



Renzo Puccetti

Carpi, 1 Dicembre 2011

**Pratiche di fecondazione assistita e
ricerca sull'embrione umano**



I FIGLI NON ARRIVANO !

Sterilità e infertilità

ITALIA

Sterilità = incapacità di concepire dopo 1 o 2 anni (OMS) di rapporti senza uso di contraccettivi

Infertilità = incapacità a portare a termine una gravidanza con nascita di feto vivo e vitale

INTERNAZIONALMENTE

Infertility = incapacità di concepire dopo 1 o 2 anni (OMS) di rapporti senza uso di contraccettivi

Sterility = presenza di una condizione fisica in uno o entrambi i coniugi che non rende possibile il concepimento

STERILITA' = INFERTILITA'

Incidenza della sterilità/infertilità

- Sterilità/infertilità primaria 15% totale coppie coniugate
 - Sterilità/infertilità secondaria 35% totale coppie coniugate
- Le stime dell' OMS evidenziano la presenza di 60-80 milioni di coppie infertili nel mondo.

Cause di infertilità

Figura 3.4.: Distribuzione delle coppie trattate con Inseminazione Semplice, secondo le cause di infertilità. Anno 2009. (in parentesi è espresso il numero di coppie in valore assoluto).
Totale Pazienti: 20.315

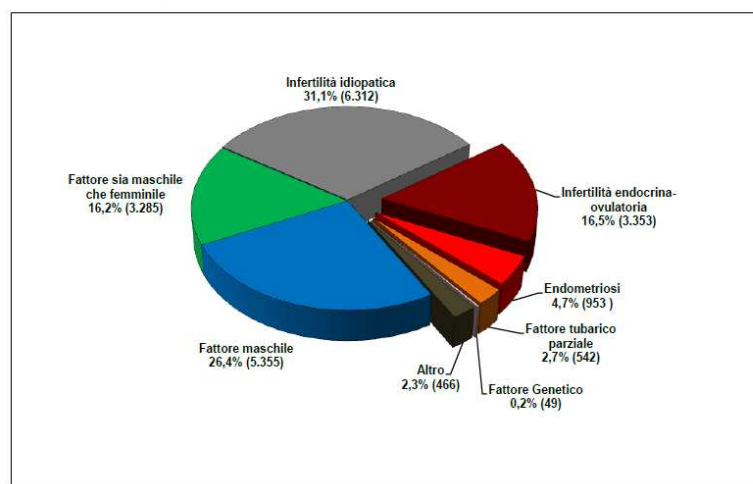
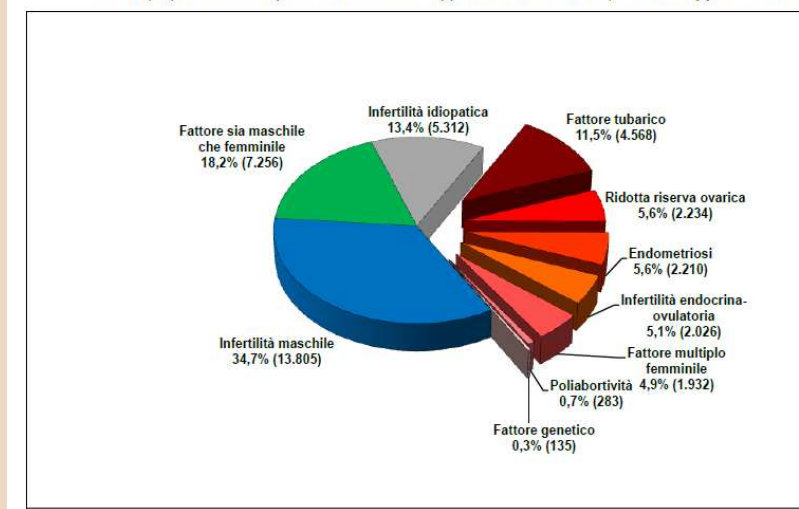


Figura 3.7: Distribuzione delle coppie trattate con cicli a fresco, secondo le cause di infertilità - anno 2009. (In parentesi è espresso il numero di coppie in valore assoluto) Totale Coppie: 39.761



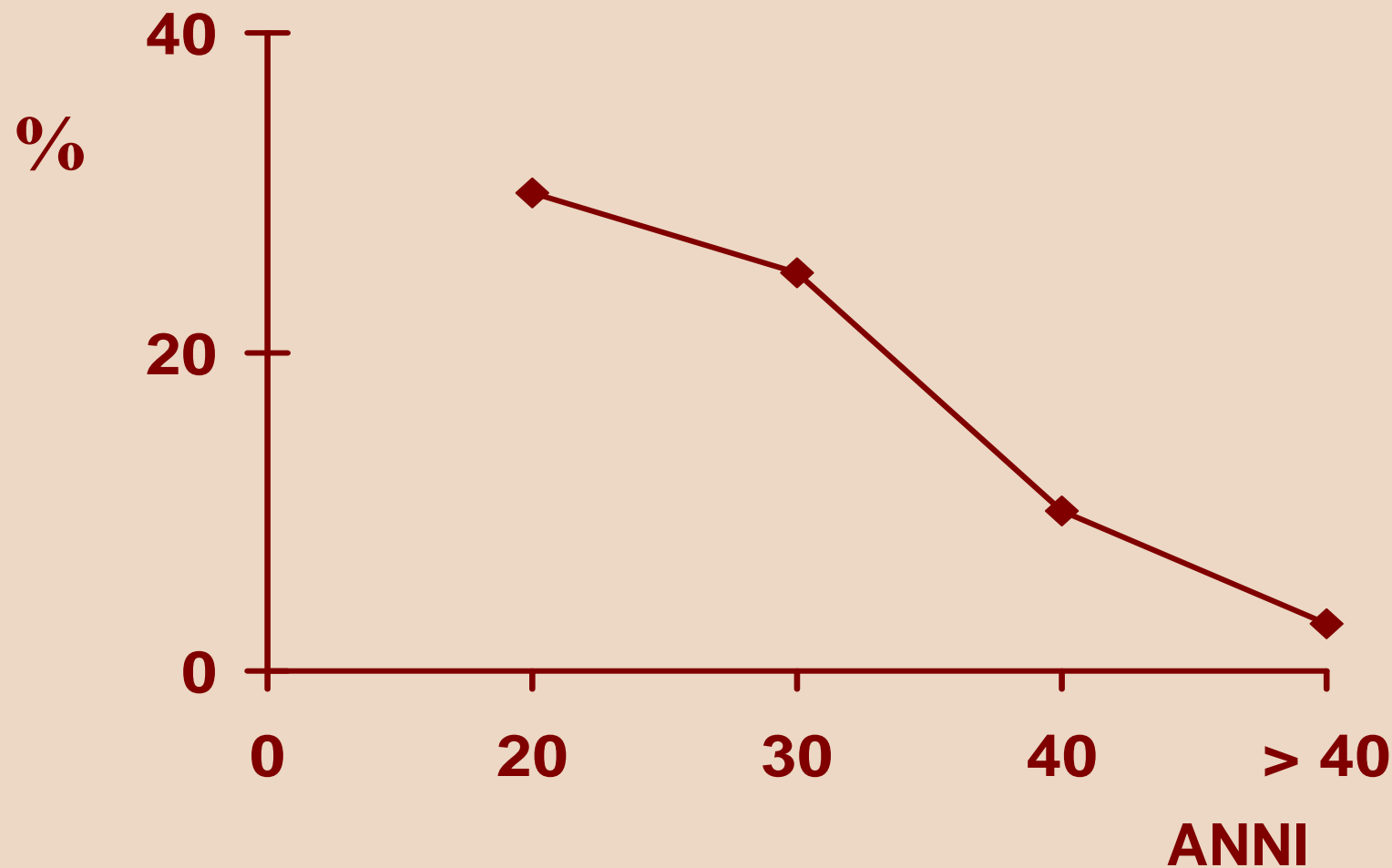
TREND

- L'incidenza di infertilità nelle coppie è aumentata nei paesi industrializzati dal 7-8% negli anni '60 al 20-30% attuale.

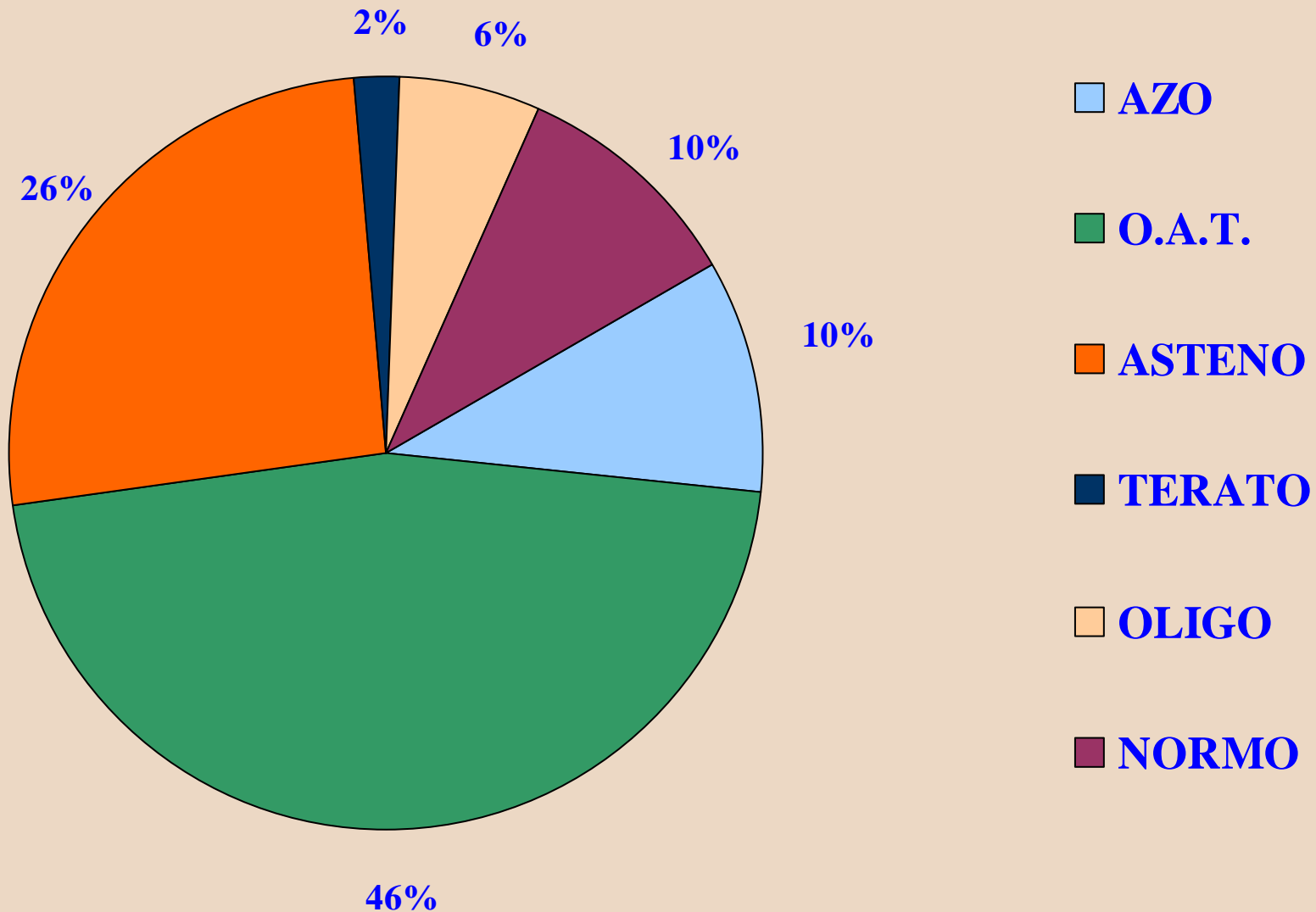
Cause dell'aumento delle coppie infertili negli anni '80-'90

- Ritardo nel programmare la gravidanza (aumento nel tempo di esposizione a fattori ambientali e legati all'età)
- Intervallo di tempo più breve in cui le coppie condensano il loro desiderio di gravidanza
- Stili di vita
- ↑malattie sessualmente trasmesse-↑donne in carriera- ↑dell'inquinamento ambientale esogeno o endogeno-
- ↑IUD
- ↑IVG

% di gravidanze per ciclo mestruale in relazione all'età della donna



CASISTICA ANDROLOGICA: DIAGNOSI SEMINOLOGICA



INFERTILITA' REAZIONE PSICOLOGICA





Stress Emozionale

**Alterazione
Funzioni Biologiche
Equilibrio endocrino
Capacità Sessuali**

Variabili che incidono sugli effetti psicologici

- Durata infertilità
- Procedure diagnostiche
- Sesso dei soggetti
- Chi è “il colpevole”
- Tipo di diagnosi e prognosi

Donne

- Ansia
- Disagio sessuale
- Ridotta autostima
- Depressione
- Rabbia

Hjelmstedt A, Andersson L, Skoog-Svanberg A, Bergh T, Boivin J, Collins A. Gender differences in psychological reactions to infertility among couples seeking IVF- and ICSI-treatment. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 1999;78(1):42-8.

Uomini

- Ansia
- Depressione
- Senso di impotenza



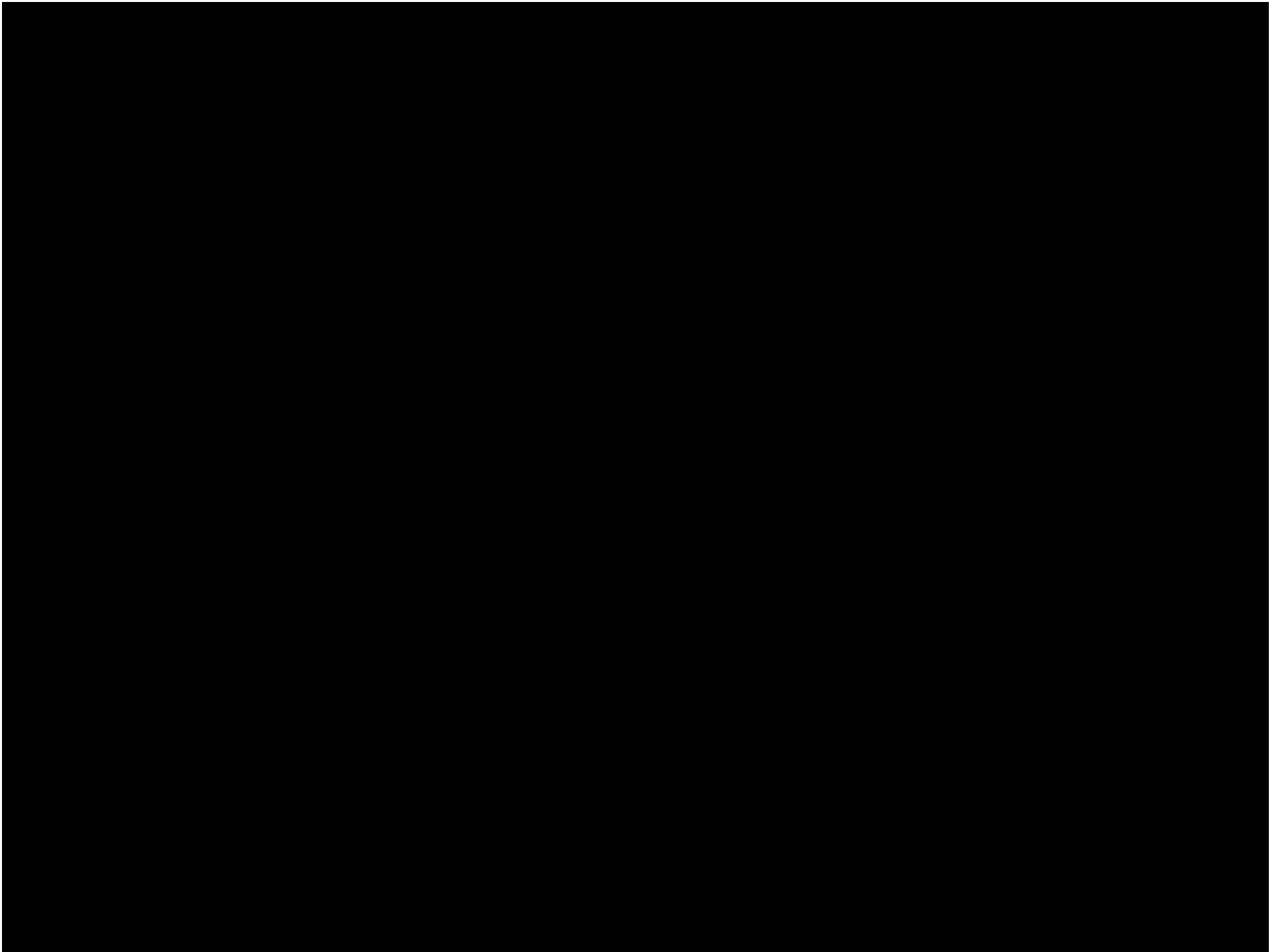
- Attività sessuale frenetica/promiscua

Conolly, 1992

Verhaak CM et al. Ned Tijdschr Geneeskd 2002 Dec 7; 146(49): 2363-6

Coppia

- **Deterioramento rapporto sessuale**
 - Maggiore/minore frequenza
 - Perdita della spontaneità
 - Calo desiderio
 - Difficoltà orgasmica
 - azoospermia
- **Reazioni di difesa**
 - aggressività verso l'esterno
 - negazione
 - perdita della propria identità



ART

Artificial Reproductive Technology



P.M.A (Linee Guida-art. 7, Legge 40/2004)

Tecniche di I° livello:

- Inseminazione sopracervicale in ciclo naturale o dopo induzione della crescita follicolare multipla, eseguita utilizzando tecniche di preparazione del liquido seminale;
- Eventuale crioconservazione dei gameti maschili.

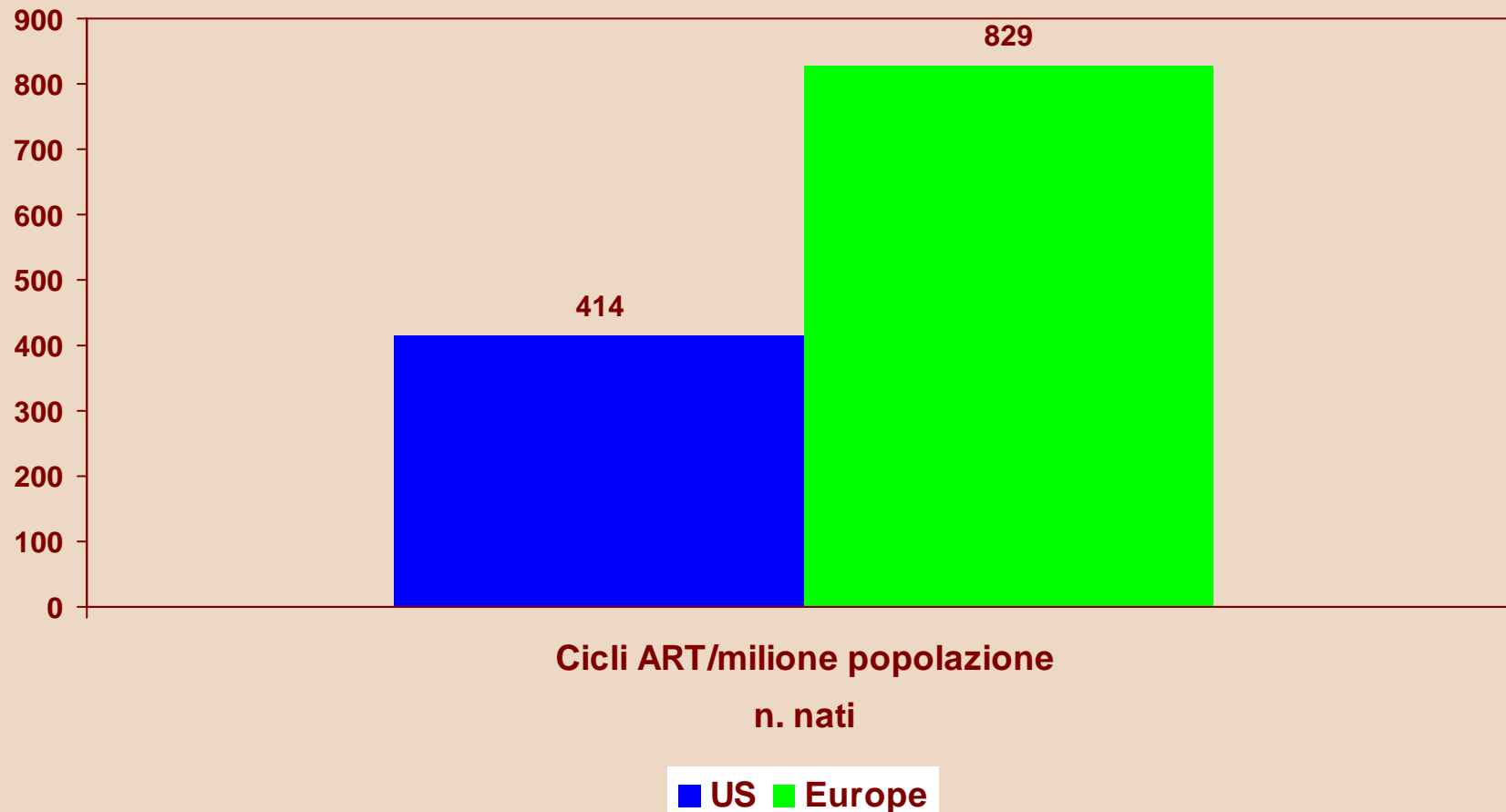
Tecniche di II° livello (procedure eseguibili in anestesia locale e/o sedazione profonda):

- **FIVET;**
- **ICSI;**
- Prelievo testicolare dei gameti (prelievo percutaneo o aspirazione testicolare);
- Eventuale crioconservazione di gameti ed embrioni (nei limiti delle normative vigenti);
- Trasferimento intratubarico dei gameti (GIFT), zigoti (ZIFT) o embrioni (TET) per via transvaginale ecoguidata o isteroscopica.

