

Le tecniche di procreazione medicalmente assistita

Salvatore Dessole
Clinica Ostetrica e Ginecologica, Università di Sassari

Dopo il primo contributo, nel quale sono stati illustrati i dati principali del Registro Nazionale sulla Procreazione Medicalmente Assistita (PMA), il forum prosegue con un intervento dedicato alle tecniche impiegate, a un breve excursus storico del loro sviluppo e agli aspetti salienti e più critici della legge 40 del 2004. L'autore è Salvatore Dessole, ordinario di Clinica Ostetrica e Ginecologica dell'Università di Sassari, che vanta un'esperienza più che ventennale in questo campo e ha pubblicato oltre 100 lavori recensiti su PubMed. I commenti dei lettori sono i benvenuti e possono essere inviati collegandosi al sito di Quaderni (www.quaderniacp.it) e accedendo al link "forum", sezione "procreazione medicalmente assistita", oppure direttamente al mio indirizzo di posta elettronica (corchiacarlo@virgilio.it).

Carlo Corchia

Parole chiave Procreazione medicalmente assistita. PMA. Tecniche di riproduzione assistita

Introduzione

La sterilità è l'assenza di concepimento dopo 12-24 mesi di rapporti sessuali non protetti e mirati al conseguimento di una gravidanza. L'infertilità è l'incapacità di portare avanti un concepimento. Gli anglosassoni non differenziano le due condizioni e con il termine "infertility" intendono entrambe.

Questa condizione crea nella coppia e nel singolo individuo stress, sentimenti di frustrazione, disagio relazionale e difficoltà psicologiche. Dall'Organizzazione Mondiale della Sanità la salute viene definita come "stato di completo benessere fisico, psichico e sociale e non semplice assenza di malattia" ed è considerata come un diritto che spetta alle persone. La sterilità e l'infertilità vanno perciò ritenute uno stato di mancanza di salute. L'infertilità, secondo le diverse stime disponibili, riguarda circa il 15% delle coppie [1].

Le cause dell'infertilità, sia femminile che maschile, sono numerose e di diversa natura. Dai dati del Registro Nazionale sulla Procreazione Medicalmente Assistita (PMA) si ricava che l'infertilità maschile riguarda il 35,4% dei casi, quella femminile il 35,5%, quella maschile e femminile il 15%, l'infertilità idiopatica il 13,2% e altro l'1% [1]. Le cause strettamente mediche d'infertilità femminile sono: alterazione dell'ovulazione e ridotta riserva ovarica dipendente dall'età della donna, patologie infiammatorie pelviche, patologie tubariche, presenza di fibromi uterini, in particolare quelli

sottomucosi, e infine l'endometriosi, che appare sempre più frequente.

L'infertilità maschile riconosce tra le sue cause tutte quelle condizioni in grado di alterare la struttura e la funzione del testicolo o del pene, quali criptorchidismo, ipospadia, varicocele, patologie purtroppo in aumento. Il tumore al testicolo, in particolare, è sia un fattore di rischio in se stesso che in conseguenza del trattamento chemioterapico o radioterapico utilizzato (solo nel 40% dei casi viene recuperata la funzione riproduttiva). Sono presenti anche fattori genetici. Per esempio, si è ipotizzato che un'alterazione sul braccio lungo del cromosoma Y porti a un aumentato rischio di oligozoospermia. Meno frequenti sono le disfunzioni ormonali, mentre risultano in aumento, tra le cause che possono influenzare la fertilità maschile, le condizioni ambientali, lo stile di vita, incluso lo stress, e le condizioni lavorative che espongono a radiazioni, sostanze tossiche o a microtraumi.

