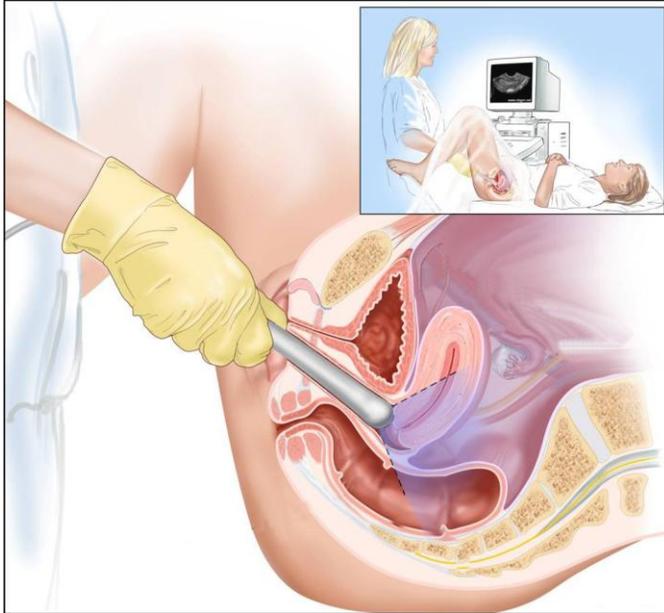


Figura 1: Monitoraggio ecografico della crescita follicolare

2) Prelievo degli oociti

La procedura ormai universalmente accettata di prelievo degli oociti avviene mediante puntura dei follicoli per via vaginale sotto controllo ecografico (Fig. 2).

Introdotta la sonda vaginale (la stessa usata per il monitoraggio della crescita follicolare) si pungono i follicoli ovarici mediante un ago coassiale alla sonda, la cui traccia può essere seguita sullo schermo e si aspira il liquido follicolare, che viene immediatamente esaminato in laboratorio per il recupero degli oociti.

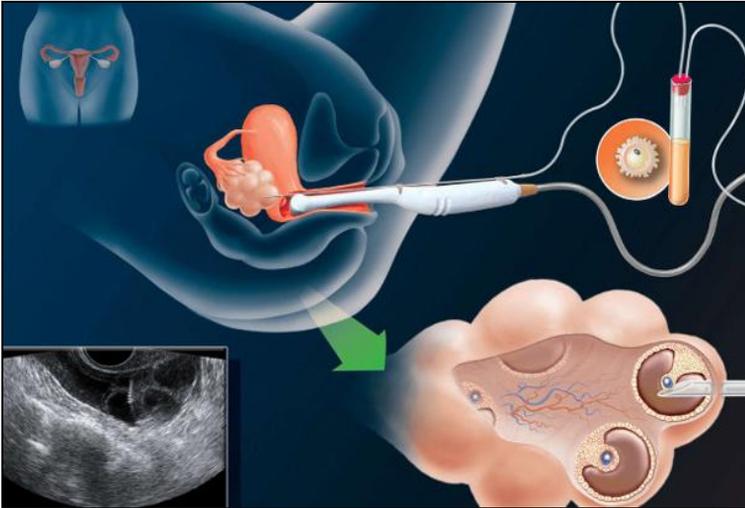


Figura 2: Prelievo degli oociti sotto controllo ecografico

La procedura viene eseguita in regime di Day-Surgery, in analgesia e dura 10-20 minuti.

Dopo il prelievo la paziente rimane in osservazione.

3) Inseminazione e fecondazione

✚ *Tecnica "standard" (seme normale).*

Gli ovociti, tenuti in un medium di coltura, vengono subito esaminati (Fig. 3) per la valutazione del grado di maturità e trasferiti per 2-3 ore in uno speciale incubatore a 37°C (la stessa temperatura corporea della donna). Gli ovociti vengono successivamente posti in una capsula insieme agli spermatozoi, preventivamente preparati.