Tecniche di III° livello (procedure che necessitano di anestesia generale con intubazione):

- Prelievo microchirurgico di gameti dal testicolo;
- Prelievo degli ovociti per via laparoscopica;
- GIFT, ZIFT, TET per via laparoscopica.

Ricorso alla ART US vs. Europa



Gleicher N, et al.

A formal comparison of the practice of assisted reproductive technologies between Europe and the USA.

Human Reproduction Vol.21, No.8 pp. 1945–1950, 2006

Analisi preliminari

- **Per la donna:**

gruppo sanguigno
cariotipo
G6PDH
screening della fibrosi cistica
elettroforesi dell'emoglobina
VDRL (e TPHA)
HCV (cioè epatite C) e markers epatite
B
HIV
ecografia pelvica
(ecografia al seno)
(dosaggi ormonali)
pap-test
tampone vaginale con ricerca di
clamidia, micoplasma e tricomonas
anticorpi per rosolia, toxoplasmosi,
citomegalovirus, herpes

- **Per l'uomo:**

gruppo sanguigno
cariotipo
G6PDH
screening della fibrosi cistica
elettroforesi dell'emoglobina
VDRL (e TPHA)
HCV (cioè epatite C) e markers epatite
B
HIV
spermioγραμμα
(tampone uretrale)

Analisi preanestesia per la donna: emocromo completo, VES, tempo di Quick, PT-PTT, transaminasi, glicemia, (trigliceridi), (NA e K), (gamma GT), (sideremia, ferritina, transferrina), elettrocardiogramma

La soppressione

- Consiste nel sopprimere l'attività dell'ipofisi e quindi impedire l'ovulazione naturale che impedirebbe di poter prelevare gli ovociti
- FARMACI:
 - Analoghi del GnRh
 - » Somministrazione spray endonasale due o tre volte al giorno.
 - » Somministrazione giornaliera mediante iniezione sottocutanea.
 - » Somministrazione “long-acting”, per via intramuscolare e/o sottocutanea a lento rilascio nel tempo.
 - Antagonisti del GnRh

La stimolazione (farmaci)

- **Gonadotropine Follicolostimolanti:** di derivazione estrattiva o da tecnica DNA ricombinante. Farmaci con solo FSH e farmaci con anche LH
- **Gonadotropina corionica:** Quando i follicoli hanno raggiunto un buon grado di sviluppo, si somministra una dose (in genere 10.000 UI) che porta i follicoli alla maturazione finale. Poiché l'ovulazione avviene circa 36 ore dopo l'assunzione di HCG, il prelievo degli ovociti si esegue entro 36 ore dall'iniezione.

I protocolli

- **PROTOCOLLI LUNGHI**
 - unica somministrazione il 21° giorno del ciclo mestruale
- **PROTOCOLLI BREVI o flare-up**
 - la somministrazione inizia contemporaneamente a quella di gonadotropine e dura sino al giorno dell' HCG
- **PROTOCOLLI ULTRA-BREVI**
 - prevedono la somministrazione dell' analogo negli ultimi tre giorni della fase follicolare precoce.

Il monitoraggio

- Viene eseguito tramite ecografie e dosaggi del 17-beta-estradiolo (ormone il cui aumento va di pari passo con lo sviluppo dei follicoli).

Il monitoraggio serve a valutare l'efficacia della stimolazione e per controllare l'eventuale insorgenza di una **iperstimolazione ovarica**, che è la più pericolosa complicanza di una FIVET. Di solito il monitoraggio inizia dopo 5-6 giorni di stimolazione e prosegue poi a giorni alterni o quotidianamente.

In linea generale una buona risposta alla stimolazione potrebbe consistere nel vedere 10 follicoli di almeno 20 mm di diametro, con un valore di estradiolo di circa 2000 pmol/l (ci si aspetta di trovare circa 200 pmol/l di estradiolo per ciascun follicolo maturo).

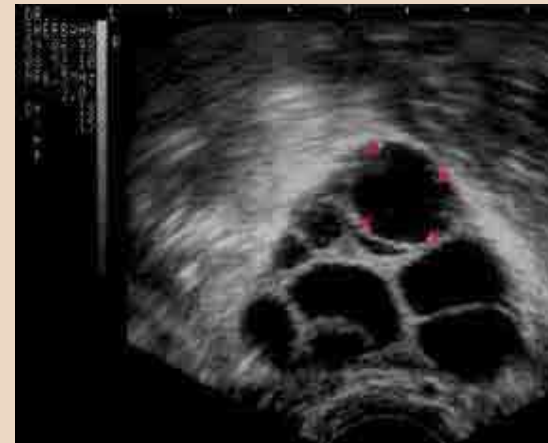


Immagine ecografica di un'ovaia durante la stimolazione. Sono visibili vari follicoli, che appaiono come palline nere. I punti rossi evidenziano un follicolo maturo, di 17 mm di diametro.

Il prelievo

- Il prelievo degli ovociti o pick-up consiste nel prelevare gli ovociti da dentro i follicoli in modo da poterli poi fecondare in vitro.

Si inserisce un ago sottilissimo nella parete della vagina e, sotto la guida delle immagini ecografiche, si raggiungono i follicoli e si aspira il liquido che contengono. Il liquido follicolare, nel quale "nuota" l'ovocita, viene raccolto in una provetta e inviato subito in laboratorio, dove viene controllato al microscopio per cercare gli ovociti (invisibili a occhio nudo).

- Il pick-up può essere fatto in anestesia locale o in sedazione generale.. L'anestesia locale non elimina il dolore durante la procedura. Con la sedazione generale, invece, il pick-up è del tutto indolore. Lo svantaggio è che servono analisi preanestesia aggiuntive e che ci sono più rischi di complicanze dovute all'anestesia.



Criteria di selezione ovocitaria (Legge 40/2004)

- Valutazione del grado di vascolarizzazione follicolare mediante eco-Doppler
- Valutazione morfologica della qualità ovocitaria
- Valutazione morfologica del fuso meiotico
- Analisi cromosomica del primo globulo polare.

PARAMETRI DI VALUTAZIONE DELLA QUALITA' OVOCITARIA

- Maturità nucleare
- Struttura citoplasmatica
- Struttura e disposizione delle cellule del cumulo ooforo e della granulosa



Classificazione di Veeck (1991)

	Profase I	Metafase I	Metafase II	Post-maturo
Vescicola germinale	Visibile	Assente	Assente	-
Globulo polare	Assente	Assente	I globulo polare	-
Citoplasma	Assente	Assente	I globulo polare	degenerato

Il fuso meiotico

- E' una struttura dinamica sul cui piano equatoriale sono disposti i cromosomi, è costituita da microtubuli ed è localizzata alla periferia ovocitaria;
- E' responsabile della corretta segregazione cromosomica dopo l'attivazione ovocitaria e la sua integrità è necessaria per la sequenza di eventi che portano al completamento della meiosi e della fecondazione;
- E' altamente sensibile a modificazioni chimico-fisiche che si possono verificare durante la manipolazione ovocitaria. Parametri fisiologici come l'età materna avanzata sono associati ad una alterazione della sua struttura.

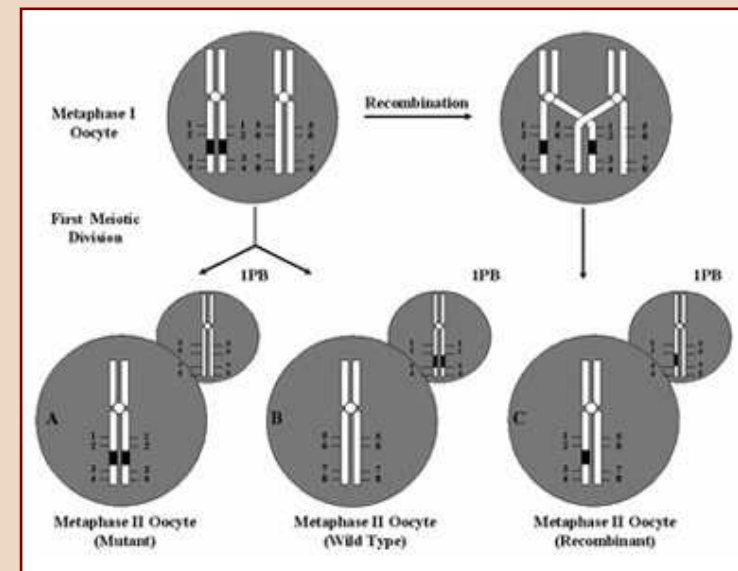
Analisi morfologica del fuso meiotico

- L'integrità del fuso meiotico negli ovociti MII è di cruciale importanza per una normale fecondazione ed un corretto sviluppo embrionario.
- A tale scopo è stato di recente introdotto un microscopio a luce polarizzata (Polscopio) equipaggiato con un software processore di immagini che permette una valutazione non invasiva del fuso meiotico sfruttando la sua birifrangenza.

Analisi cromosomica del I° globulo polare

- Si basa sul principio che il I° globulo polare costituisce un'immagine speculare dell'ovocita e pertanto la presenza, ad esempio, di un cromosoma in eccesso implica la sua assenza dall'ovocita con formazione, in caso di avvenuta fecondazione, di un embrione monosomico per il cromosoma in questione;

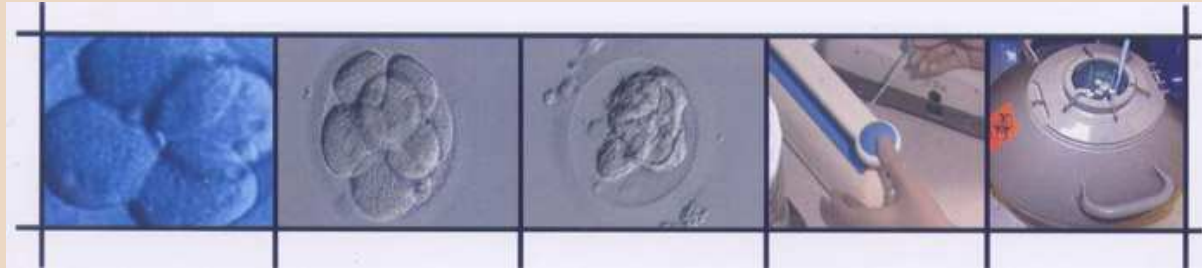
Presenta notevoli vantaggi dal punto di vista etico, morale e religioso;
Presenta importanti limiti.



Crioconservazione degli oociti

- Vengono utilizzati: oociti maturi (metafase II); oociti immaturi (profase I); tessuto corticale ovarico.
- E' condizionata dalla metodica a causa di danni alle strutture biologiche della cellula (formazione di cristalli di ghiaccio) da cui la necessità di aggiungere crioprotettori.
- I possibili danni sono da congelamento e uso di crioprotettori: fratture meccaniche, lesioni o prematuro indurimento della zona pellucida; collasso delle strutture intracellulari e lisi della ovocellula; danni funzionali a citoscheletro, fuso mitotico e granuli corticali dell'oocita; attivazione partenogenetica delle ovocellule (divisione senza fecondazione).

Crioconservazione degli oociti



- Migliori risultati con la “vitrificazione” (transizione rapida nello stato solido senza formazione di un’organizzazione cristallina per raffreddamento rapido).
- Risultati: 2% - 5%. gravidanze a termine su totale cellule uovo scongelate
- Proposta di congelamento di embrioni 2PN (18-20 ore dopo la fecondazione e l’espulsione del secondo globulo polare)

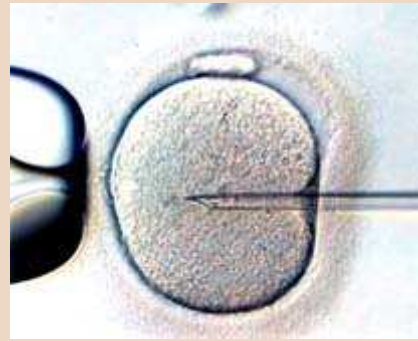
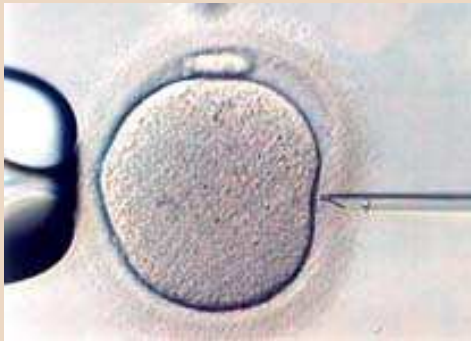
La fecondazione

- Le percentuali di fecondazione non è mai il 100%: nelle donne più giovani la percentuale può essere dell'80%, ma in media è del 60% e, nelle donne meno giovani, può non superare il 30%.

FIVET

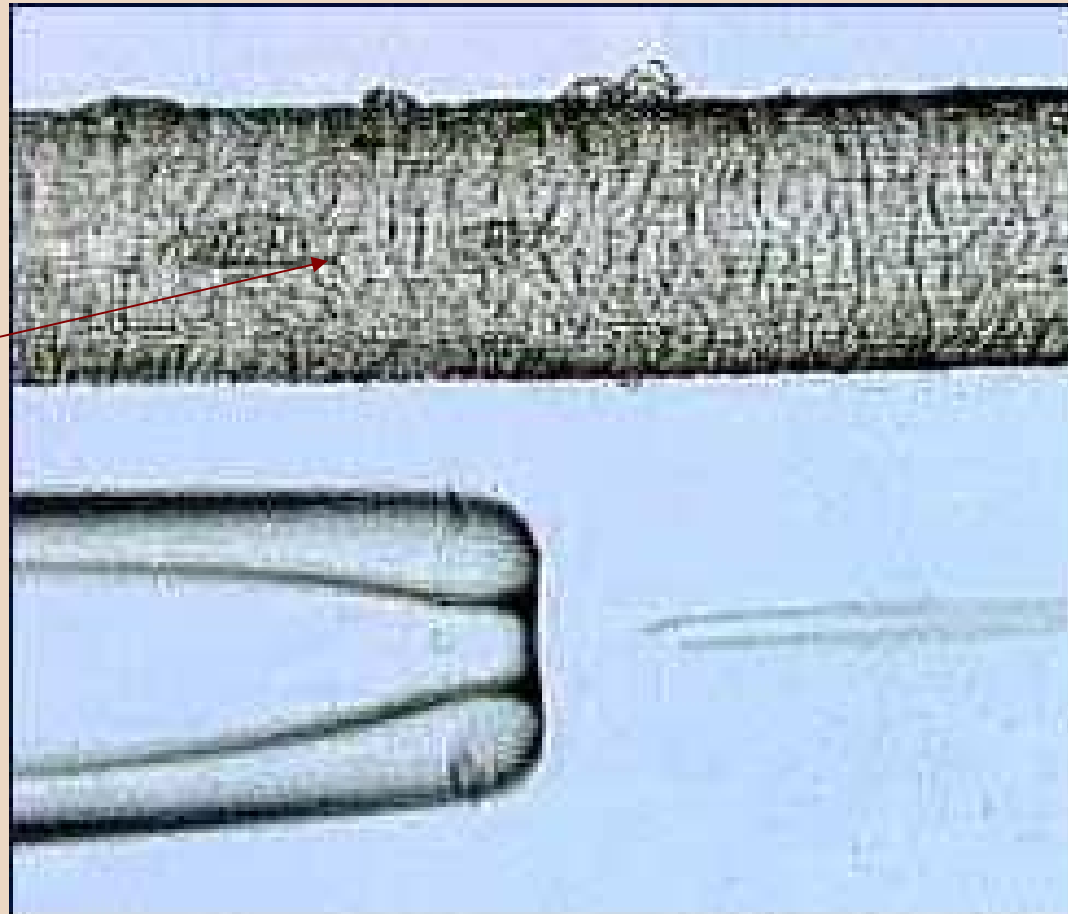


ICSI



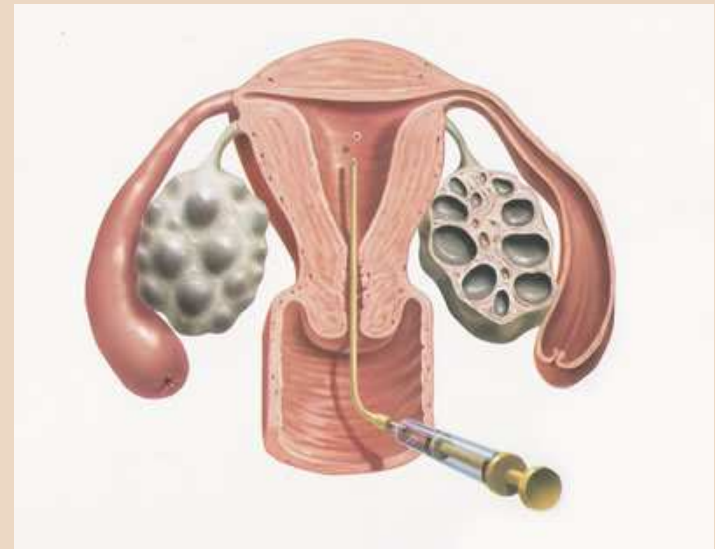
Le dimensioni degli strumenti

Capello



Il trasferimento

Gli embrioni vengono aspirati, insieme a una piccola quantità di liquido di coltura, in un sottile catetere, che viene inserito nel canale cervicale fino ad arrivare nell'utero, dove gli embrioni vengono depositati sull'endometrio.



Momento del Trasferimento

- **Embrioni (2-3 giorni)**
- **Blastocisti (5 giorni)**
 - Vantaggi:
 - Breve attesa prima dell'annidamento
 - Selezione pre-transfer degli embrioni qualitativamente migliori
→ meno embrioni trasferiti
 - Svantaggi:
 - Maggiore rischio di perdita embrionale se tecnica sub-ottimale



Selezione degli embrioni

CRITERI di SELEZIONE EMBRIONARIA

✓ **Parametri morfologici:**

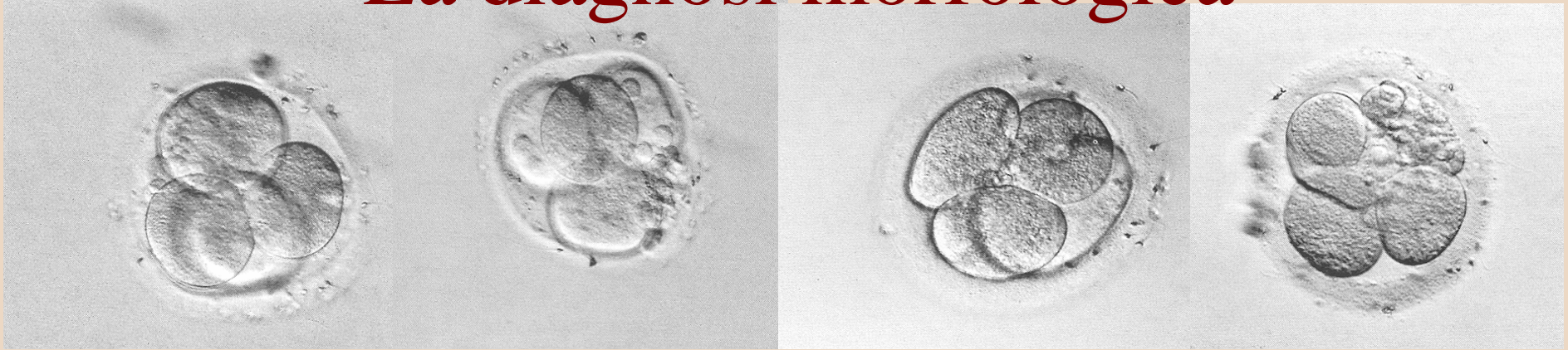
- *“Scoring” dei pronuclei: lo “Z-Score System”*
- *“Scoring” degli embrioni al giorno 2: valutazione della morfologia dei blastomeri, della presenza o meno di frammenti citoplasmatici, del clivaggio*
- *Clivaggio al giorno 3*
- *Sviluppo di blastocisti dopo 5-7 giorni di coltura “in vitro”*

✓ **Parametri biochimici legati al metabolismo embrionario:**

- *“Uptake” di glucosio e piruvato*
- *Livelli di ATP e ADP*
- *Espressione di recettori per EGF e TGF, produzione di proteine della matrice extracellulare, livelli di sintesi di hCG*

✓ **Diagnosi genetica preimpianto (PGD)**

La diagnosi morfologica



GRADO I

Normale

BLASTOMERI

Regolari e uguali

FRAMMENTI
CITOPLASMATICI

Assenti

INCIDENZA

70%

GRADO II

ASPETTO

Normale

BLASTOMERI

Regolari

FRAMMENTI
CITOPLASMATICI

Presenti

INCIDENZA

15%

GRADO III

ASPETTO

Normale

BLASTOMERI

Regolari e diseguali

FRAMMENTI
CITOPLASMATICI

Numerosi

INCIDENZA

10%

GRADO IV

ASPETTO

Degenerato

BLASTOMERI

Irregolari e
diseguali

FRAMMENTI
CITOPLASMATICI

Numerosi

INCIDENZA 5%

Diagnosi Pre-Impianto (PGD)