Se la sterilità o l'infertilità permangono anche dopo un iter diagnostico e terapeutico esauriente, è possibile ricorrere alle tecniche di procreazione medicalmente assistita. La prima bambina nata da IVF (*In Vitro Fertilization*) fu Louise Brown, che nacque in Inghilterra il 25 luglio 1978 a opera di un grande ricercatore, Bob Edwards, insignito del Premio Nobel per la medicina (figura 1). Poco dopo, durante quegli stessi anni, altri ricercatori in Australia e negli Stati Uniti arrivarono al successo con la nascita di altri "bambini in provetta". Negli anni successivi l'uso della stimolazione ovarica per migliorare i risultati dell'IVF portarono al prelievo di numerosi ovociti e

conseguentemente alla creazione di molti embrioni. Per ridurre i rischi di gravidanze multiple che derivavano dal trasferimento in utero di numerosi embrioni e per evitare lo spreco degli embrioni soprannumerari, iniziò a svilupparsi la metodica del congelamento degli embrioni. Sempre in Inghilterra, e contemporaneamente in Australia negli anni 1983-1984, nacquero i primi bambini ottenuti da embrioni congelati. In Italia la prime nascite con il metodo IVF sono avvenute negli anni 1983-1984. Le prime tecniche che si svilupparono furono contemporaneamente la GIFT (*Gamete Intrafallopian Transfer* – trasferimento intratubarico di gameti) e la FIVET (*Fertilization In Vitro Embryo Transfer* – fecondazione in vitro con trasferimento di embrione). La differenza fra le due tecniche

FIGURA 1



Robert Geoffrey Edwards è stato un biologo britannico. Pioniere della FIVET, tecnica utilizzata nella procreazione assistita, nel 2010 ha vinto il Premio Nobel per la medicina "per lo sviluppo della fecondazione in vitro".

Per corrispondenza:
Salvatore Dessole
e-mail: dessole@uniss.it

forum

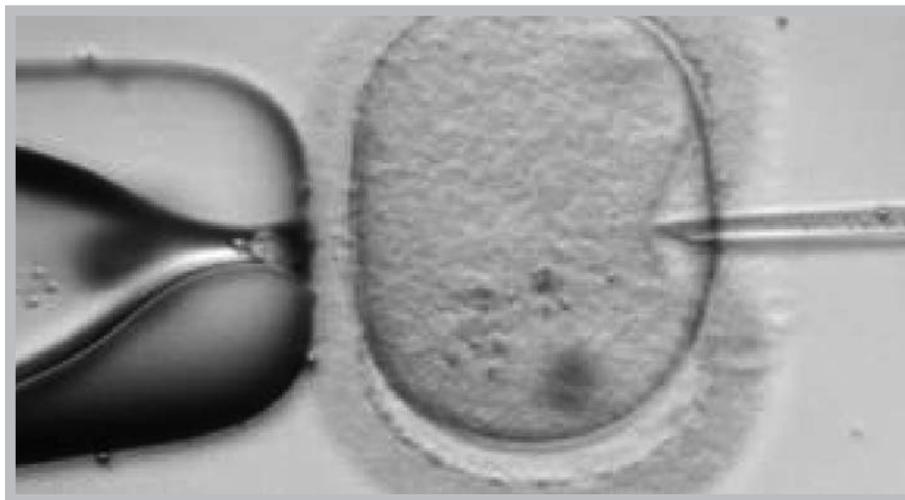
è che nella prima i gameti (spermatozoo e ovocita) vengono inseriti a livello tubarico dove procedono all'incontro e alla inseminazione *in loco*, mentre nella seconda tecnica l'inseminazione avviene in provetta e si trasferisce poi l'embrione direttamente nella cavità uterina.

Le tecniche

Le tecniche di PMA si dividono in tecniche di base o di I livello, semplici e poco invasive (rapporti mirati e inseminazione intrauterina), e in tecniche avanzate o di II e III livello, complesse e più invasive (FIVET, ICSI, IMSI).