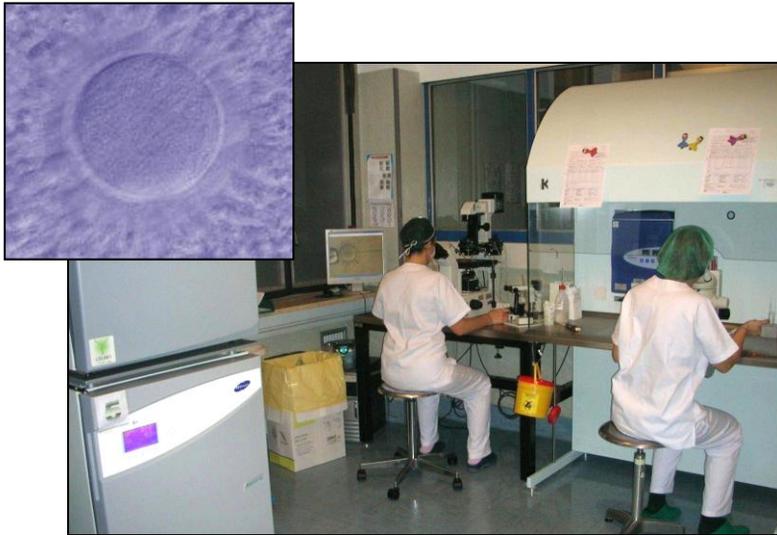


Figura 3: Esame degli oociti nel liquido follicolare

È quindi necessario che, in concomitanza al prelievo degli ovociti, il partner raccolga il seme che, con particolari sistemi di centrifugazione e lavaggio, sarà reso idoneo alla inseminazione. La fecondazione (penetrazione di uno spermatozoo all'interno della cellula uovo) è completata, sempre in incubatore, dopo circa 18 ore dalla inseminazione ed entro le successive 12 ore la cellula uovo fecondata comincia a dividersi in due cellule (zigote).

✚ *Tecnica con microiniezione (seme patologico).*

Intracytoplasmatic Sperm Injection - I.C.S.I. (Fig. 4). Questa è una procedura che permette di iniettare, con una micropipetta di vetro, un singolo spermatozoo direttamente all'interno dell'ovocita. La tecnica viene eseguita con particolare microscopio, equipaggiato con un micromanipolatore.

Mediante ICSI si sono ottenute gravidanze con spermatozoi immobili e/o anomali (l'anomalia riguarda "l'involucro esterno" dello spermatozoo che, solo se

normale, permette la penetrazione nell'ocita). È possibile, mediante ICSI, ottenere gravidanze anche con spermatozoi prelevati dalle vie seminali (MESA: Microsurgical Epididymal Sperm Aspiration; PESA: Percutaneous Epididymal Sperm Extraction) o dal tessuto testicolare (TESE: Testicular Sperm Extraction).

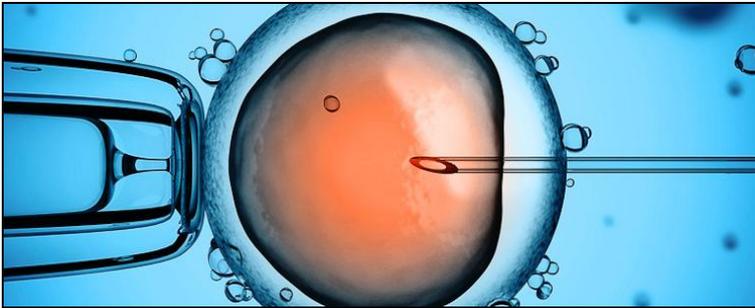


Figura 4: Microiniezione intracitoplasmatica dell'ocita

4) Trasferimento dell'embrione

Il trasferimento in utero dell'embrione è una procedura molto semplice e non richiede analgesia. Gli embrioni sospesi in una goccia di medium di coltura sono aspirati in un sottile catetere. Il catetere viene quindi delicatamente inserito nell'utero e gli embrioni posizionati in cavità uterina (Fig. 5). Il procedimento richiede in tutto dieci-quindici minuti, dopodiché la paziente rimane a riposo.