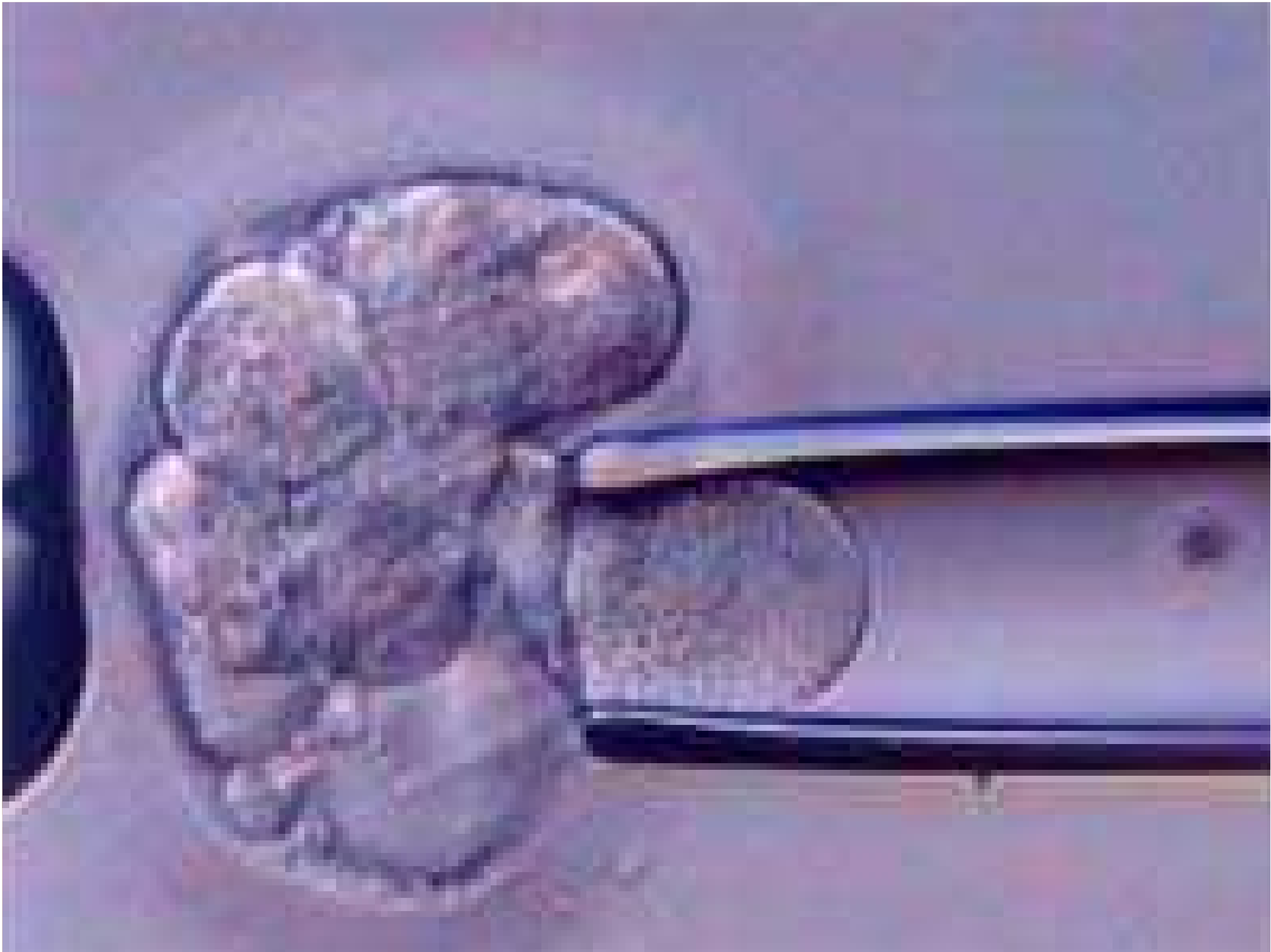


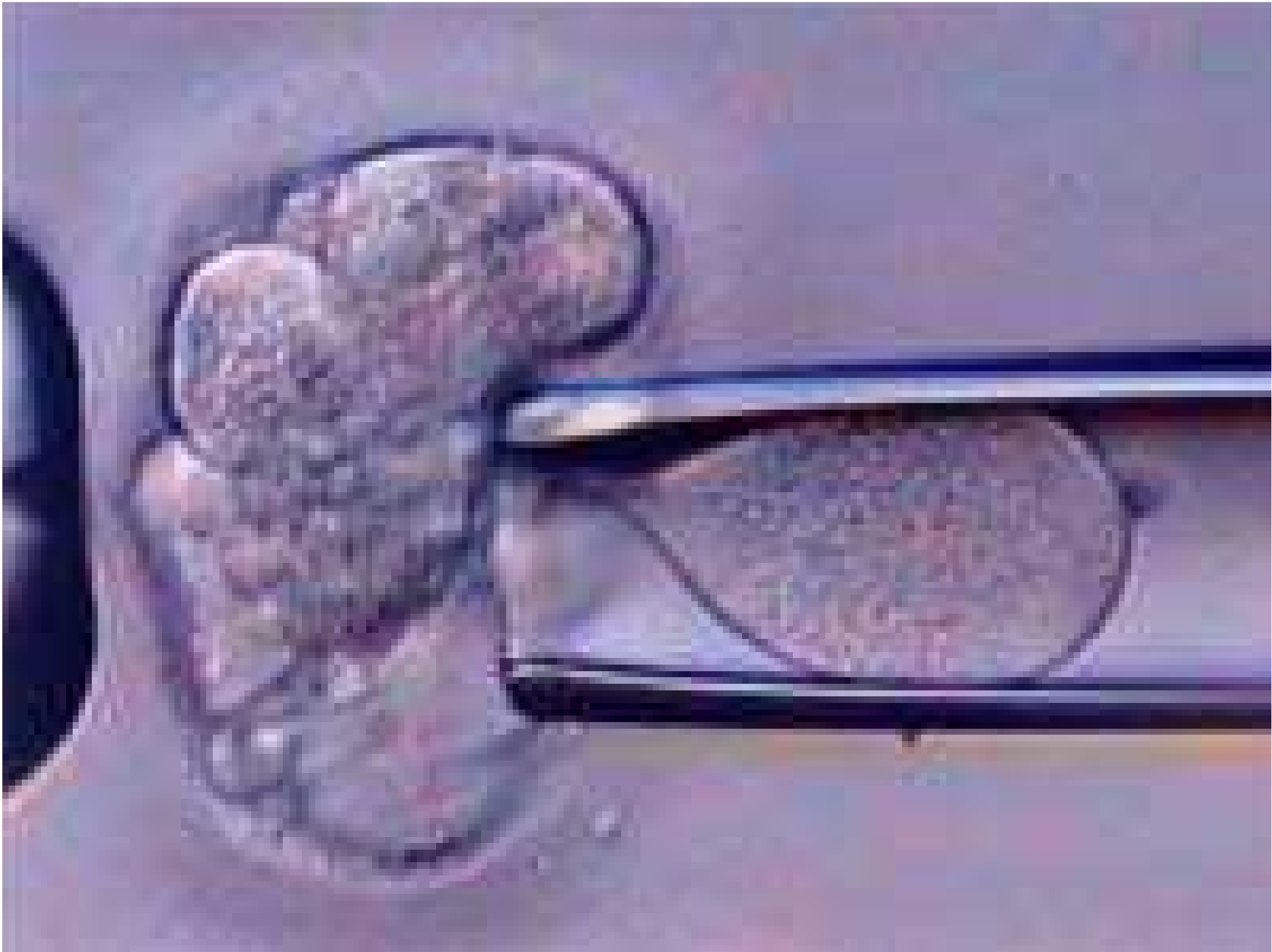
LA DIAGNOSI PRENATALE PRE-IMPIANTO

- 1968: Edwards e Gardner eseguono con successo la prima biopsia su embrione di coniglio.
- Metà degli anni '80: sviluppo nel Regno Unito come alternativa alla diagnosi pre-natale.
- 1989: a Londra Handyside e coll. Riferiscono la nascita del primo bambino sano dopo selezione pre-impianto di embrioni affetti da una patologia legata al cromosoma X.

PGD

- Biopsia di un embrione allo stadio di 6 – 8 cellule / analisi dei Globuli Polari dell'ovocita (di solito 3° giorno dalla fecondazione)
- Vengono rimosse per “suzione” una o due cellule
- La cellula viene posta in provetta in una soluzione che permette la lisi e la liberazione del DNA che viene amplificato attraverso una Polymerase Chain Reaction nella regione del gene che interessa
- Il tratto di DNA amplificato viene sottoposto ad **analisi della mutazione specifica presente nella coppia.**
- La procedura viene completata entro 24 ore dalla fecondazione per trasferire gli embrioni entro il 4°/5° giorno.





PGD

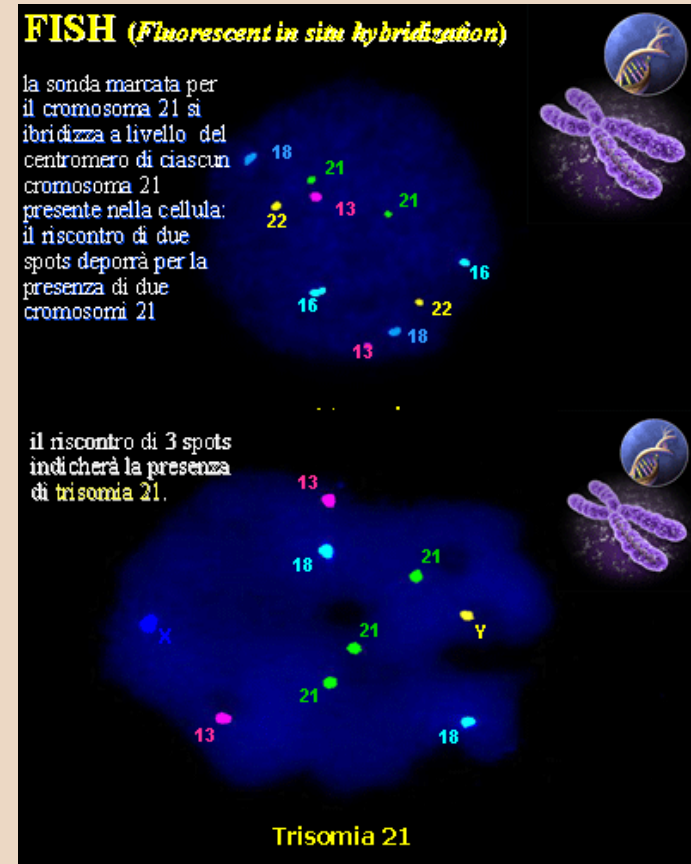
- **Accuratezza: 93-95%** (maggiore negli ultimi anni)
 - Eventuale contaminazione con materiale cellulare esterno
 - Fenomeno ADO (Allele Drop Out, mancata amplificazione genica di uno dei due alleli) 5-10%
 - Non si esclude la presenza di malattie cromosomiche non ricercate.
 - Si consiglia conferma della diagnosi con Villocentesi/Amniocentesi

PGD

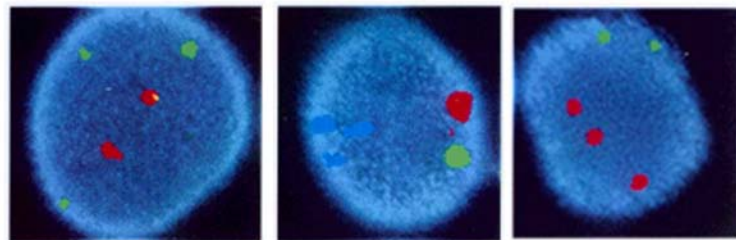
- **FISH** (fluorescent in situ hybridization)
 - Diagnosi citogenetica
- **PCR** (polymerase chain reaction)

PGD: FISH

- Cellule fissate su vetrino mescolate ad una soluzione con un cocktail di sonde di DNA marcate con fluorocromi colorati che si legano alle zone di DNA omologhe ed emettono luce se sollecitate con lampade a diversa lunghezza d'onda



PGD: FISH

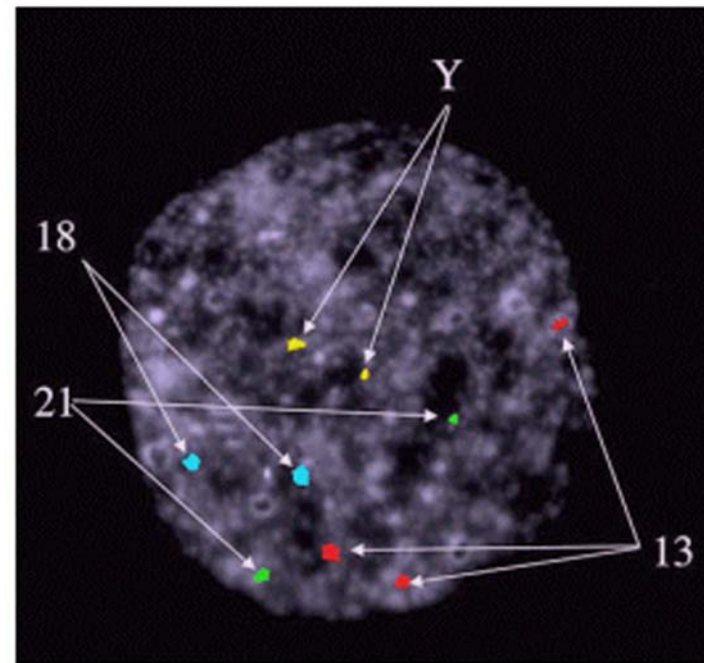


Trisomy 13

Trisomy 18

Trisomy 21

Abnormalities of chromosomes 13, 18, 21



Multiple FISH demonstrating chromosomes 13 (triploid), 18, 21, and XX

Oltre 100 patologie possono essere attualmente ricercate mediante PGD

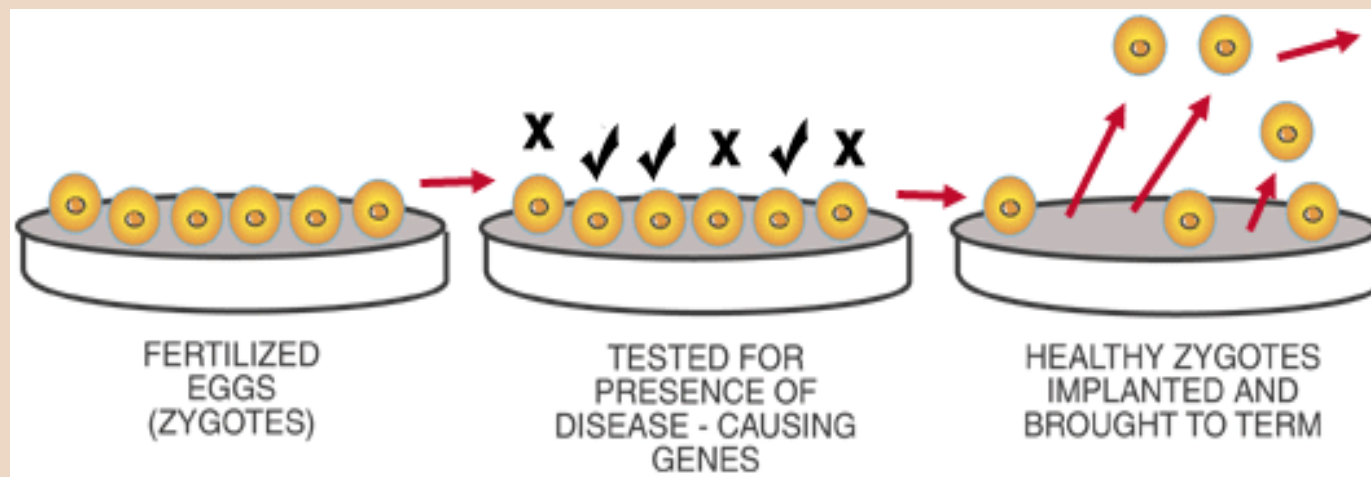
- Hemophilia A
- Muscular dystrophy
- Tay-Sachs disease
- Cystic fibrosis
- Down Syndrome



Removal of one cell for testing

Vitale e Desiderabile?

“This information is helping parents choose which embryos they want--and which to reject as unhealthy, or merely undesirable.” (Zitner 2002)



La PGD come strumento eugenetico sociale

- Si ritiene ammissibile selezionare i portatori sani di malattie per apportare “*benefici trans-generazionali*”.



La PGD come strumento eugenetico sociale

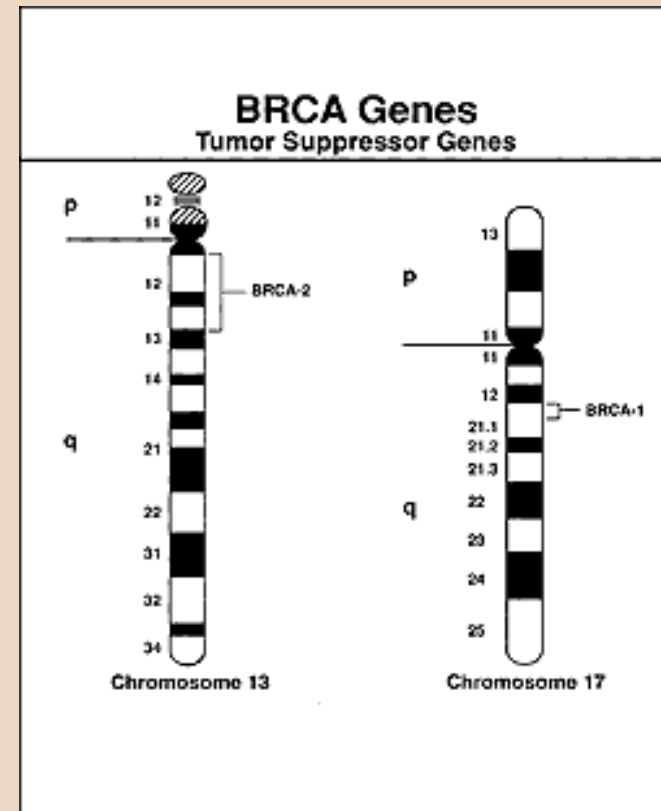
- **Maggio 2006:** UK Human Fertilization and Embryology Authority (HFEA) approva la PGD per la selezione degli embrioni con suscettibilità allo sviluppo di sindromi (anche se con bassa penetranza e sviluppo tardivo, come cancro mammario e ovarico).

U. Menon, J. Harper, A. Sharma, L. Fraser, M. Burnell, K. ElMasry, C. Rodeck, and I. Jacobs
Views of BRCA gene mutation carriers on preimplantation genetic diagnosis as a reproductive option for hereditary breast and ovarian cancer
Hum. Reprod., June 1, 2007; 22(6): 1573 - 1577.



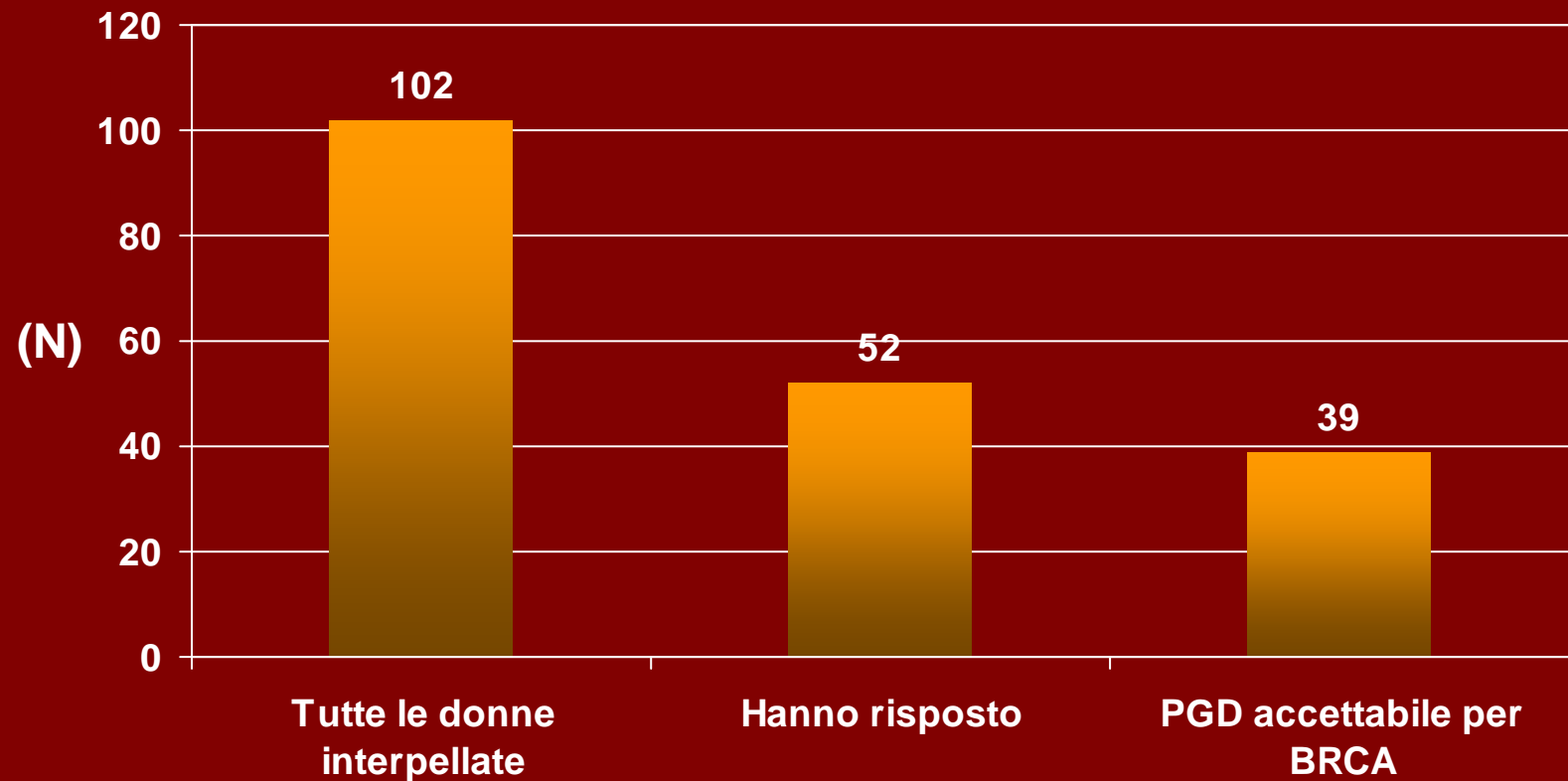
PCR: indagine genetica per individuare il rischio di malattia

- Studio genetico BRCA1 e del BRCA2 individua, nel genere femminile, chi potrà ammalarsi
- Tumore mammella
 - (87% vs. 10%)
- Tumore ovaio
 - (44-60% vs. 1%)



L'eugenetica sta vincendo?