Per inseminazione artificiale la maggior parte delle volte s'intende la inseminazione intrauterina, cioè una tecnica di PMA nella quale il liquido seminale viene introdotto con un piccolo catetere in polietilene all'interno della cavità uterina (IUI, inseminazione intrauterina). In questo tipo di inseminazione è necessaria una idonea preparazione del liquido seminale. Può essere consigliata in tutti i casi d'incompatibilità fra muco cervicale e liquido seminale e di sterilità immunologica, perché permette di superare il tratto cervicale e d'immettere gli spermatozoi direttamente in utero. In particolare può essere impiegata: in tutti i casi di sterilità inspiegata; nei casi d'infertilità maschile con oligoastenospemia di grado lieve-moderato; nei casi di ripetuti insuccessi nell'ottenere una gravidanza con sola stimolazione dell'ovulazione e rapporti mirati (rapporti che si hanno durante i giorni della probabile ovulazione, verificata mediante monitoraggio ecografico follicolare); nei casi di patologie sessuali nelle quali sia difficile o impossibile avere un rapporto sessuale completo [2]. Per effettuare una inseminazione intrauterina si può utilizzare anche l'induzione della crescita follicolare multipla; ovvero si prescrive una terapia ormonale atta a stimolare l'ovaio a far maturare più follicoli, e quindi ottenere più ovociti, durante lo stesso ciclo. Durante la stimolazione si esegue un monitoraggio ecografico e/o ormonale al fine di ridurre il rischio di avere gravidanze multiple e di andare incontro alla sindrome dell'iperstimolazione ovarica. Tale tecnica ha una percentuale di successo di gravidanze iniziate del 16-19%, con un tasso di gravidanze gemellari pari al 10%, trigemine dell'1% e multiple dello 0%. Gli

FIGURA 2: ICSI, INIEZIONE INTRACITOPLASMATICA DI SPERMATOZOO



esiti negativi di gravidanza (aborti spontanei, aborti volontari, morti intrauterine, gravidanze ectopiche) sono il 20,5% [1]. La FIVET, come la ICSI, è una metodica di PMA di II livello in cui l'incontro dei gameti (ovocita e spermatozoo) avviene all'esterno del corpo della donna. Dopo la fecondazione e l'ottenimento di embrioni in laboratorio si procede al trasferimento in utero di uno o più embrioni. La FIVET è consigliata nei casi di sterilità dovuta a: fattori tubo-peritoneali, patologia tubarica acquisita o congenita (precedente gravidanza ectopica, precedenti aborti tubarici, anamnesi positiva per flogosi pelvica, interventi chirurgici sulla pelvi); infertilità maschile di grado moderato, quando precedenti trattamenti o inseminazioni intrauterine non hanno dato risultati o sono stati giudicati non appropriati; endometriosi di III o IV grado; infertilità inspiegata. La ICSI (iniezione intracitoplasmatica di spermatozoo) si diversifica dalla FIVET per la differente modalità di fecondazione dell'ovocita; essa prevede l'iniezione di un singolo spermatozoo all'interno del citoplasma dell'ovocita (figura 2). Tale tecnica viene utilizzata nei casi di: infertilità maschile di grado severo; azoospermia ostruttiva e secretiva (spermatozoi testicolari o epididimari); mancata o ridotta fertilizzazione in precedenti cicli di fertilizzazione in vitro (FIV); ovociti scongelati; ridotto numero di ovociti; seme crioconservato (in relazione alla qualità seminale successiva allo scongelamento).

Le tecniche di II livello possono essere eseguite in un ciclo spontaneo o con induzione della crescita follicolare multipla e maturazione di più ovociti mediante la somministrazione di farmaci induttori dell'ovulazione; in questo caso si controlla la risposta ovarica a tale terapia mediante monitoraggio ecografico e/o dosaggio degli ormoni prodotti, in particolare dell'estradiolo.