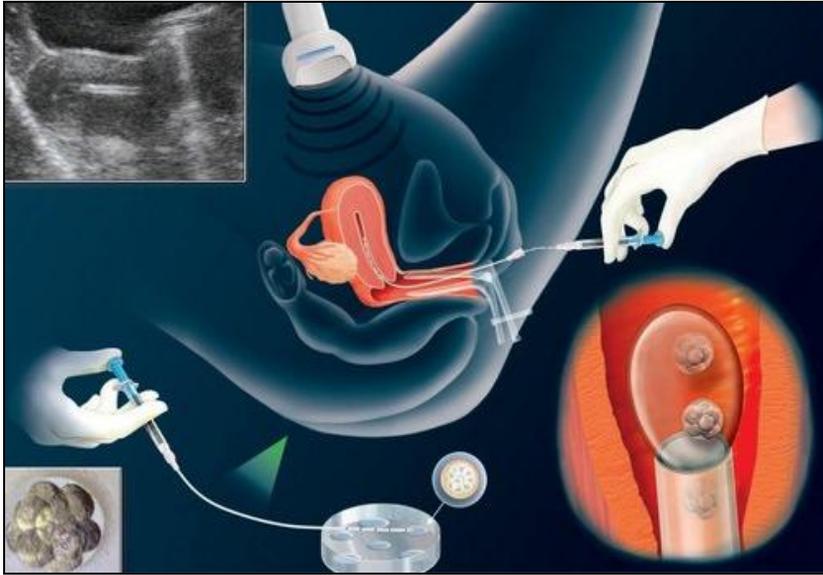


Figura 5: Trasferimento degli embrioni in utero

Il trasferimento in utero degli embrioni avviene in 2-3° giornata dal prelievo degli ovociti. In casi particolari, il trasferimento può avvenire in 5° giornata dal prelievo ovocitario, allo stadio embrionario di blastocisti.

5) Crioconservazione di ovociti/embrioni

Nel caso si ottenga un discreto numero di ovociti di buona qualità, in eccesso rispetto a quelli che si riterrà opportuno inseminare, la coppia potrà decidere di crioconservarli per futuri tentativi, con i costi del congelamento a carico della coppia.

SOSPENSIONE DEL PROGRAMMA

Il programma può essere interrotto in ognuno dei primi tre momenti.

+ **Induzione dell'ovulazione multipla**

Circa il 10-15% delle pazienti non rispondono ai farmaci nel modo desiderato, senza quindi una crescita di follicoli adeguati in numero e dimensioni; altre volte la risposta può essere eccessiva (vedi iperstimolazione). In questi casi la stimolazione potrà essere ripetuta con farmaci e/o modalità diverse.

+ **Prelievo degli oociti**

Seppure in rari casi, è possibile il riscontro di follicoli disabilitati, cioè privi di ovociti.

+ **Inseminazione e fecondazione**

Anche in caso di recupero ovocitario, può accadere che non sia possibile arrivare al trasferimento embrionario. Infatti gli ovociti recuperati possono talora non essere idonei alla inseminazione o alla microiniezione. Inoltre lo sviluppo embrionario può arrestarsi nel corso della cultura a qualunque stadio. La percentuale di ovociti che si fecondano è il 65-75%.

VARIABILI CHE INCIDONO SUL RISULTATO

+ **Età della paziente**

La fertilità della donna si riduce progressivamente con l'età, in particolare dopo i 38-40 anni (diminuita risposta ovarica, diminuito indice di fecondazione per la peggior qualità degli ovociti, aumento di anomalie genetiche e di

aborti). Tuttavia in alcune donne questa situazione si manifesta più precocemente.

Situazione seminale del partner

Un seme povero in quantità e qualità di spermatozoi si associa ad una riduzione della percentuale di fertilizzazione. In caso di seme con un numero di spermatozoi molto scarso, con bassa mobilità o alta percentuale di forme anomale è possibile solo la microiniezione.

Situazione uterina

La presenza di patologia uterina (malformazioni, fibromi, polipi, aderenze) è un fattore negativo per la riuscita del programma. In questi casi una isteroscopia o una isterosonografia (metodi di valutazione della cavità uterina) possono dare utili informazioni sulla possibilità di accesso alla FIVET.

Situazione ovarica

È necessario che almeno un ovaio sia funzionante e risponda allo stimolo ormonale.