102 donne con mutazione del gene BRCA seguiti dai servizi oncologici

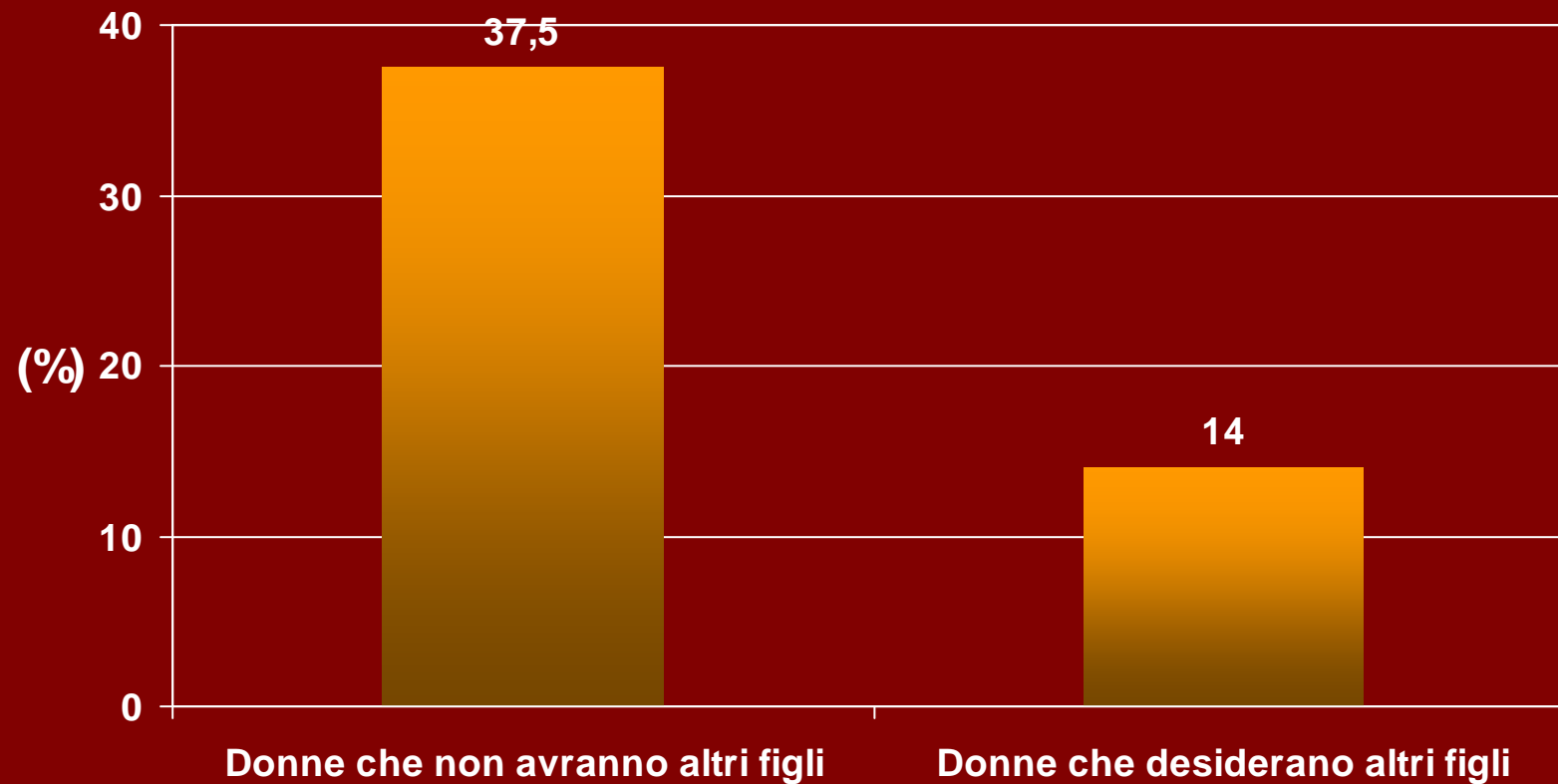


U. Menon, J. Harper, A. Sharma, L. Fraser, M. Burnell, K. ElMasry, C. Rodeck, and I. Jacobs

Views of BRCA gene mutation carriers on preimplantation genetic diagnosis as a reproductive option for hereditary breast and ovarian cancer
Hum. Reprod., June 1, 2007; 22(6): 1573 - 1577.

L'eugenetica sta vincendo?

Personalmente prenderebbero o avrebbero preso in considerazione la PGD se disponibile



U. Menon, J. Harper, A. Sharma, L. Fraser, M. Burnell, K. ElMasry, C. Rodeck, and I. Jacobs

Views of BRCA gene mutation carriers on preimplantation genetic diagnosis as a reproductive option for hereditary breast and ovarian cancer
Hum. Reprod., June 1, 2007; 22(6): 1573 - 1577.

La crioconservazione di embrioni

- Sono destinati al congelamento gli embrioni “sovrannumerari” prodotti in eccesso rispetto all’impianto /ciclo .
- Non chiaro dopo quanti anni di congelamento possano essere ancora utilizzati
- Tasso di gravidanza più basso degli embrioni freschi
- La produzione obbedisce a criteri funzionali alle tecniche , ma in alcuni paesi è definita dalla legislazione
- Il numero degli embrioni trasferiti si è ridotto negli anni : oggi da 1 a 3/ transfer

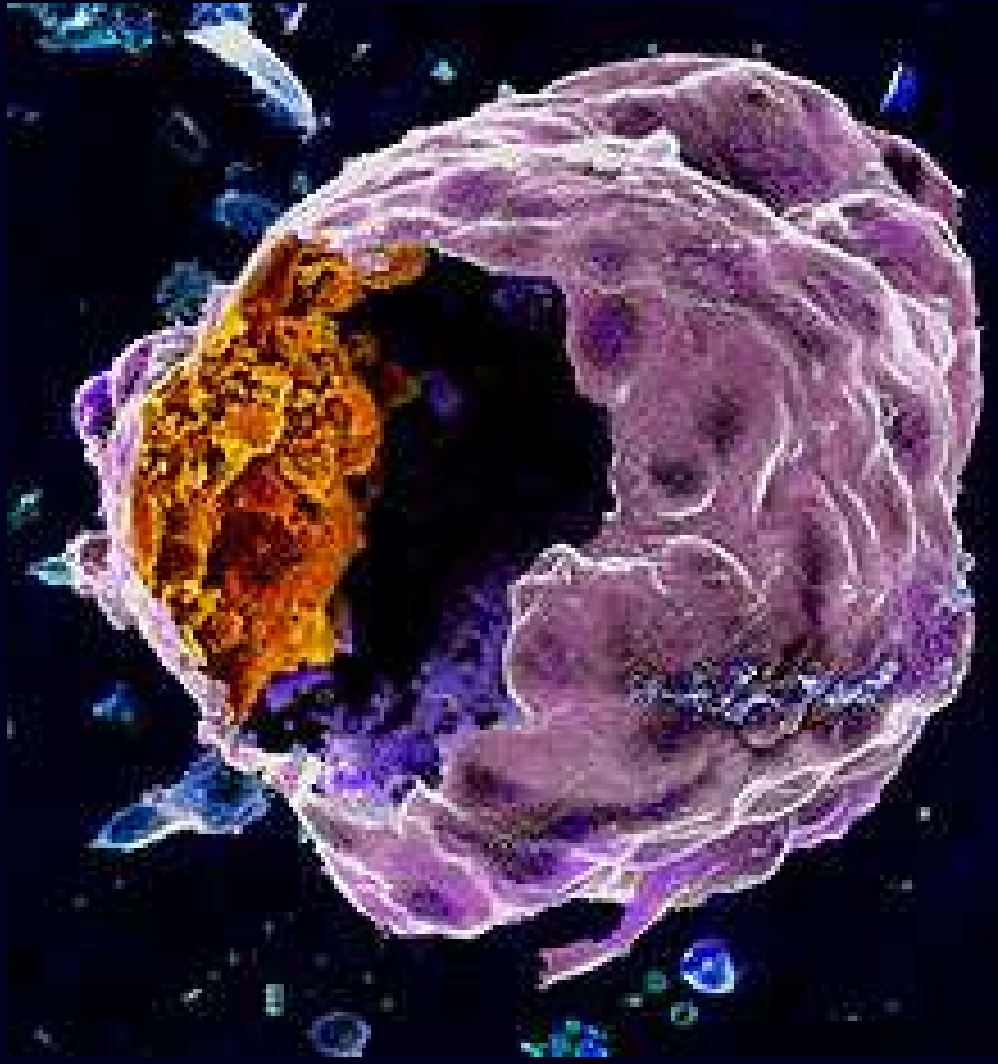
La crioconservazione di embrioni

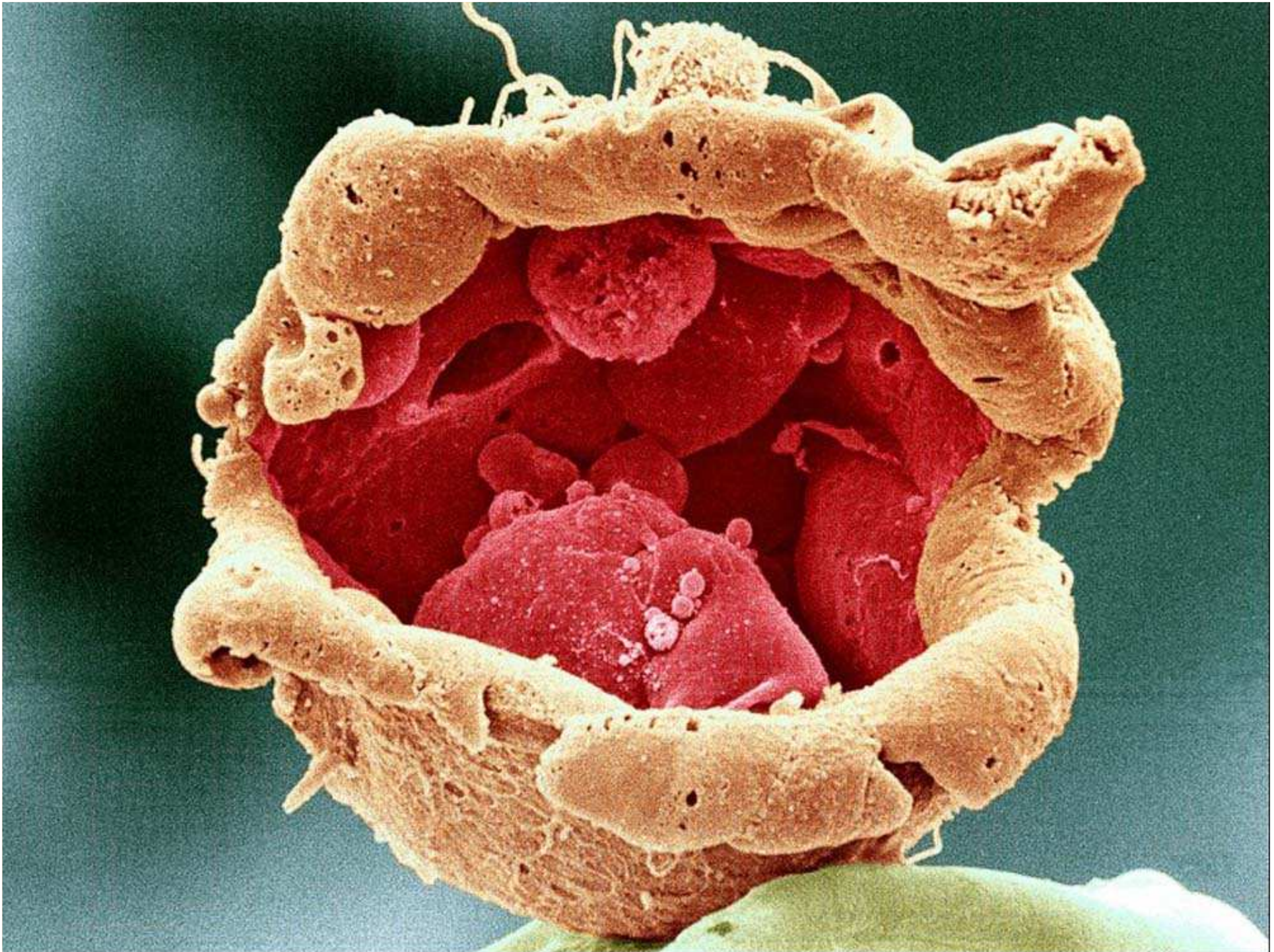
- La crioconservazione viene effettuata in fase: 2PN; di segmentazione (2-8 cellule); di blastocisti.
- I segni morfologici di sopravvivenza sono presenti nel 56-96% di embrioni 2PN e nel 50-60% di embrioni in segmentazione. La percentuale di impianto e proseguimento della gravidanza è rispettivamente 2 e 3 volte inferiore che con embrioni freschi.
- Gli embrioni ottenuti con la ICSI appaiono più sensibili allo stress da crioconservazione. Gli embrioni sottoposti a DGP hanno una sopravvivenza alla crioconservazione 2 volte più bassa degli embrioni non biopsiati.

GLI EMBRIONI “ABBANDONATI”

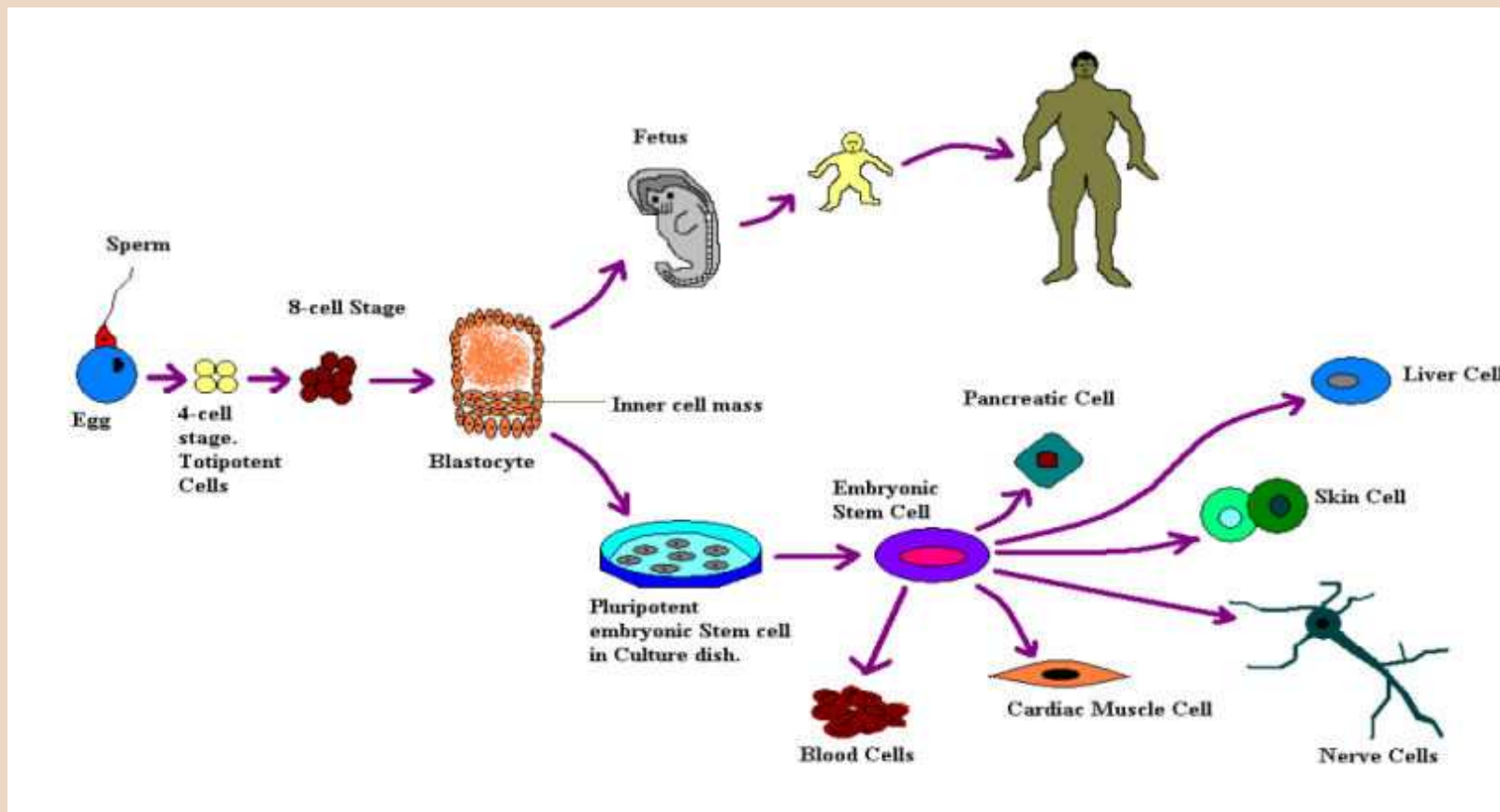
- Censimento in Italia
- 88 centri censiti : 2527 da 603 coppie in 53 centri
- 68 centri ancora in attesa di risposta

(ISS)





Ricerca con cellule staminali da soppressione embrionale





PARTIAL-BIRTH ABORTION?

No, STEM-CELL RESEARCH

Sorpresaaaaa !

MailOnline

Scientific breakthrough: Healthy baby born from frozen embryo that is TWENTY years old

By [Daily Mail Reporter](#)

Last updated at 8:04 AM on 11th October 2010

A baby has been born from an embryo frozen 20 years ago.

It is the longest time a fertilised egg has been stored before developing into a healthy baby, and could eventually lead to thousands of women having children in middle age.

The newborn's 42-year-old mother, who lives in the U.S., had undergone ten years of IVF but was unable to conceive.



Research shows embryos can be frozen for years with no effect on a baby's health (file photo)

But last year a frozen embryo - created by another couple - was implanted into her womb and in May she gave birth to a boy weighing 6lb 15oz.

The embryo was created with four others when the couple were having successful IVF treatment in 1990.

When one was successfully implanted, they donated the other four for 'adoption' and they were frozen. Two decades later the four embryos were offered to the 42-year-old woman and her husband at the U.S. clinic where they were undergoing fertility treatment.

Il problema morale

- **Si dice:** “Con le staminali embrionali si potranno curare malattie oggi incurabili”.
- **Già, ma come?**

LET'S PRAY FOR THE SINNERS WHO ENGAGE IN THE DEVIL'S WORK OF STEM-CELL RESEARCH!

LORD, HELP THEM FIND A CURE FOR DAD'S ALZHEIMER'S...

A CURE FOR MOM'S PARKINSON'S...

A CURE FOR MY CANCER...

RELIGIOUS
RIGHT



I DIED WAITING FOR
EMBRYONIC STEM CELL
RESEARCH TO FIND A CURE.
WHAT ABOUT YOU?