Tecnicamente, dopo aver stimolato l'ovaio a produrre più follicoli e quindi aver ottenuto più ovociti, quando si ritiene che questi siano maturi, si esegue il prelievo degli stessi (PICK-UP). Questo PICK-UP consiste in un prelievo ovocitario con l'inserimento in addome di un lungo ago per via transvaginale, sotto guida ecografica, in anestesia locale e/o sedazione profonda, che va a pungere tutti i follicoli facilmente raggiungibili. Il liquido follicolare aspirato viene raccolto in provette che vengono avviate in laboratorio dove sono controllati numero e qualità degli ovociti. Nel frattempo viene eseguita la preparazione del liquido seminale, con il quale sono messi a contatto gli ovociti selezionati per la fecondazione. Si procede quindi, in incubatore, alla coltura extracorporea e dopo verifica dell'avvenuta fecondazione si prosegue al trasferimento in utero degli embrioni. Il tasso di gravidanze singole ottenute tramite tecniche di PMA su ciclo a fresco è pari al 27,2%, quello di gravidanze gemellari al 20,2%, quello di gravidanze trigemine o quaduple al 2,3% per transfer. La percentuale di gravidanza per

transfer eseguito è del 18,7% per cicli con embrioni crioconservati e del 17,1% circa per cicli con ovociti crioconservati. Per quel che riguarda le gravidanze gemellari e trigemine le percentuali sono rispettivamente: 17,2% con embrioni e 9,3% con ovociti, e 1,4% con embrioni e 0,9% con ovociti.

Gli esiti negativi (aborti spontanei precoci e tardivi, gravidanze ectopiche, morti intrauterine) sulle gravidanze monitorate dopo impiego di tecniche di scongelamento sono il 29,4% (con embrioni) e il 31,6% (con ovociti) [1].

Nei casi di azoospermia, ovvero mancanza di spermatozoi nel liquido seminale, si possono utilizzare per il prelievo degli spermatozoi le seguenti procedure: Aspirazione Percutanea di Spermatozoi per via Testicolare (TESA), Estrazione di Spermatozoi per via Testicolare (TESE), Aspirazione Microchirurgica di Spermatozoi dall'Epididimo (MESA), Aspirazione Percutanea di Spermatozoi dall'Epididimo (PESA). Successivamente si effettuano la preparazione dell'ovocita e la microiniezione intracitoplasmatica di un singolo spermatozoo. Dopo la verifica dell'avvenuta fecondazione di ciascun ovocita si prosegue con il trasferimento in utero degli embrioni.

Le prime tecniche di micromanipolazione dei gameti risalgono alla fine degli anni '90. La prima grande esperienza con la tecnica IMSI (*Intracytoplasmic Morphologically selected Sperm Injection*) negli Stati Uniti è stata pubblicata da Joseph D. Schulman e colleghi del Genetics & IVF Institute nel 1995. La IMSI è una tecnica che consente la selezione ad altissimo ingrandimento degli spermatozoi. Normalmente gli spermatozoi vengono selezionati al microscopio con un ingrandimento di 400 volte. Con la IMSI tale ingrandimento arriva a 6600 volte. Per la scelta dello spermatozoo con migliore morfologia vengono applicati i criteri della metodica denominata MSOME (*Motile Sperm Organellar Morphological Examination*) [3]. Le caratteristiche del nucleo sono particolarmente critiche per il processo di fecondazione; esso deve essere liscio, ovale, simmetrico, con una struttura cromatinica omogenea e non deve presentare vacuoli con un'area superiore al 4% di quella del nucleo stesso. Numerose pubblicazioni indicano che questa selezione

spermatica può dare un notevole contributo alla riuscita delle tecniche ICSI aumentando le probabilità di successo. Questa tecnica si è dimostrata utile soprattutto in quelle coppie che hanno avuto ripetuti fallimenti con la tecnica ICSI; inoltre è consigliata nei casi di severa oligoastenoteratozoospermia e un alto tasso di frammentazione del DNA spermatico [4].

La legge 40 e i successivi pronunciamenti di legittimità

La legge definisce la procreazione assistita come l'insieme degli artifici medico-chirurgici finalizzati a «favorire la soluzione dei problemi riproduttivi derivanti dalla sterilità o dall'infertilità umana... qualora non vi siano altri metodi efficaci per rimuovere le cause di sterilità o d'infertilità» [5].