RISCHI DELLA FIVET

Iperstimolazione

L'induzione della superovulazione può provocare una sindrome da iperstimolo per la crescita di numerosi follicoli con eccessivo aumento di volume delle ovaie, dolori addominali, edemi e aumento di peso. Nei casi più severi la iperstimolazione si accompagna ad altri sintomi (nausea, vomito, raccolta di liquido in cavità addominale) che possono richiedere l'ospedalizzazione della paziente. L'iperstimolazione è un'evenienza rara (1-5%), soprattutto se si esegue un corretto monitoraggio della crescita follicolare.

Gravidanze multiple

La probabilità di gravidanze multiple (20-25%) è aumentata rispetto a quanto avviene nella gravidanza spontanea (2%), in quanto più embrioni vengono trasferiti in cavità uterina. Anche se da alcune pazienti la gravidanza gemellare viene vista come un risultato positivo, bisogna considerare che, associati alla gravidanza plurima, vi sono molti problemi, tanto più severi quanto più numerosi sono i feti.

Gravidanza extrauterina

Anche la possibilità di gravidanza extrauterina dopo FIVET è aumentata (3%) rispetto a quanto avviene in caso di concepimenti spontanei (0,5%).

Risultati FIVET / ICSI del nostro centro

Le percentuali di gravidanza per Embryo Transfer del Centro sono in linea con quelle della letteratura internazionale e si attestano intorno al 25-30%. Sopra i 40 anni di età si verifica una riduzione di oltre il 50% delle percentuali di successo; oltre i 43 anni le gravidanze sono eccezionali.