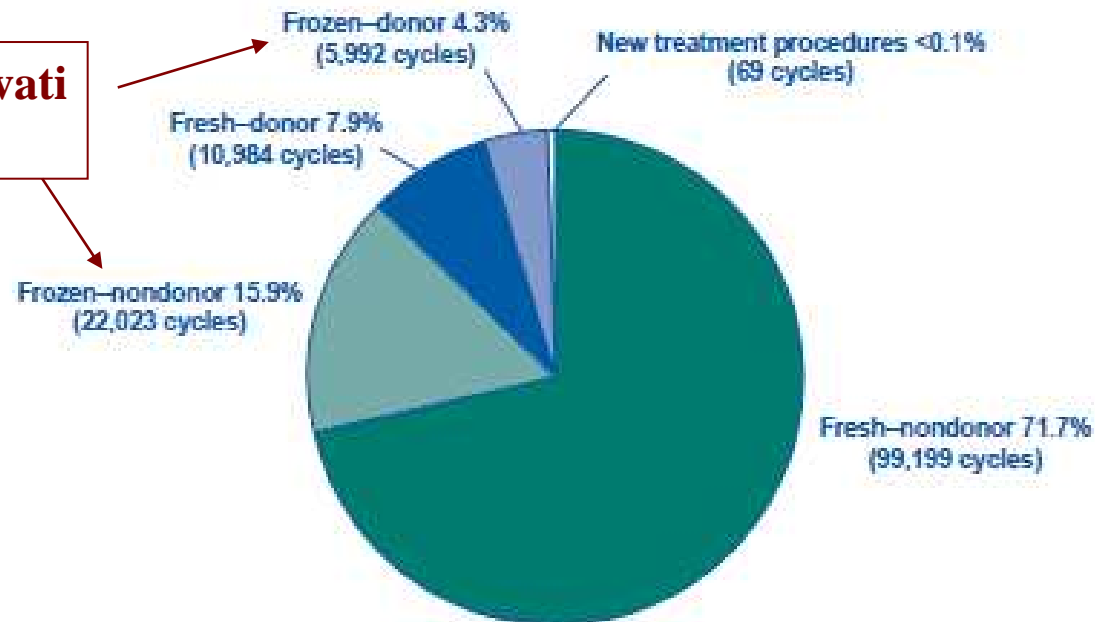
I WAS THE
EMBRYO



Tecniche a fresco/congelamento: USA

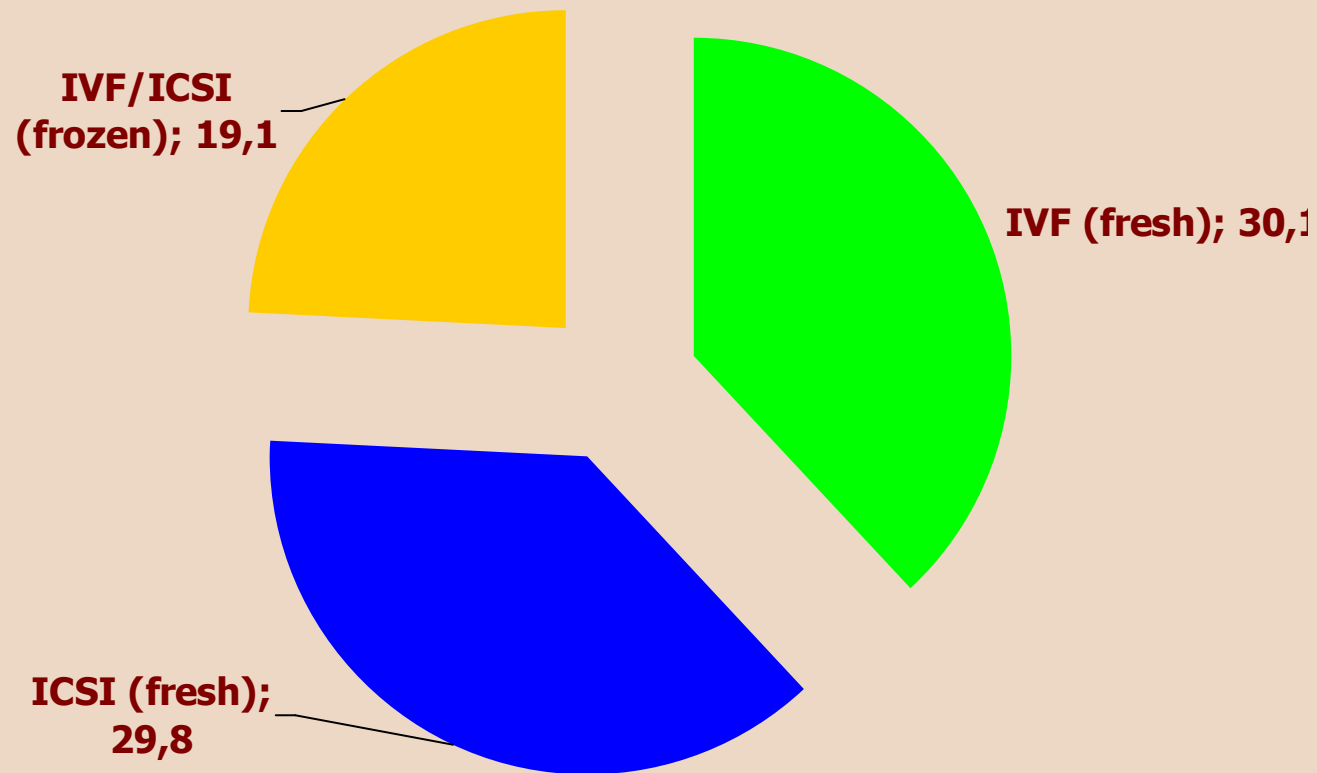
Figure 2
Types of ART Cycles—United States,* 2006

Cicli crio-conservati
20,2%



*Total does not equal 100% due to rounding.

Tecniche a fresco/congelamento: EUROPA



ART – Efficacia/Tollerabilità



ART

Rischi Per La Salute
Della Donna e del
bambino

Infertilità come fattore di rischio sia per la madre che per il bambino

- Parto pretermine (RR 1,4-1,8)
- Mortalità perinatale (RR 3)

Rischio gravidanze non gemellari

Stimolazione vs. ovulazione naturale

Table 3. Singleton pregnancy outcomes after superovulation–IUI compared with spontaneously conceived pregnancies (controlling for maternal age ± parity)

	Incidence in assisted conception %	Incidence in spontaneous conception %	Relative risk/ Odds ratio
Obstetrical Complications			
Gestational hypertension	1.1 ³⁶ , 11.3 ³⁴	0.7 ³⁶ , 8.6 ³⁴	1.8 ^{34*}
Placenta previa	0 ³⁶	0 ³⁶	
Placental abruption	0 ³⁶	0.4 ³⁶	
Induction of labour	22.8 ³⁶	21.0 ³⁶	1.1 ³⁶
Caesarean delivery	25.0 ³⁶	25.0 ³⁶	1.0 ³⁶
Perinatal outcomes			
Perinatal mortality (per 1000)	11.1 ³⁶	7.2 ³⁶	1.5 ³⁶ , 1.7 ^{35*}
Preterm delivery < 37 wk	8.7 ³⁶ , 15.5 ³⁴	5.1 ³⁶ , 6.9 ³⁴	1.3 ^{35*} , 1.7 ³⁶ , 2.2 ^{34*}
Low birth weight < 2500 g	8.7 ³⁶ , 22.7 ³⁴	6.2 ³⁶ , 7.1 ³⁴	1.4 ³⁶ , 1.5 ^{35*} , 3.2 ^{34*}
NICU admission	2.2 ³⁶ , 16.5 ³⁴	6.5 ³⁶ , 12.7 ³⁴	0.3 ³⁶ , 1.3 ³⁴

Superscripts refer to reference numbers unless otherwise stated. *P < 0.05. IUI: intrauterine insemination; NICU: neonatal intensive care unit.

Rischio gravidanze non gemellari ART vs. concepimento naturale

Table 4. Singleton pregnancy outcomes after IVF compared with spontaneously conceived pregnancies (controlling for maternal age ± parity)

	IVF			IVF-ICSI		
	Incidence in IVF conception %	Incidence in spontaneous conception %	Relative risk/ Odds ratio	Incidence in IVF-ICSI conception %	Incidence in spontaneous conception %	Relative risk / Odds ratio / <i>P</i>
Obstetrical Complications						
Gestational diabetes	6.8 ⁴⁴	4.7 ⁴⁴	2.0 ^{44*}			
Gestational hypertension	10.3 ⁴⁴	3.8 ⁴⁴	1.6 ^{44*}	9.4 ⁴⁷	7.2 ⁴⁷	1.3 ^{47*}
Placenta previa	2.4 ⁴⁴	0.9 ⁴⁴	2.9 ^{44*}	2.3 ⁴⁷	0.4 ⁴⁷	6.4 ^{47*}
Placental abruption				2.0 ⁴⁷	1.1 ⁴⁷	1.8 ^{47*}
Induction of labour	21.9 ⁴⁴	19.6 ⁴	1.6 ^{44*}			
Caesarean delivery	26.7 ⁴⁴	19.5 ⁴⁴	1.5 ^{48*} , 2.1 ^{44*}	33.5 ⁴⁷	13.9 ⁴⁷	<i>P</i> < 0.01 ⁴⁷
Perinatal outcomes						
Perinatal mortality (per 1000)	12.4 ⁴⁸	8.0 ⁴⁸	1.7 ^{48*}			
Preterm delivery < 37 wk	11.4 ⁴⁸ , 11.5 ⁴⁴ , 13.1 ⁴⁸	5.3 ⁴⁴ , 6.1 ⁴⁸ , 9.3 ⁴⁸	1.4 ^{46*} , 2.0 ^{48*} , 2.0 ^{44*}	12.1 ⁴⁷	6.7 ⁴⁷	1.8 ^{47*}
Low birth weight < 2500 g	9.4 ⁴⁶ , 9.5 ⁴⁴	3.8 ⁴⁴ , 5.8 ⁴⁶	1.6 ^{46*} , 1.7 ^{48*} , 1.8 ^{44*}	10.9 ⁴⁷	5.3 ⁴⁷	<i>P</i> < 0.01 ⁴⁷
Very low birth weight < 1500 g	1.7 ⁴⁶ , 2.5 ⁴⁴	0.97 ⁴⁶ , 0.99 ⁴⁴	1.8 ^{46*} , 2.7 ^{44*} , 3.0 ^{48*}	3.2 ⁴⁷	1.1 ⁴⁷	<i>P</i> < 0.01 ⁴⁷
Small for gestational age < 10th percentile	14.6 ⁴⁴	8.9 ⁴⁴	1.4 ^{48*} , 1.6 ^{44*}			
NICU admission	17.8 ⁴⁴	7.8 ⁴⁴	1.3 ^{48*} , 1.6 ^{44*}			

Superscripts refer to reference numbers unless otherwise stated. **P* < 0.05. IVF: in vitro fertilization; ICSI: intracytoplasmic sperm injection; NICU: neonatal intensive care unit.

La sindrome da iperstimolazione ovarica (OHSS)

PROBLEMI E GESTIONE DEL PRIMO TRIMESTRE DELLA GRAVIDANZA
M. MASSOBRIO, G. GENNARELLI, A. REVELLI, C. PERONO BIACCHIARDI

Dipartimento di Scienze Ginecologiche ed Ostetriche, Università di Torino

- La sindrome da iperstimolazione ovarica (OHSS) è una complicanza iatrogena indotta dalla somministrazione degli ormoni atti a provocare la crescita e la maturazione follicolare.

Classificazione Clinico-Strumentale secondo Golan (1989) (attualmente la più usata)

	1° Livello OHSS Lieve	2° Livello OHSS Moderata	3° Livello OHSS Grave
GRAVITA' Grado 1	Gonfiore e tensione addominale		
Grado 2	Grado 1 + nausea, vomito e/o diarrea. Ovaie \varnothing 5 -12 cm		
Grado 3		Grado 2 + presenza ascite <u>all'ecografia</u>	
Grado 4			Grado 3 + evidenza <u>clinica</u> di ascite e/o versamento pleurico con dispnea
Grado 5			Grado 4 + alteraz. coagulative, ipotensione, contrazione diuresi, emoconcentrazione, ovaie \varnothing >12 cm

Incidenza

Il valore esatto di casi non è conosciuto per la mancanza di un registro dei casi

Induzione dell'ovulazione:

4% (severe 0,25%)

Assisted Reproductive Technologies:

Mild: 8-23%
Moderate: < 1-7%
Severe: 0,5%

Correlati emotivi della FIV

- Prospettive di soluzione
- Problematiche psicologiche
 - Tipo e durata trattamento
 - Coinvolgimento terze persone
 - Alta frequenza di insuccesso



- » Consunzione
- » Rabbia
- » Senso di solitudine, impotenza, abbandono

Donne

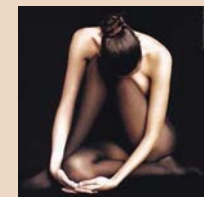
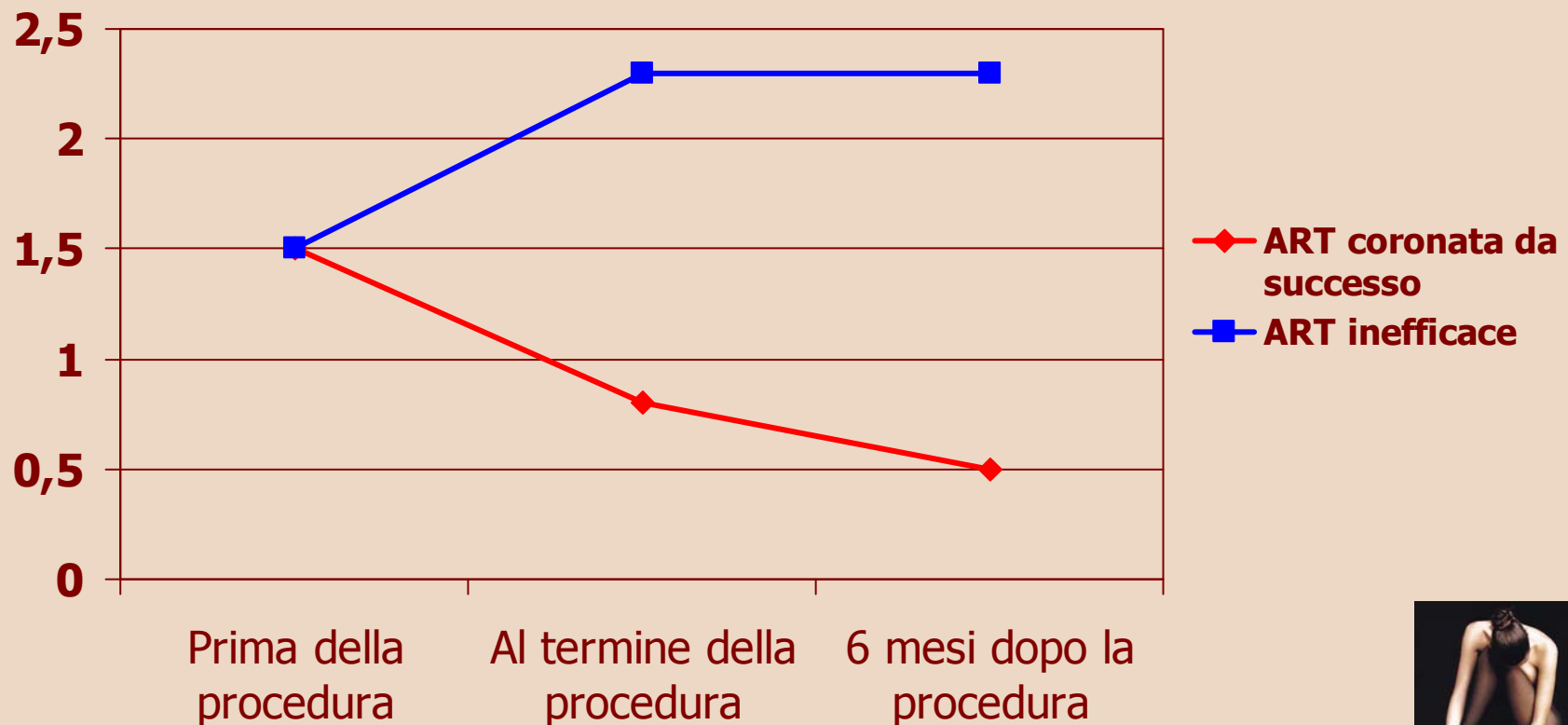
- Ansia
- Disagio sessuale
- Ridotta autostima
- Depressione (13% in caso di insuccesso fiv)
- 13% sviluppano idee suicidarie (in caso di insuccesso fiv)
- Peggioramento della salute generale (in caso di insuccesso)
- Suscettibilità “all’intrusione medica”

Wright 1989, 1991

Verhaak CM et al. Ned Tijdschr Geneesk 2002 Dec 7; 146(49): 2363-6

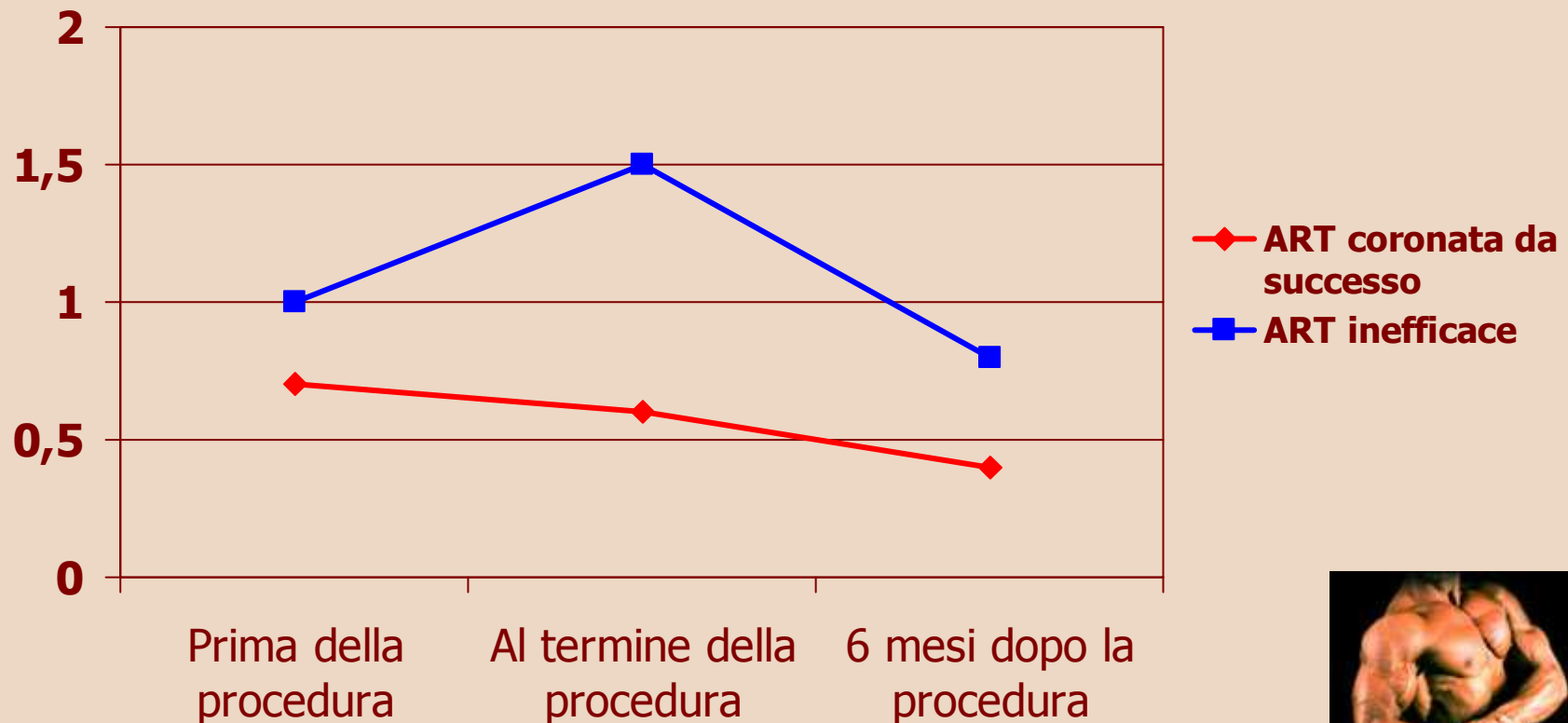
Lok IH et al. Gynecol Obstet Invest 2002; 53(4): 159-9

Donne: reazione depressiva alle procedure di Assisted Reproductive Treatment (ART)



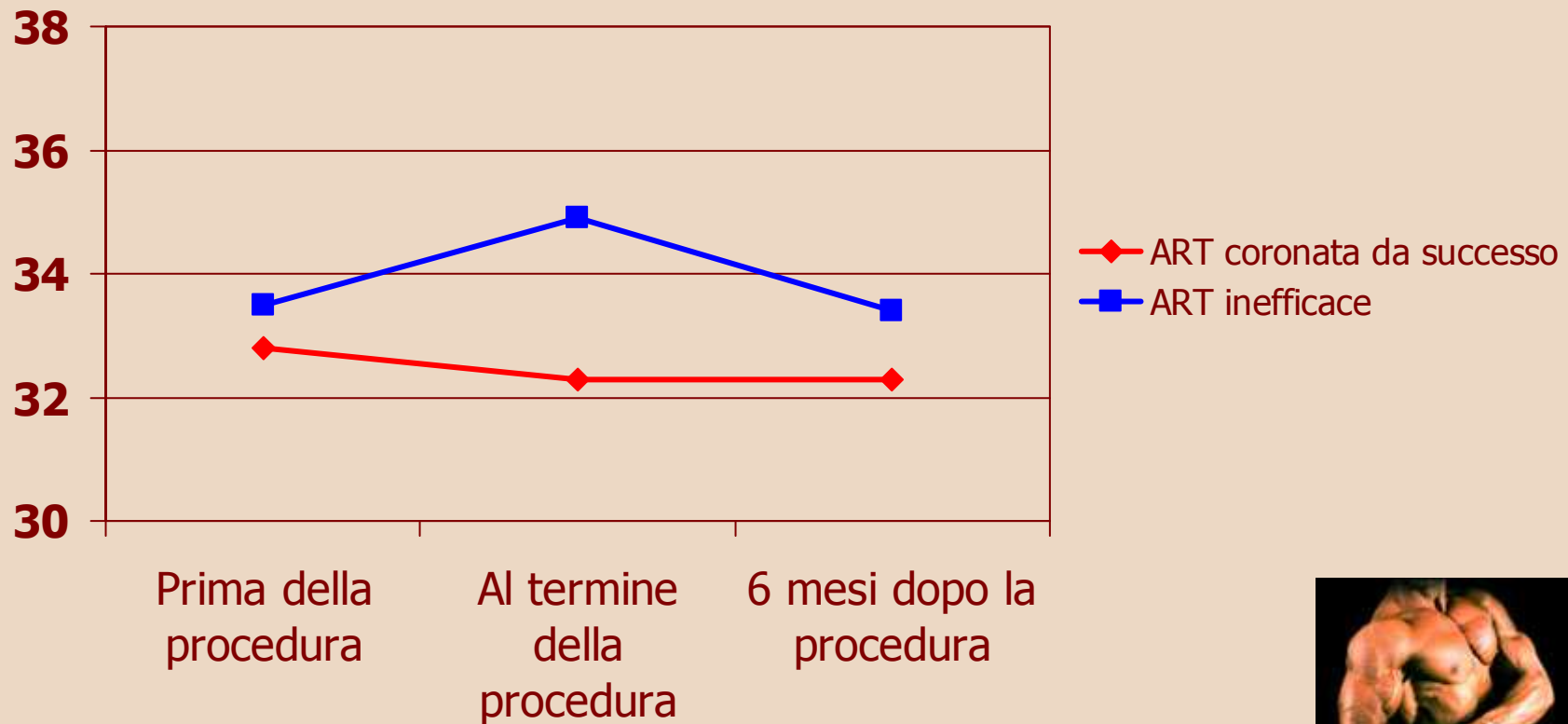
Verhaak CM, Smeenk JM, van Minnen A, Kremer JA, Kraaijenhagen FW.
A longitudinal, prospective study on emotional adjustment before, during and after consecutive fertility treatment cycles.
Hum Reprod. 2005 Aug;20(8):2253-60.