Tale concetto rimane volutamente ambiguo, al fine di comprendere metodiche innovative di là da venire; ma proprio questa ambiguità comporta conseguenze importanti, come per esempio il permettere o meno di usufruire della copertura economica da parte del Servizio Sanitario Nazionale. All'articolo 2, poi, si afferma che lo Stato promuove «ricerche sulle cause patologiche, psicologiche, ambientali e sociali dei fenomeni della sterilità e dell'infertilità» e favorisce «gli interventi necessari per rimuoverle nonché per ridurre l'incidenza», ma nel rispetto di «tutti i soggetti coinvolti, compreso il concepito». Alle tecniche di procreazione assistita possono accedere «coppie maggiorenni di sesso diverso, coniugate o conviventi, in età potenzialmente fertile, entrambi viventi». È vietato il ricorso a tecniche di fecondazione eterologa. È vietata l'eugenetica. L'articolo 14 vieta la crioconservazione degli embrioni, che è però consentita per temporanea e documentata causa di forza maggiore, non prevedibile al momento della fecondazione. Il 1° aprile 2009, i commi 2 e 3 dell'articolo 14 sono stati dichiarati parzialmente illegittimi con la sentenza n. 151 della Corte Costituzionale. In particolare, il comma 2 è stato dichiarato illegittimo laddove prevede un limite di produzione di embrioni «comunque non superiore a tre» e laddove prevede l'obbligo di «un unico e contemporaneo impianto». Il comma 3, che prevede di poter crioconservare gli

embrioni «qualora il trasferimento nell'utero degli embrioni non risulti possibile per grave e documentata causa di forza maggiore relativa allo stato di salute della donna non prevedibile al momento della fecondazione», è stato dichiarato illegittimo nella parte in cui non prevede che il trasferimento di tali embrioni, «da realizzare non appena possibile», debba essere effettuato anche senza pregiudizio per la salute della donna. Precedentemente alla Sentenza della Corte Costituzionale, il TAR Lazio, con sentenza 398/08 (nella quale venivano sollevate le questioni di legittimità poi accolte dalla Corte Costituzionale), dichiarava anche illegittimo il divieto di diagnosi preimpianto previsto dalle Linee Guida ministeriali (adottate con D.M. 21/7/2004) a meno che tale tecnica non avesse carattere sperimentale ovvero specifica finalità eugenetica (nel senso che la tecnica fosse rivolta alla selezione razziale). Il 28 agosto 2012 la Corte europea dei diritti umani ha bocciato la legge in merito all'impossibilità per una coppia fertile, ma portatrice di una malattia genetica, di accedere alla diagnosi preimpianto degli embrioni. Il Governo Monti ha chiesto, il 28 novembre 2012, il riesame della sentenza presso la Grande Chambre. L'11 febbraio 2013 il ricorso del Governo è stato bocciato dalla Corte. Nel 2007 il Tribunale di Cagliari ha autorizzato la diagnosi preimpianto nel settore pubblico. Con un'altra sentenza, nel novembre 2012, sempre il Tribunale di Cagliari ha imposto all'azienda sanitaria locale di eseguire la diagnosi preimpianto per una coppia portatrice di malattie genetiche. ♦

Bibliografia

- [1] Relazione del Ministro della Salute al Parlamento sullo stato di attuazione della legge contenente norme in materia di procreazione medicalmente assistita, 2012 (legge 19 febbraio 2004, n. 40).
- [2] Nicopoullos JD, Croucher CA. Audit of primary care and initial secondary care investigations set against RCOG guidelines as standard in cases of subfertility. *J Obstet Gynaecol* 2003;23:397-401.
- [3] Antinori M, Licata E, Dani G, et al. Intracytoplasmic morphologically selected sperm injection: a prospective randomized trial. *Reprod Biomed Online* 2008;16(6):835-41.
- [4] Cavallini G. Male idiopathic oligoasthenoteratozoospermia. *Asian J Androl* 2006;8(2):143-57.
- [5] Legge 40/2004.