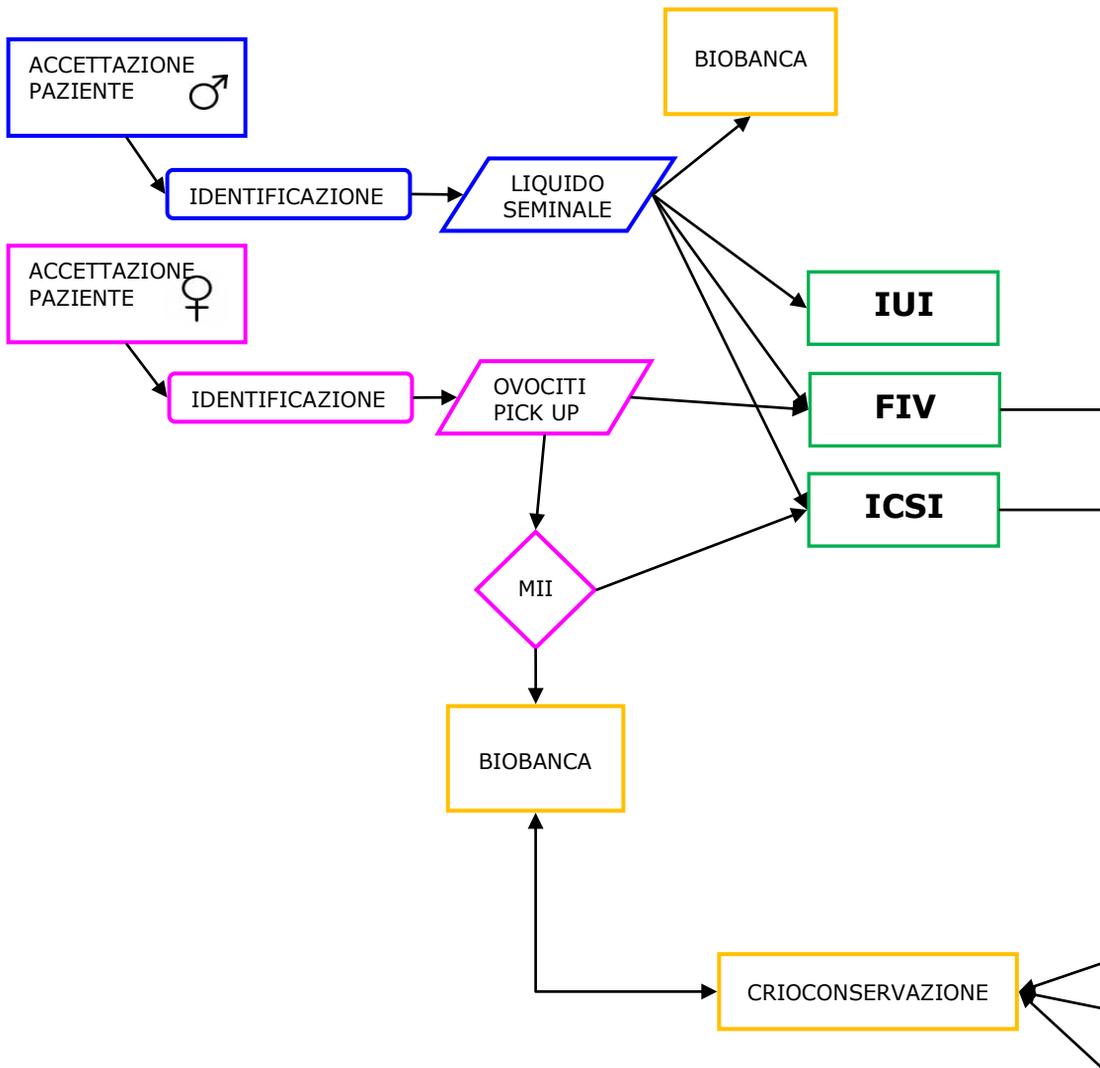
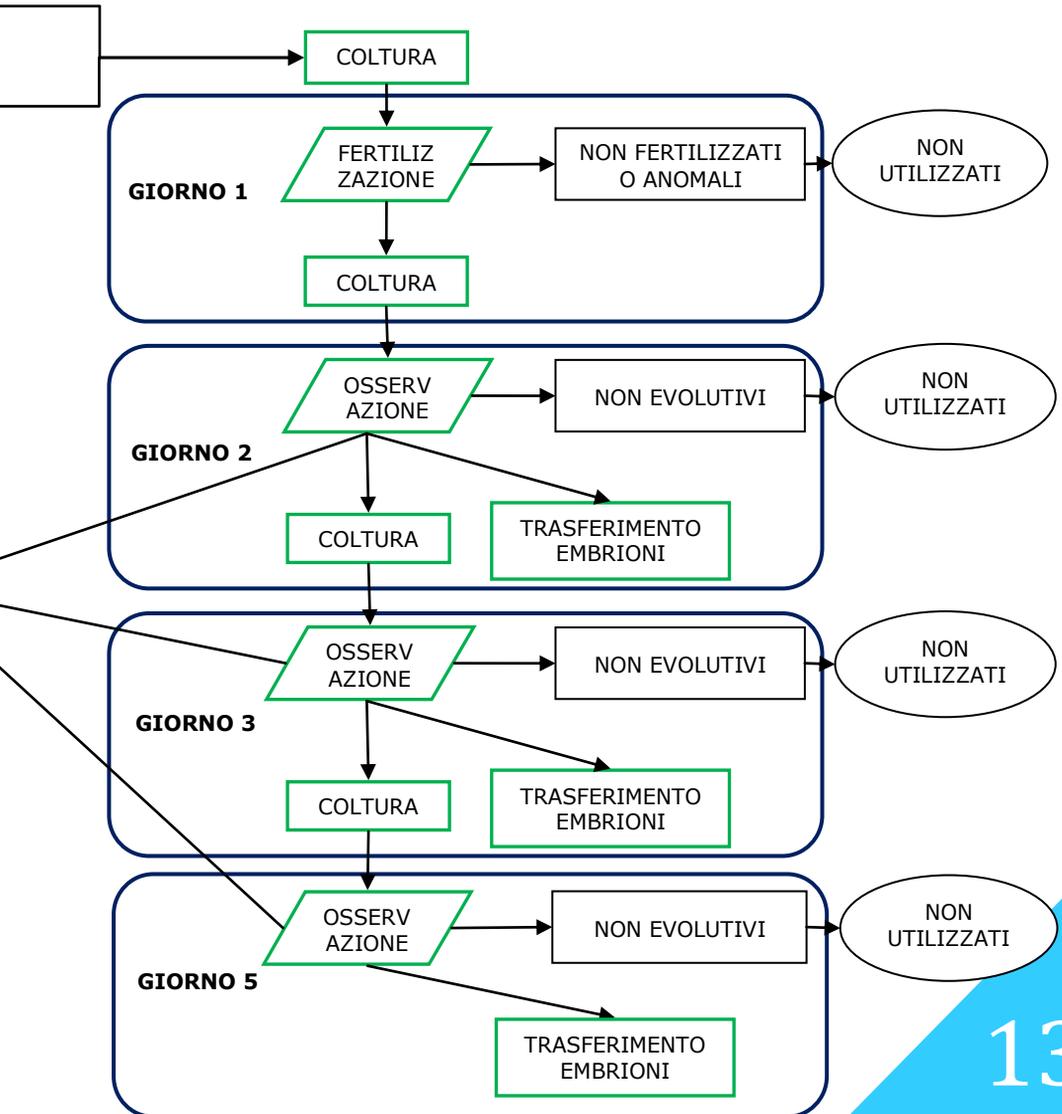