Uomini: reazione depressiva alle procedure di ART



Verhaak CM, Smeenk JM, van Minnen A, Kremer JA, Kraaijmaat FW.
A longitudinal, prospective study on emotional adjustment before, during and after consecutive fertility treatment cycles.
Hum Reprod. 2005 Aug;20(8):2253-60.

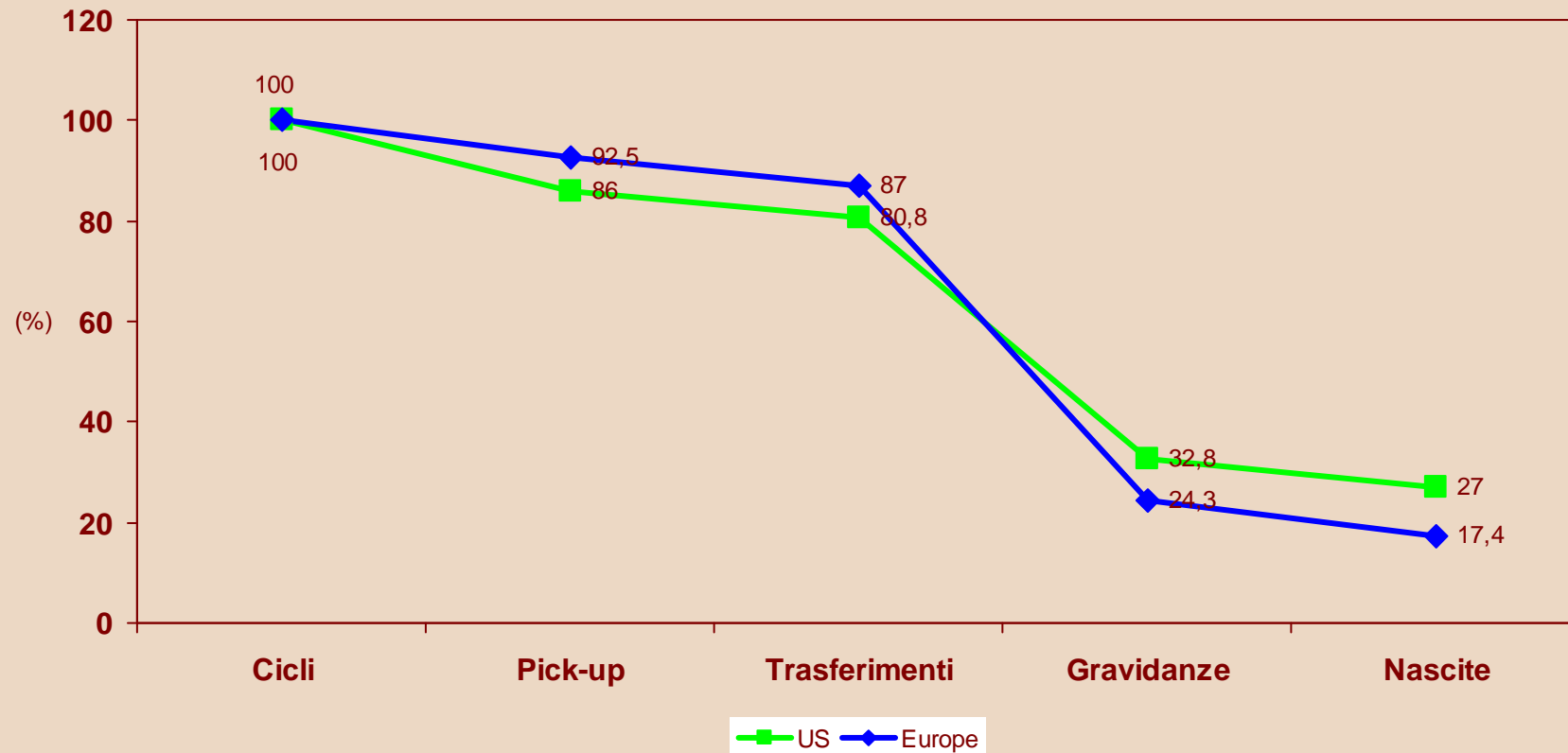
Uomini: reazione d'ansia alle procedure di ART



Verhaak CM, Smeenk JM, van Minnen A, Kremer JA, Kraaijenhagen CA, van den Berg H, van den Berghe H, Kraaijenhagen FW.
A longitudinal, prospective study on emotional adjustment before, during and after consecutive fertility treatment cycles.
Hum Reprod. 2005 Aug;20(8):2253-60.

Efficienza ART US vs. Europa

Tecniche a fresco



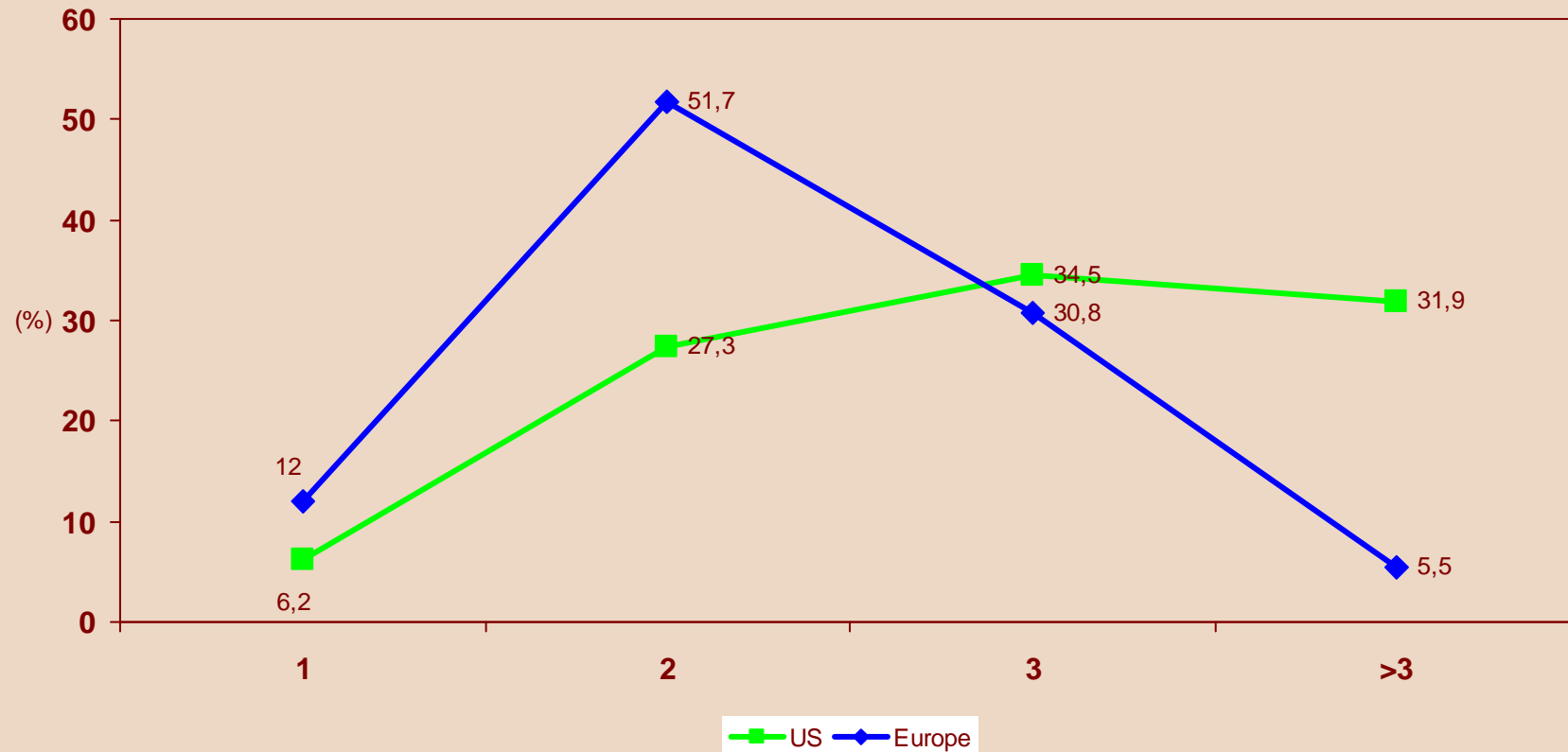
Gleicher N, et al.

A formal comparison of the practice of assisted reproductive technologies between Europe and the USA.

Human Reproduction Vol.21, No.8 pp. 1945–1950, 2006

Embrioni trasferiti US vs. Europa

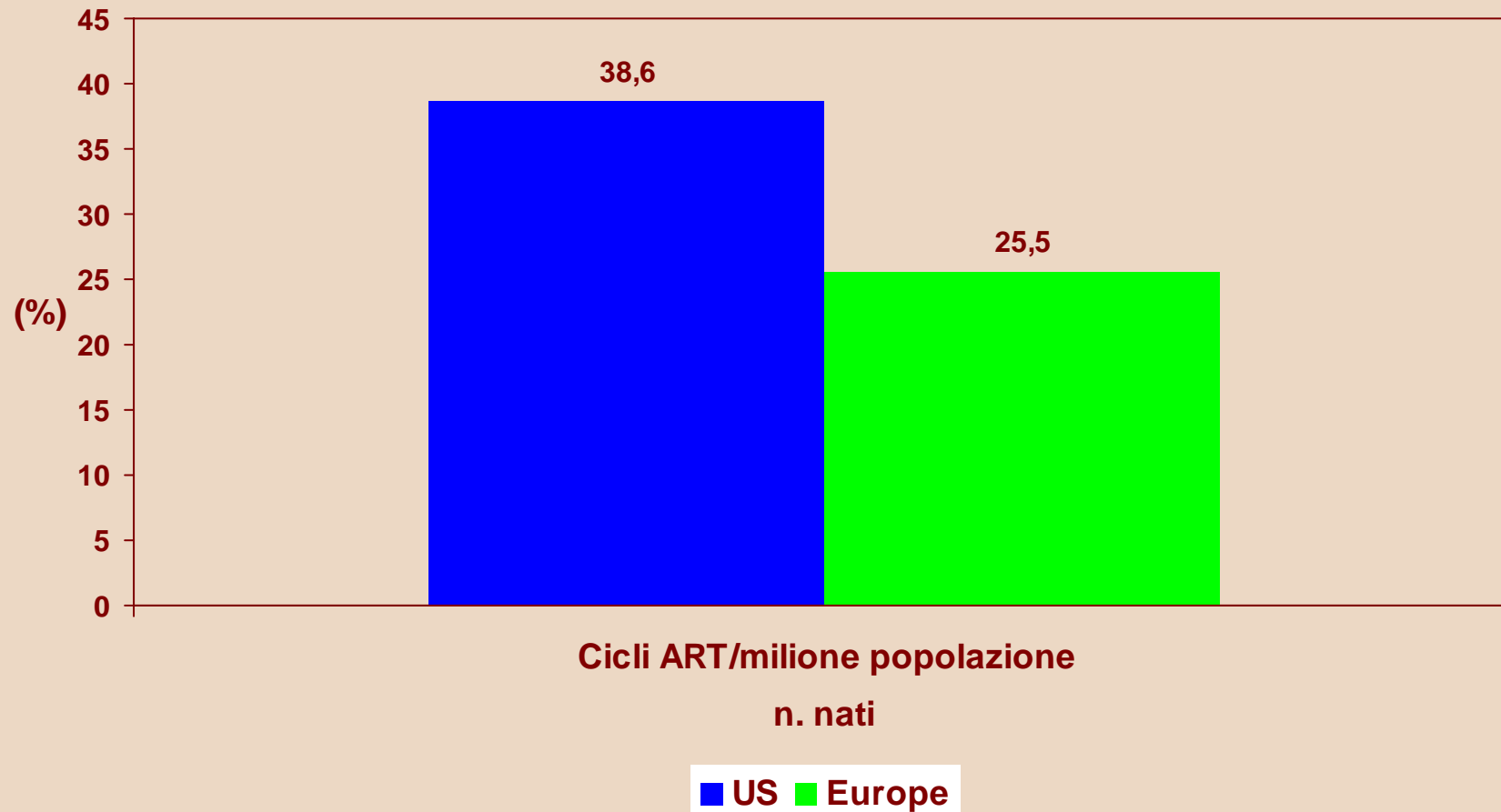
Tecniche a fresco



Gleicher N, et al.

A formal comparison of the practice of assisted reproductive technologies between Europe and the USA.
Human Reproduction Vol.21, No.8 pp. 1945–1950, 2006

Parti gemellari US vs. Europa

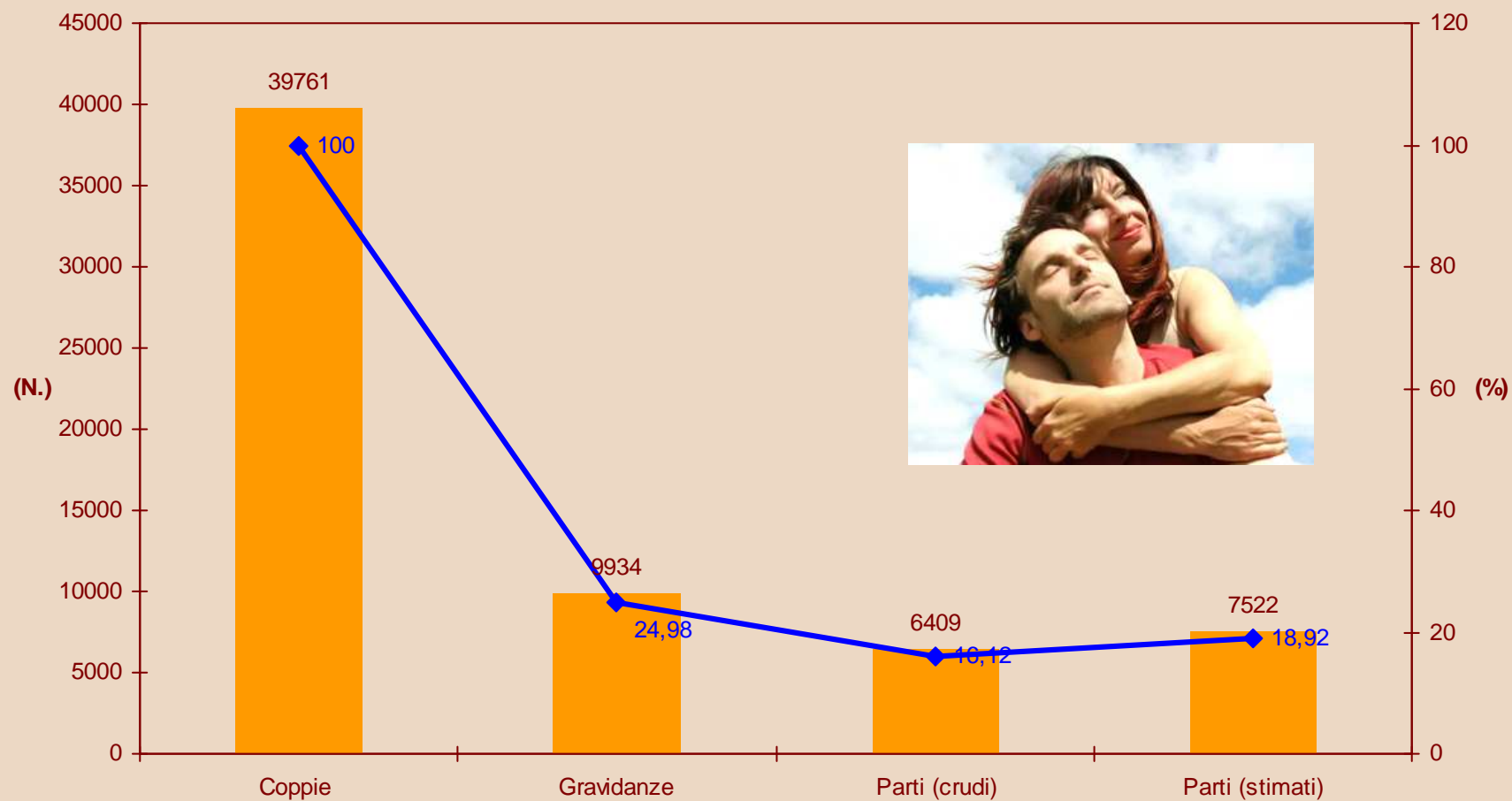


Gleicher N, et al.

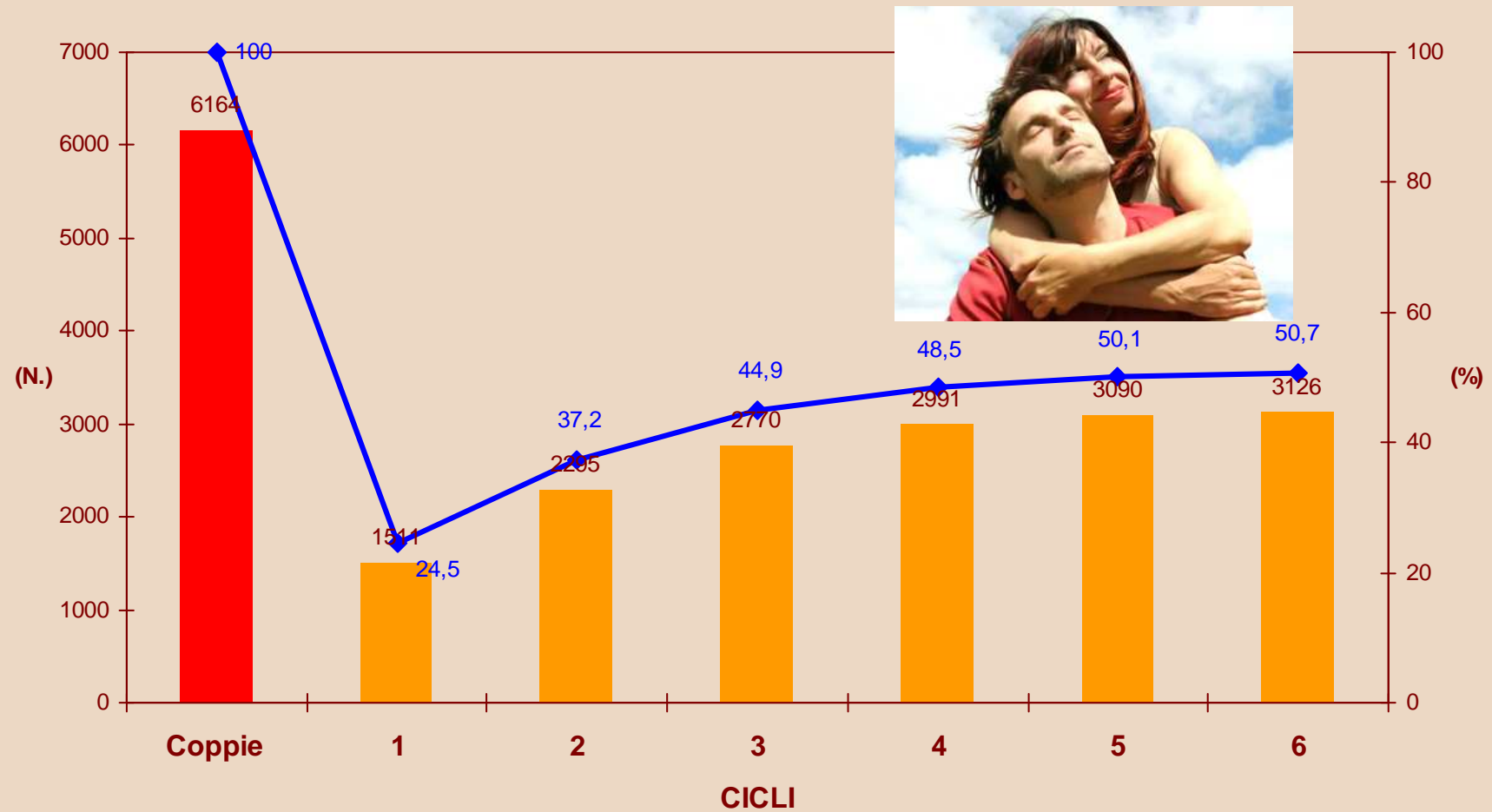
A formal comparison of the practice of assisted reproductive technologies between Europe and the USA.
Human Reproduction Vol.21, No.8 pp. 1945–1950, 2006

Italia PMA 2009 (tecniche 2° e 3° livello)

- la prospettiva della coppia -



USA - la prospettiva della coppia

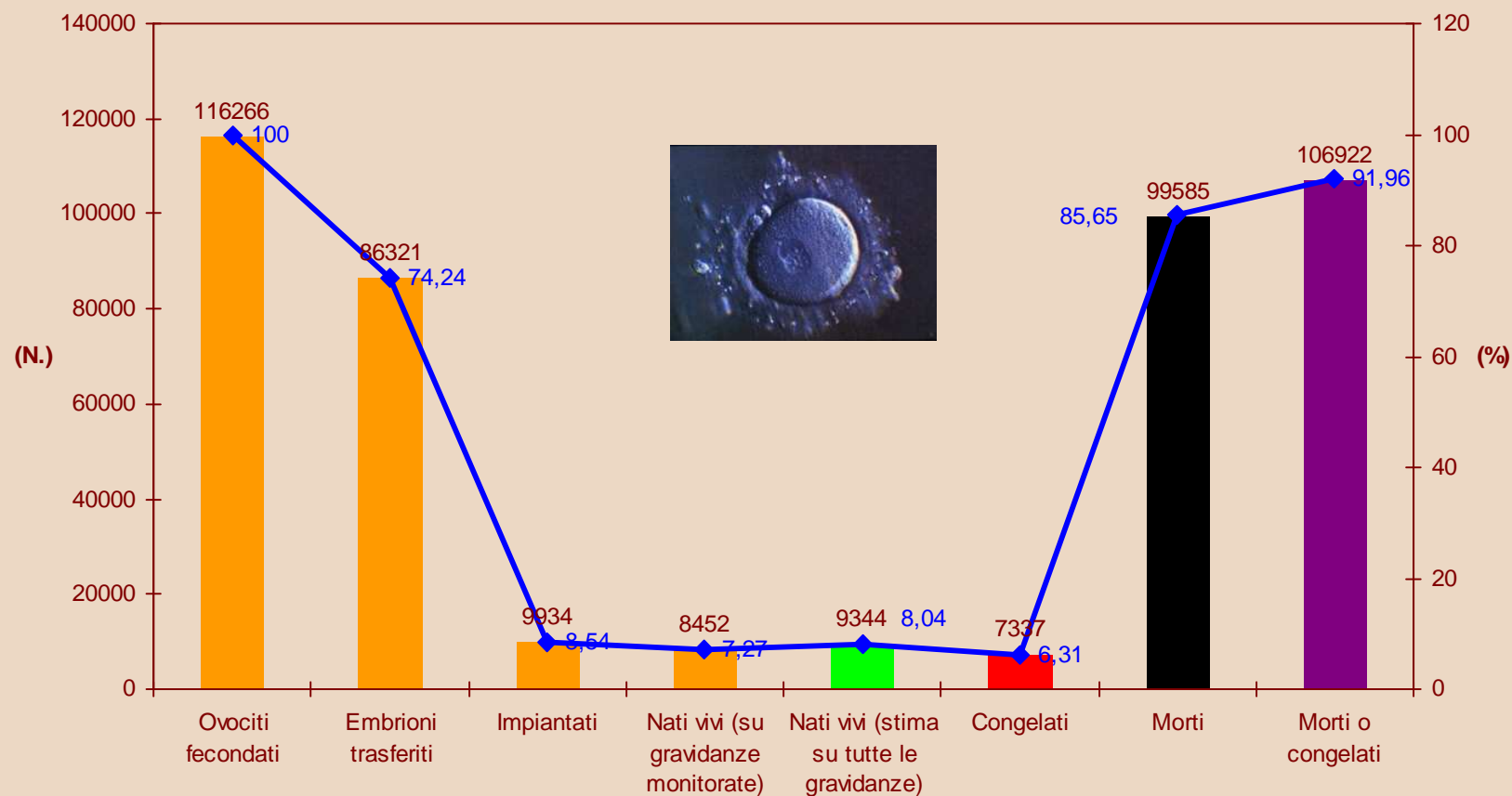


Il problema morale

- **Si dice:** “la fecondazione artificiale serve a dare un figlio alle coppie che non possono averlo naturalmente”.
- **Già, ma come?**

Italia PMA 2009 (tecniche 2° e 3° livello a fresco)

- la prospettiva del concepito -



Perdita embrionale fecondazione naturale vs artificiale

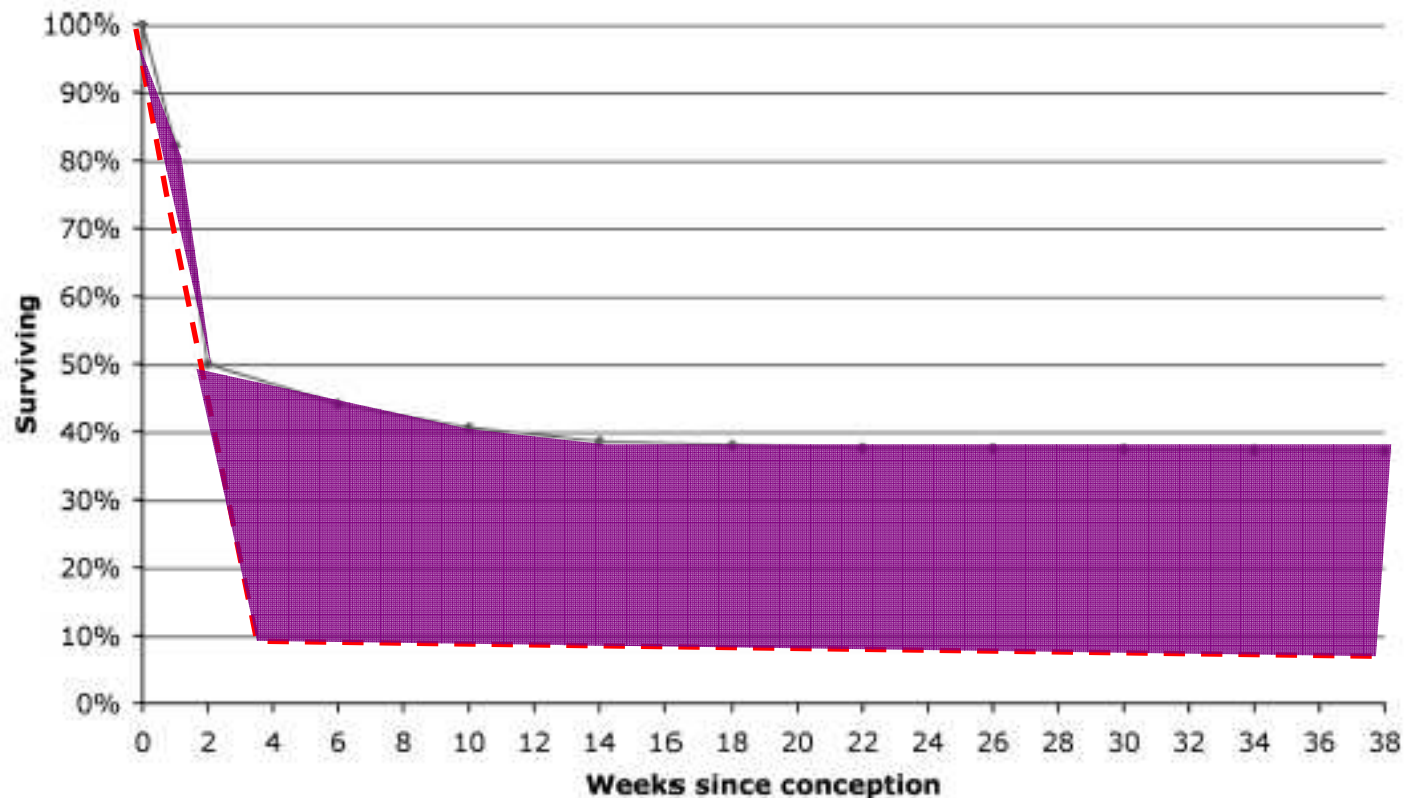
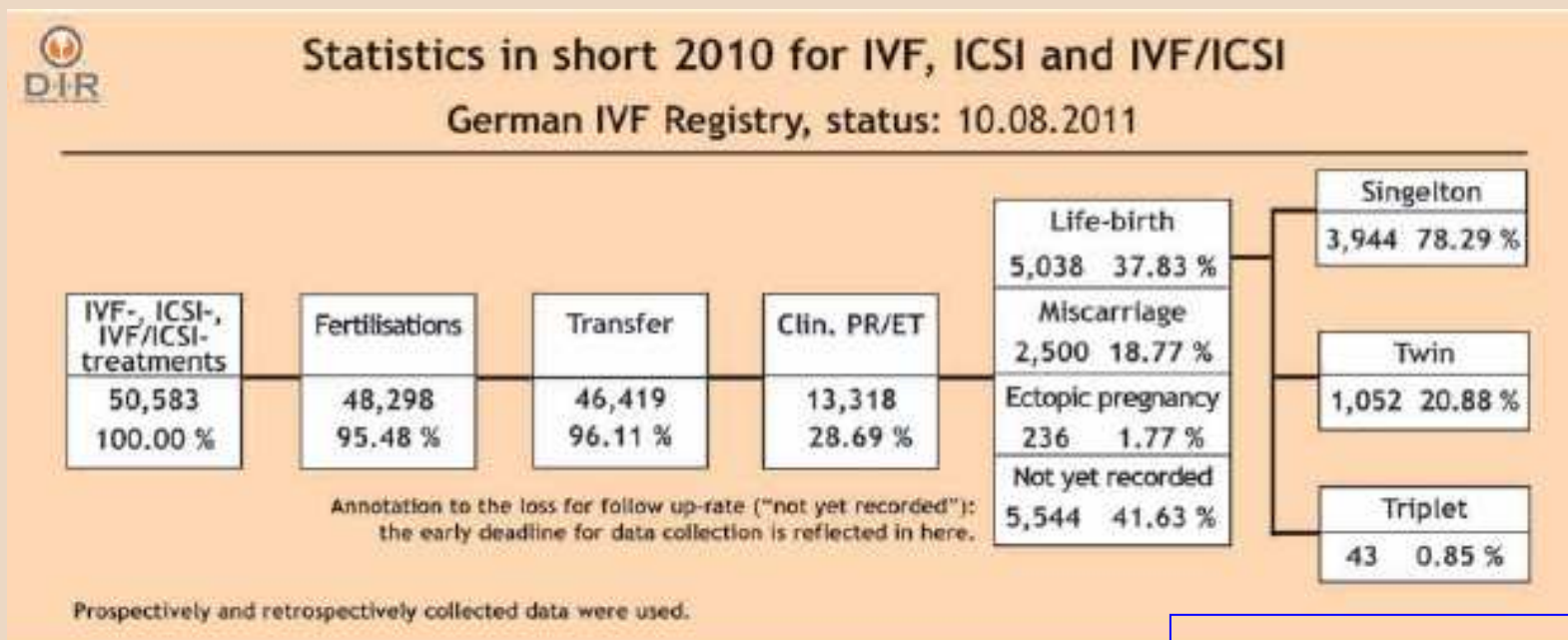


Figure 1. Intrauterine life: Graph of survival and weeks since conception.

Germania – elevata perdita embrionale

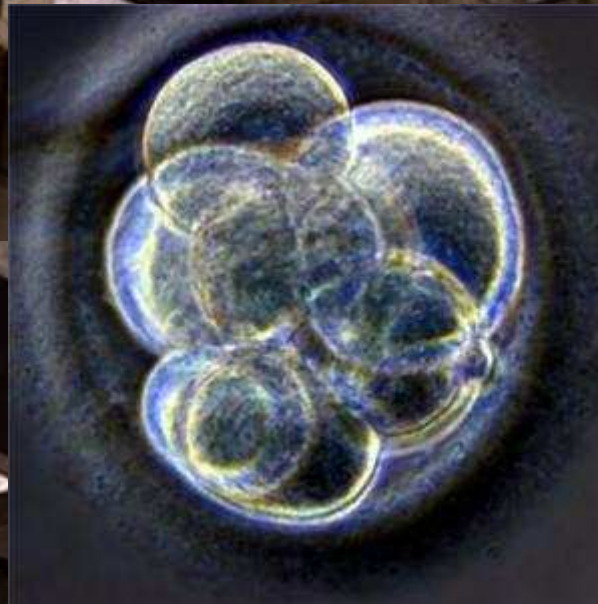


6.187 (12,8%)

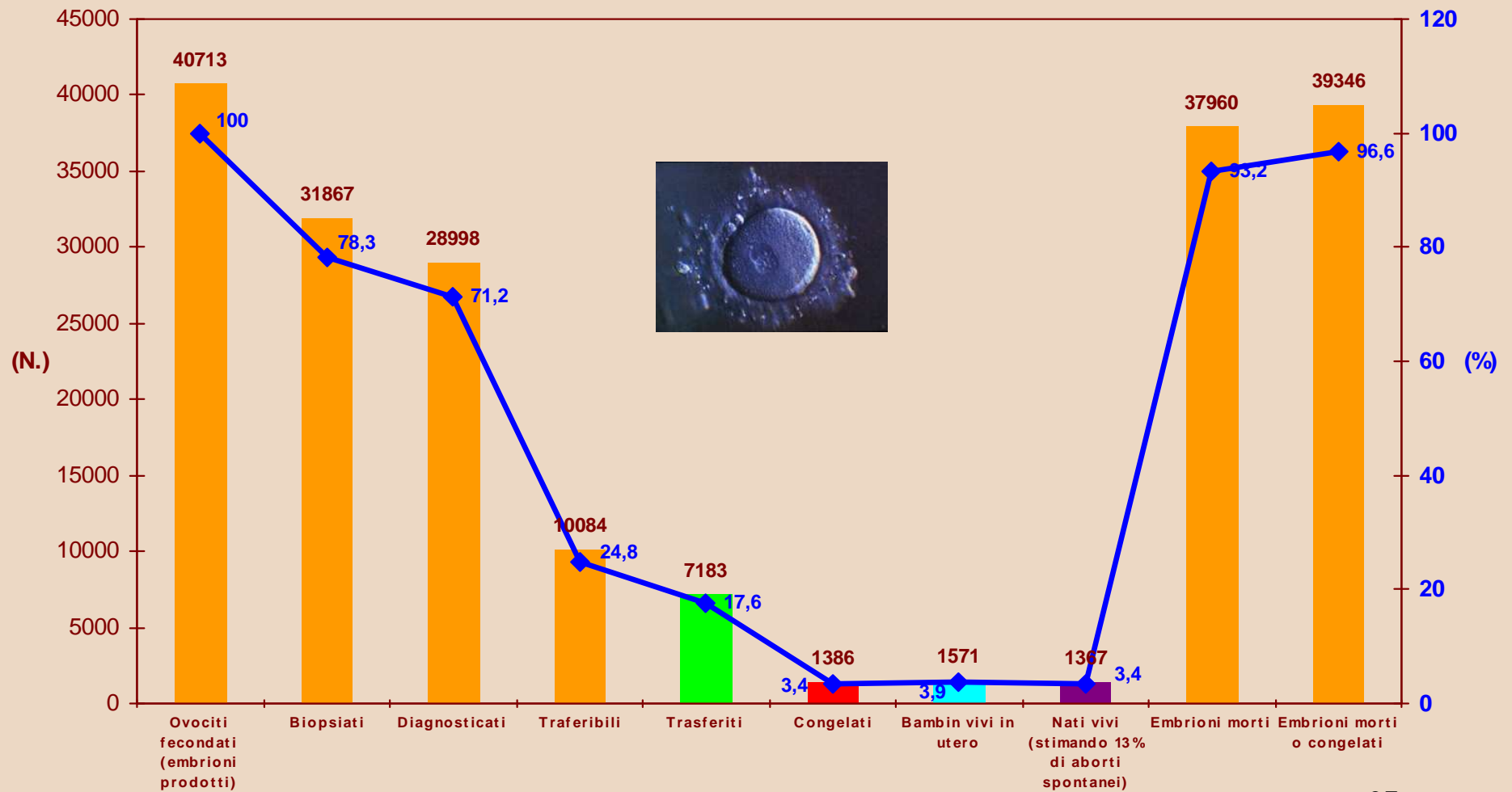
Il problema morale

- **Si dice:** “la diagnosi pre-impianto serve a dare un figlio sano alle coppie”.
- **Già, ma come?**

Una prospettiva diversa



ESHRE: Diagnosi pre-impianto (PGD) ciclo X (2007-2008)



Harper JC, et al. Hum. Repr. 2010; 25(11): 2685-2707.

Perdita embrionale fecondazione naturale vs artificiale vs artificiale con PGD

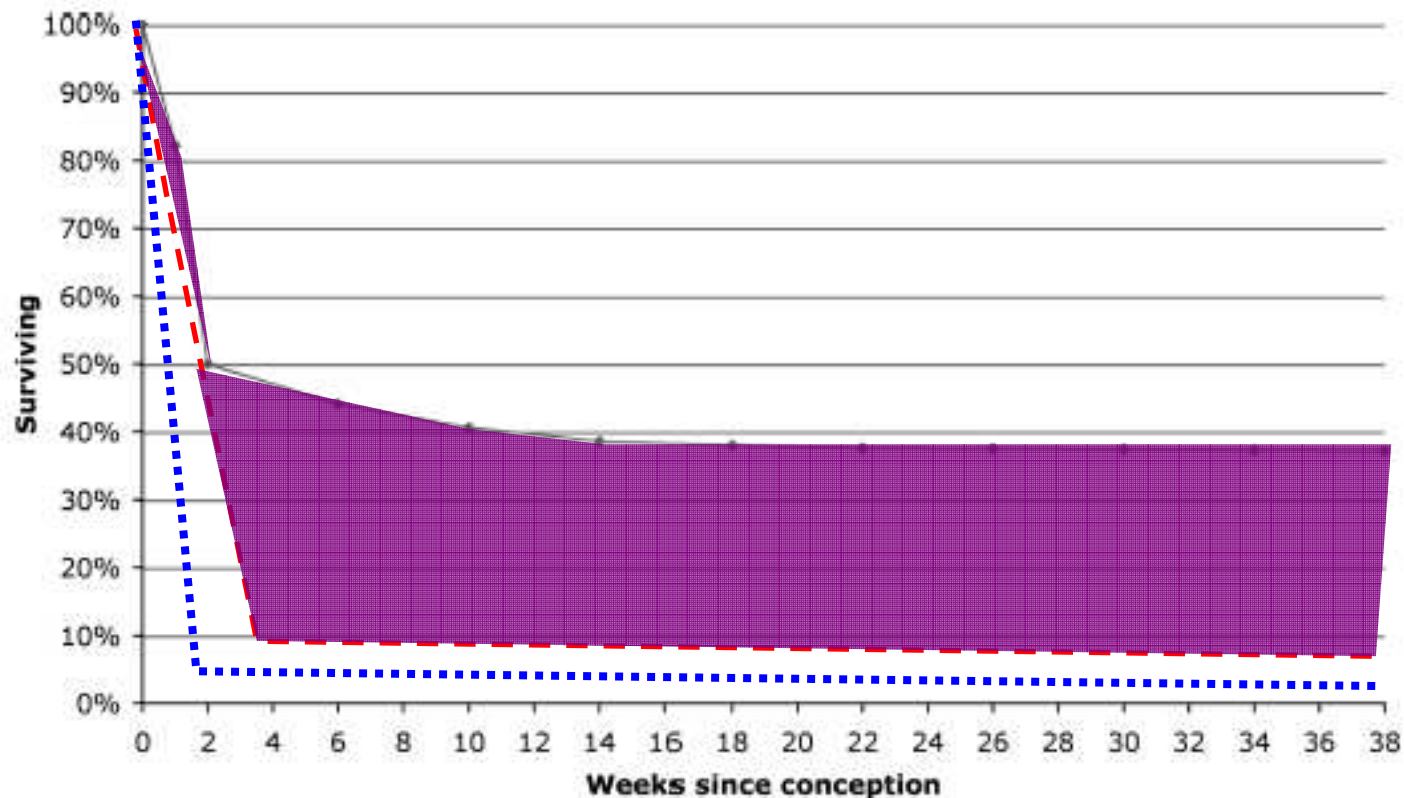
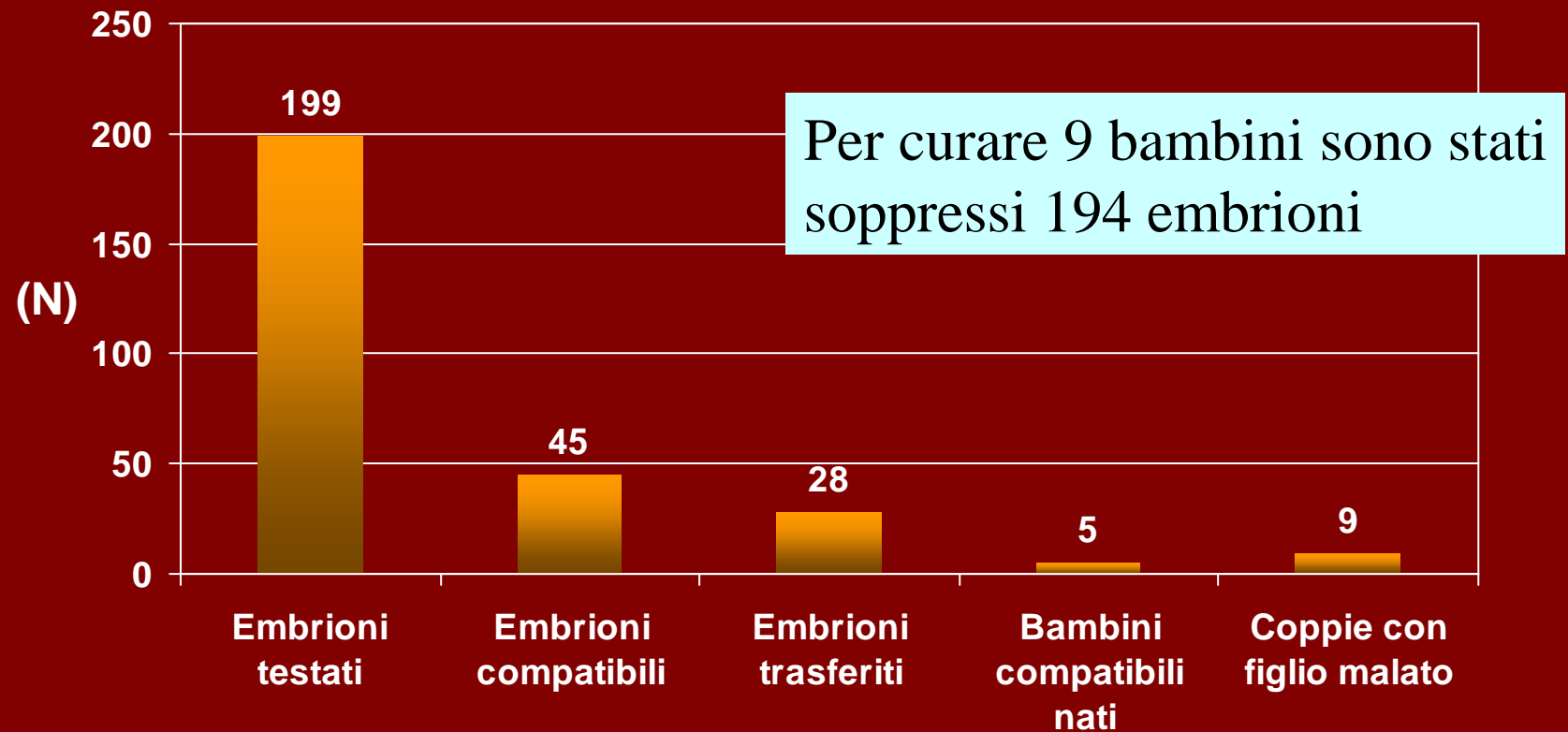


Figure 1. Intrauterine life: Graph of survival and weeks since conception.