Figura 6: Percorsi di PMA



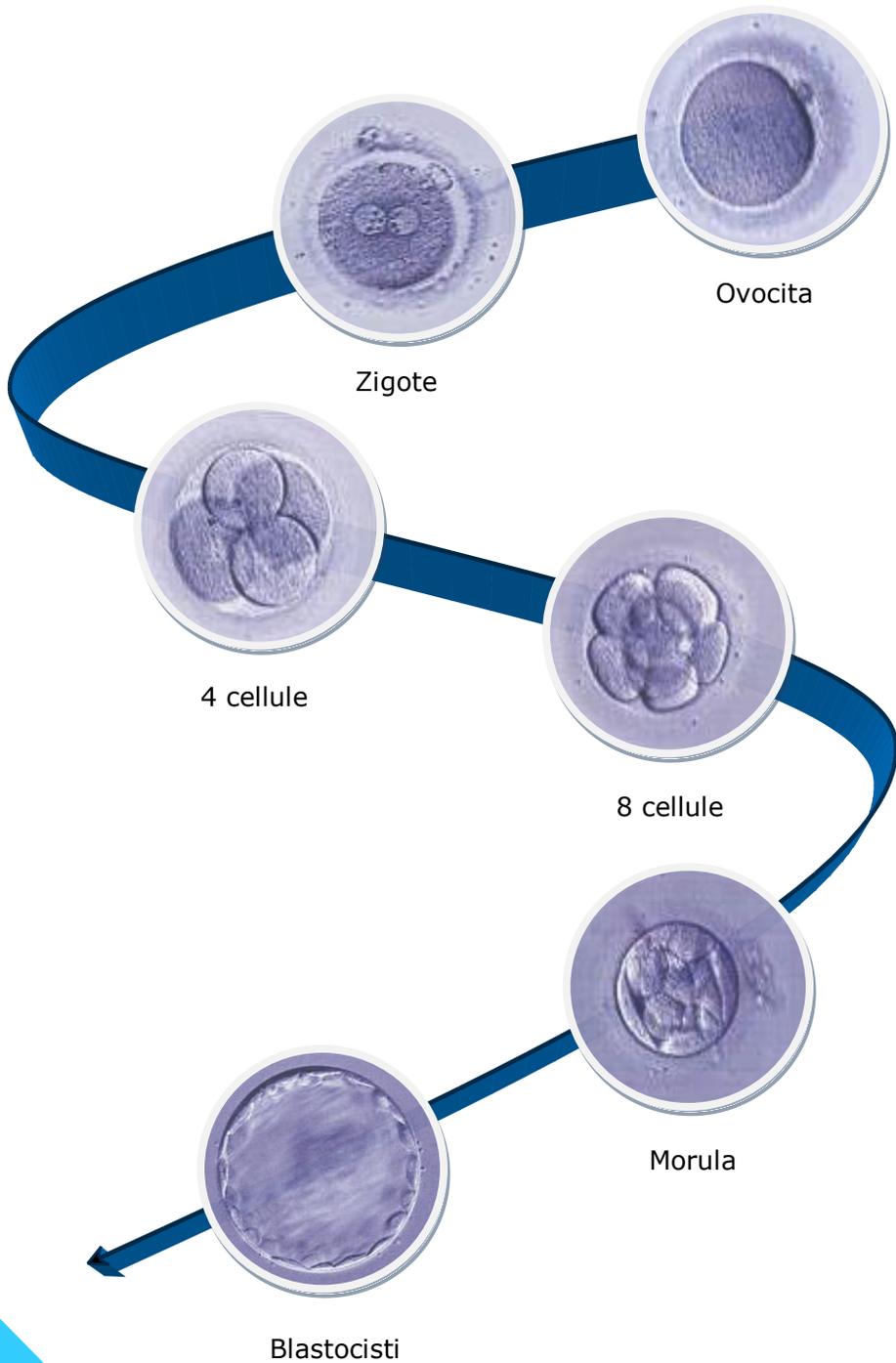


Figura 7: Evoluzione da ovocita a blastocisti

VOCABOLARIO

Analgesia: somministrazione di farmaci antidolorifici, senza perdita di coscienza della paziente.

Blastocisti: embrione che si forma a partire dal 4° giorno dopo la fecondazione. È lo stadio di sviluppo più avanzato ottenibile in vitro e corrisponde alla fase immediatamente precedente l'impianto.

Ecografo: strumento che, mediante ultrasuoni, permette di visualizzare su uno schermo gli organi interni; è quindi possibile evidenziare le ovaie con i rispettivi follicoli.

Embrione: è il primo stadio di sviluppo dell'organismo. Si forma con la fecondazione dell'ovocita da parte dello spermatozoo e, attraverso la segmentazione, raggiunge lo stadio di blastocisti.

Endometriosi: malattia nella quale vi è una crescita, in sede anomala, della mucosa che normalmente riveste la cavità uterina.

Fecondazione: penetrazione di uno spermatozoo all'interno dell'ovocita con fusione dei materiali genetici.

Follicolo: piccola cisti contenente l'ovocita che cresce sull'ovaio (può superare anche i 2 cm di diametro).

FSH: è una gonadotropina, ormone prodotto dall'ipofisi, che stimola la crescita del follicolo ovarico.

Gn-RH: è un prodotto dall'ipotalamo, centro di controllo del cervello, e stimola la produzione di gonadotropine da parte dell'ipofisi.

Gn-RH Agonista e Gn-RH Antagonista: ormoni sintetici che bloccano la produzione di gonadotropine, consentendo di prevenire l'ovulazione spontanea.

Gonadotropine: sono 2 ormoni (FSH-LH) che esplicano la loro azione sull'ovaio e sono prodotti dall'ipofisi, ghiandola endocrina situata nel cervello. Vengono impiegate per indurre

la crescita follicolare multipla.

Gonadotropina corionica (HCG): è un ormone prodotto dalla placenta. È anche usato per indurre l'ovulazione avendo azione simile all'ormone LH.

Inseminazione: la messa a contatto in laboratorio degli spermatozoi con gli ovociti.

Isteroscopia ed Isterosonografia: sono due metodi di valutazione della cavità uterina; il primo mediante visualizzazione diretta con l'isteroscopio (sottile strumento a fibre ottiche) ed il secondo mediante iniezione di soluzione fisiologica sterile nell'interno dell'utero sotto controllo ecografico.

LH: è una gonadotropina, ormone ipofisario, che aumenta a metà ciclo e provoca la rottura del follicolo quindi l'ovulazione.

Medium di coltura: liquidi ricchi di numerose sostanze che permettono la sopravvivenza delle cellule, quali gli spermatozoi o gli ovociti.

Monitoraggio ecografico: controllo della crescita follicolare mediante ecografie.

Ovocita: uovo, cellula riproduttiva della donna.

Ormoni: prodotti chimici delle ghiandole endocrine che circolano nel sangue e che esplicano la loro azione nei vari distretti del corpo.

Ovulazione: la fuoriuscita dell'ovocita dall'ovaio per rottura del follicolo.

Ovulazione spontanea: normale ovulazione avvenuta senza l'aiuto dei farmaci.

Ovulazione multipla: produzione di numerosi ovociti mediante somministrazione di ormoni.

Plasma seminale: liquido in gran parte prodotto dalla prostata, con il quale vengono eiaculati gli spermatozoi.

Seme: liquido che viene emesso durante l'orgasmo, è composto da spermatozoi e plasma seminale.

Spermatozoi: cellule riproduttive dell'uomo.

Trattamento del seme: tecnica, a volta chiamata "test di capacitazione" o "lavaggio del seme", che consiste nella separazione degli spermatozoi dal plasma seminale.