PGD: l'uomo di ricambio

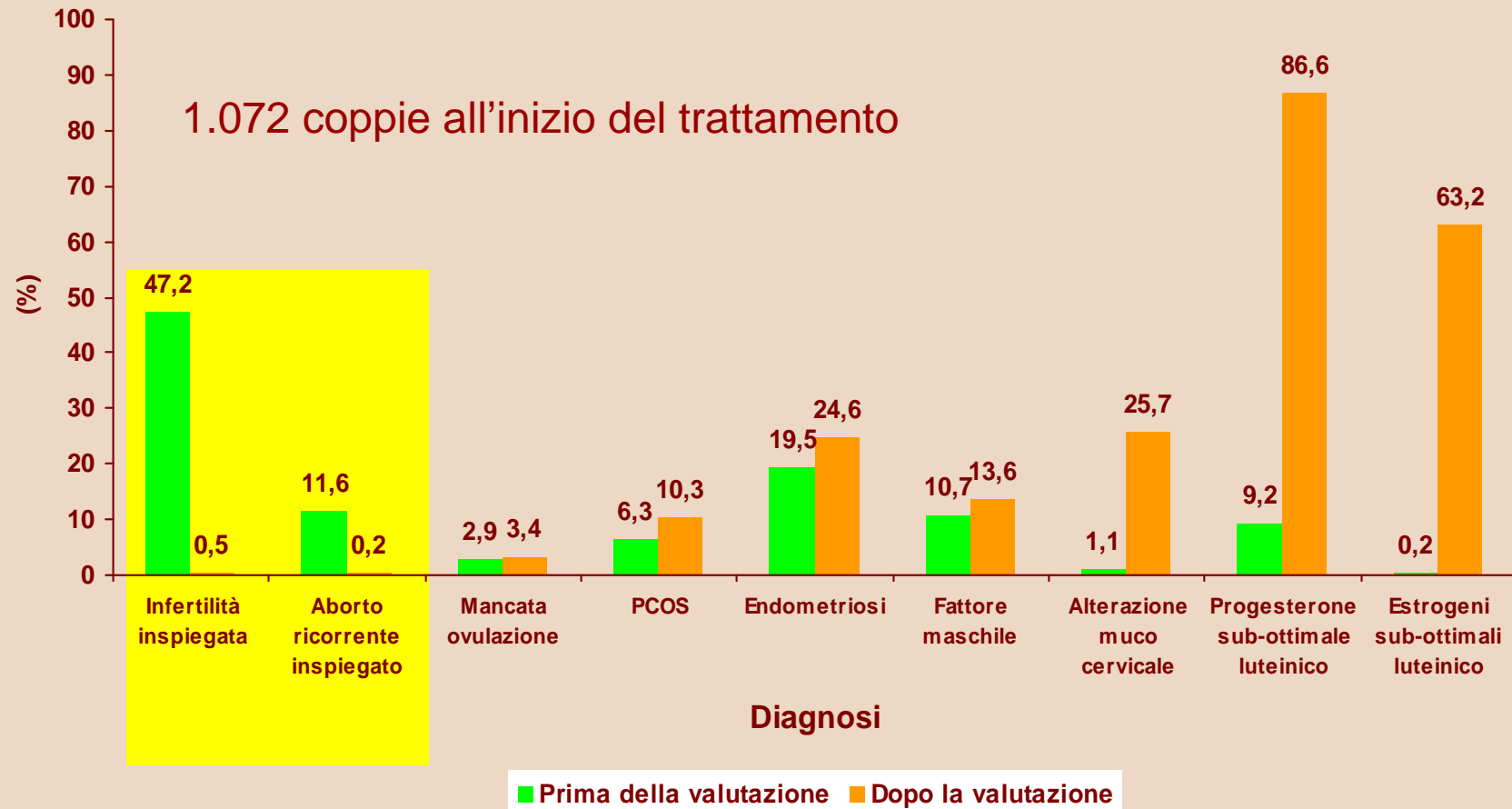
Usare la PGD per selezionare i bambini compatibili con un fratellino malato per un trapianto di midollo.



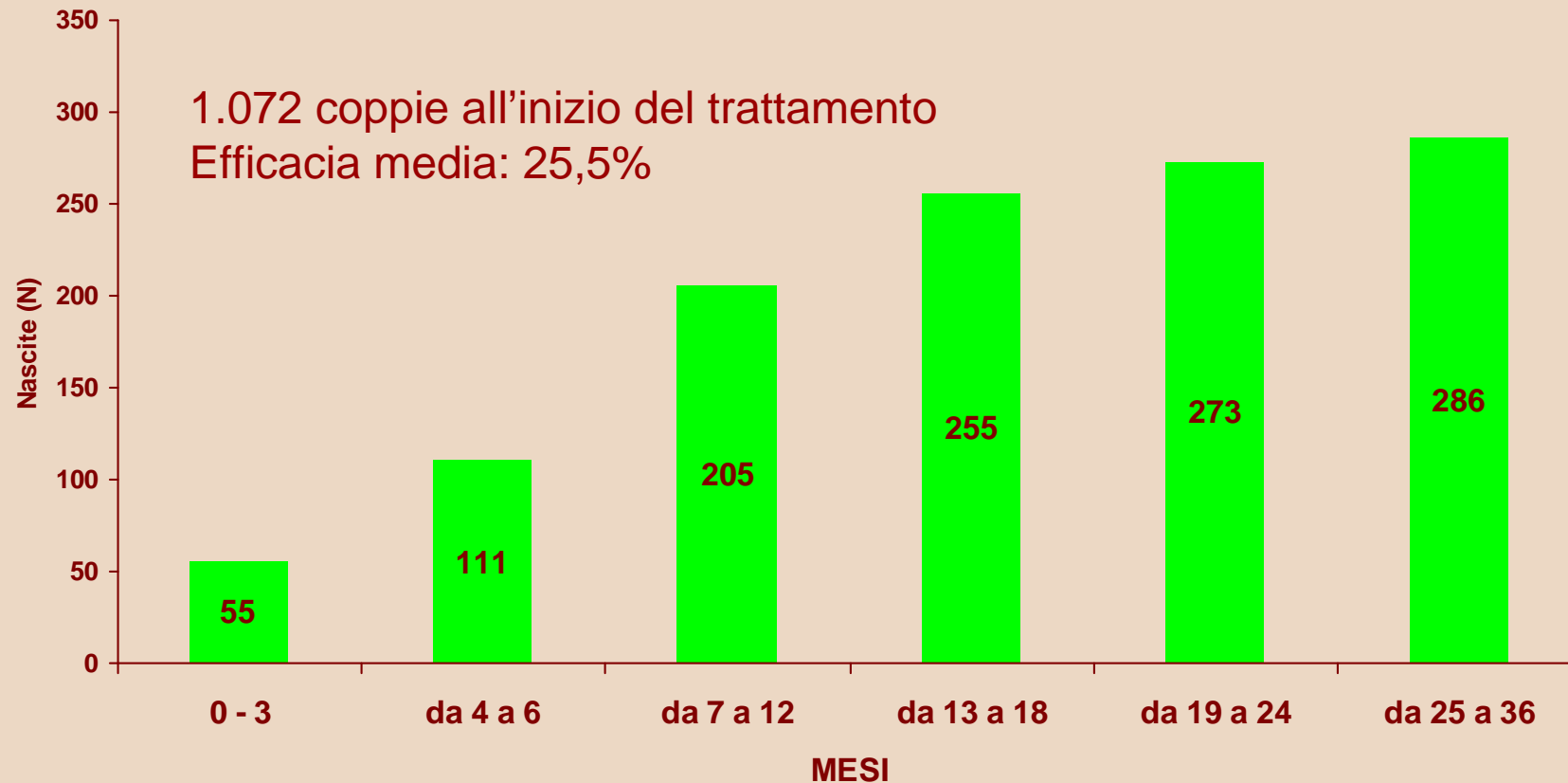
E se la coppia sceglie un'altra strada ?



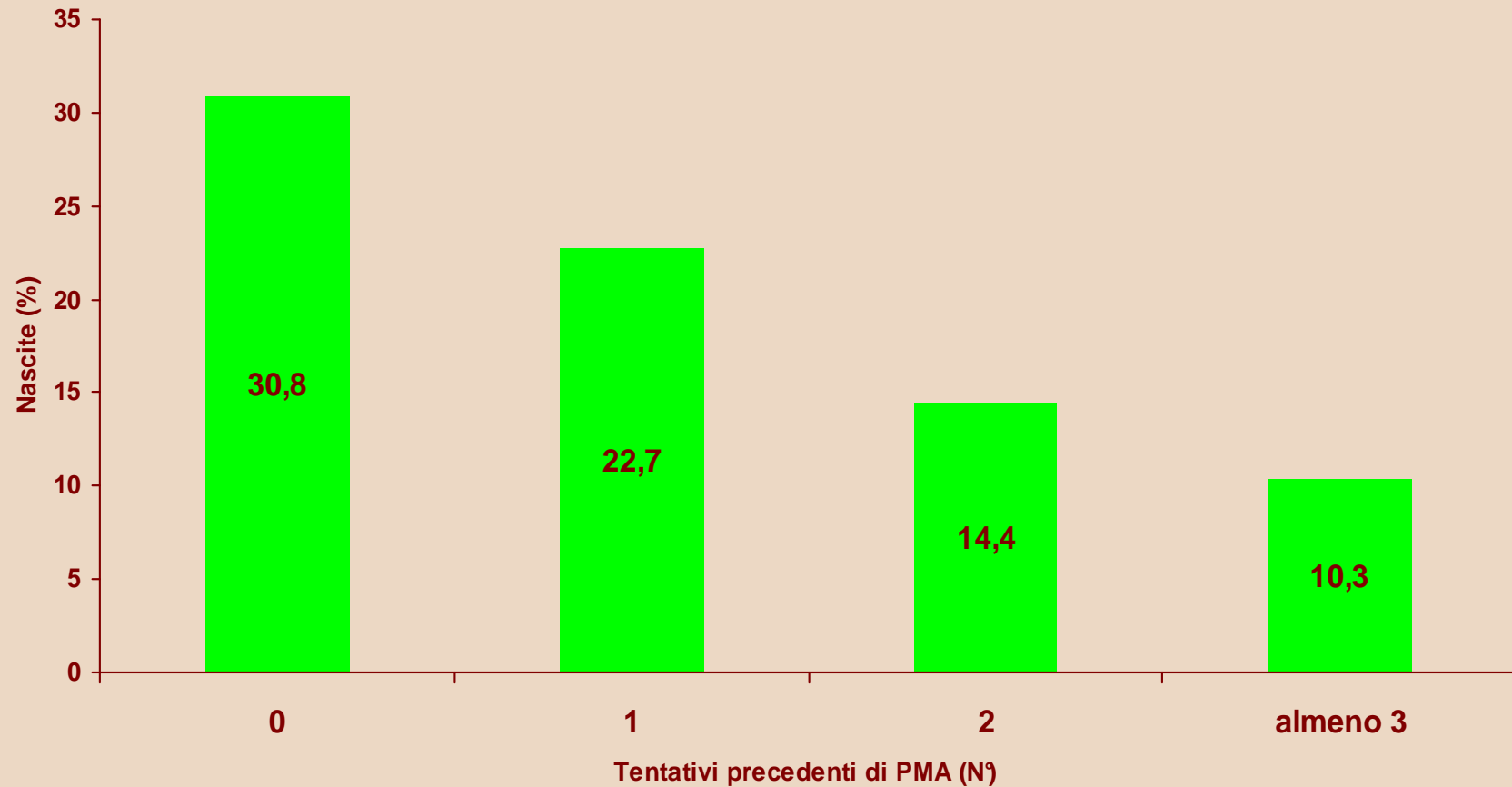
Metodi naturali efficacia nel capire il problema



Metodi naturali efficacia nel concepire



Metodi naturali: efficacia nel concepire anche quando la PMA ha fallito



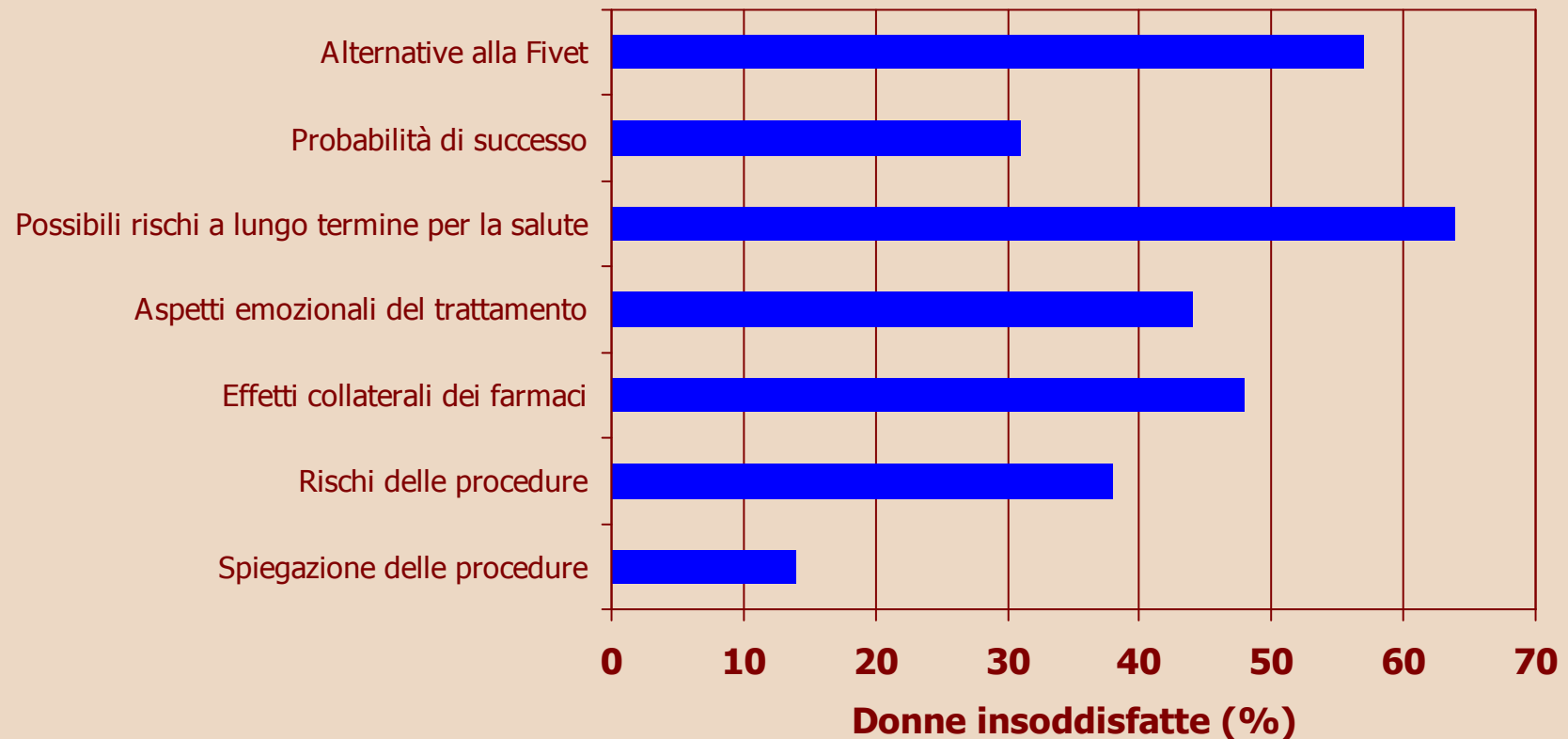
Eppure l'informazione fornita è spesso altamente insufficiente

Human Reproduction, Vol. 16, No. 2, 374-383, February 2001
© 2001 European Society of Human Reproduction and Embryology

Women's experience of IVF: a follow-up study

K. Hammarberg^{1,4}, J. Astbury² and H.W.G. Baker³ 1 Melbourne IVF, 320 Victoria Pde, East Melbourne, 3002, 2 Key Center for Women's Health in Society, Faculty of Medicine, Dentistry & Health Sciences, University of Melbourne, Carlton, 3053 and 3 University of Melbourne, Department of Obstetric and Gynecology, Royal Women's Hospital, Grattan Street, Carlton, 3053, Australia

Soddisfazione sulle informazioni ricevute a 2 anni dalla procedura



Hammarberg K, Astbury J, Baker H.
Women's experience of IVF: a follow-up study.
Hum Reprod. 2001 Feb;16(2):374-83.



- «Vennero da me perché desideravano avere un figlio. Erano sulla quarantina, benestanti, di Roma. L'età della coppia e le loro caratteristiche biologiche non permisero di ottenere in laboratorio che un solo embrione. Era però quello che io classificavo come un embrione “brutto”, cioè con caratteristiche non idonee per essere trasferito in utero. Se non fosse stata quella l'unica chance per esaudire il loro desiderio, non avrei mai proposto loro di provare. Embrioni simili, non avevo mai esitato a cestinarli. Oggi quell'embrione ha 13 anni, si chiama Marco ed è sano come un pesce».



- «Ero un allievo di Vincenzo Traina che mi insegnò la Fiv e, su sua indicazione, fondai nel 1989 il centro di procreazione assistita nel capoluogo pugliese. Si era in pochi allora, soprattutto nel meridione e la gente arrivava a frotte. Anche perché fummo fra i primi a praticare la fecondazione in tempi in cui pochi conoscevano questo tipo di procedura e si limitavano all'inseminazione». Piccinni rammenta il **delirio di onnipotenza** di quei giorni, l'illusione di sentirsi migliori della natura, la sbornia che ti prende la testa quando hai tra le mani la soddisfazione di un bisogno altrui. «**Ritenevo di fare del bene**. Credevo di essere buono perché fornivo dei figli a persone che non potevano averne».



- Poi capitò l’embrione Marco e Piccinni, tormentato da un po’ di tempo dallo sprone del dubbio, si ricredette: «Mi resi conto che quell’embrione che tutta la mia scienza avrebbe scartato e destinato alla distruzione, poteva invece arrivare ad essere un bambino. E pensai: **quanti Marco ho buttato via fino ad oggi?**». Uno Shakespeare moderno affermerebbe che “ci sono più cose in cielo e in terra che nella tua provetta, Orazio”. È il 1996, Piccinni abbandona la Fiv. «Mi costò fatica. Fatica economica, intendo. Si guadagnava molto, come avviene ancora oggi. I sostenitori della Fiv non mi imbrogliano con i loro propositi umanitari. Io so cos’è: un’ industria che funziona sulla domanda e sull’offerta. Si pensa di iniziare l’esistenza, ma **il laboratorio è una fabbrica che produce morte, non solo vita**».



- **PEGGIO DELL'ABORTO**
- «In questo senso la Fiv, per numero di vite soppresse, è indubbiamente peggiore della interruzione di gravidanza. Spesso le pazienti non conoscono questo dato, così come l'aumento dal 2 al 6 per cento delle malformazioni».



Grazie!

Renzo Puccetti

Carpi, 1 Dicembre 2011

**Pratiche di fecondazione assistita e
ricerca sull'embrione umano**