

Incontri del Martedì - Padova, 16 marzo 2010

## *Procreazione Medicalmente Assistita*

### *Esami diagnostici e trattamenti*

*Dott. A. Serena*



# Alcune definizioni

## **STERILITÀ:**

**incapacità di concepire dopo almeno 12 mesi di rapporti sessuali non protetti (tempo ridotto a 6 mesi nei soggetti di età più avanzata)**

## **INFERTILITÀ:**

**incapacità di portare a termine una gravidanza**



## **STERILITÀ PRIMARIA:**

**nessuna gravidanza in precedenza**

## **STERILITÀ SECONDARIA:**

**gravidanza/e precedente/i  
(dallo stesso/altro partner?)**

Tasso di fecondità  
mensile nel genere  
umano: 20-25%

# Anamnesi

È importante soprattutto per:

- Valutare la presenza di cicli ovulatori (RQD)
- Precedenti gravidanze:  
possibile esclusione (almeno teorica) di alcune condizioni
- Identificare possibili patologie associate
- Segni e sintomi indicativi
- Possibili disturbi andrologici
- Figli avuti precedentemente:  
possibile esclusione (almeno teorica) di alcune condizioni

Al colloquio  
(almeno il 1° )  
dovrebbero essere  
presenti **entrambi i  
partners**

♀

♂

**Va sempre indagato se la coppia ha o non ha rapporti con una certa regolarità e in caso contrario ne andrebbero accertate le cause o le ragioni**



## QUALI ACCERTAMENTI ?

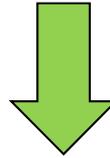
Nelle coppie che si rivolgono ad un centro di PMA è fondamentale ricordare che:

- **La diagnosi è anche funzionale al trattamento**
- **Il fattore tempo può risultare fondamentale**





QUALI ACCERTAMENTI SONO  
NECESSARI ?



Una **lunga lista di esami** sono stati considerati di aiuto nell'inquadramento diagnostico di una coppia sterile

La necessità e l'utilità nel prescrivere questi esami e nel correggere eventuali anomalie da essi evidenziati, molte volte, non sono state dimostrate

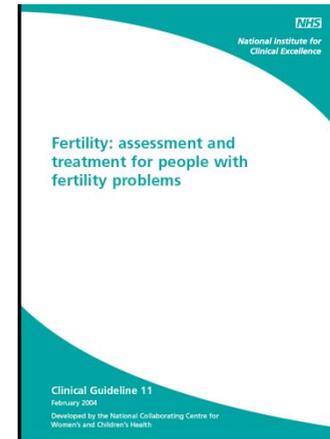
**Non c'è accordo unanime riguardo a quali accertamenti eseguire**

QUALI ACCERTAMENTI ?



LINEE GUIDA INTERNAZIONALI

***ASSESSMENT AND TREATMENT FOR PEOPLE WITH FERTILITY PROBLEMS***  
developed by the National Collaborating Centre for Women and Children's Health on behalf of the National Institute for Clinical Excellence (NICE)  
February 2004



Recommendation grade	Evidence
A	Directly based on category I evidence
B	Directly based on: <ul style="list-style-type: none"> <li>category II evidence, or</li> <li>extrapolated recommendation from category I evidence</li> </ul>
C	Directly based on: <ul style="list-style-type: none"> <li>category III evidence, or</li> <li>extrapolated recommendation from category I or II evidence</li> </ul>
D	Directly based on: <ul style="list-style-type: none"> <li>category IV evidence, or</li> <li>extrapolated recommendation from category I, II, or III evidence</li> </ul>
Good practice point (GPP)	The view of the Guideline Development Group

Evidence category	Source
I	Evidence from: <ul style="list-style-type: none"> <li>meta-analysis of randomised controlled trials, or</li> <li>at least one randomised controlled trial</li> </ul>
II	Evidence from: <ul style="list-style-type: none"> <li>at least one controlled study without randomisation, or</li> <li>at least one other type of quasi-experimental study</li> </ul>
III	Evidence from non-experimental descriptive studies, such as comparative studies, correlation studies and case-control studies
IV	Evidence from expert committee reports or opinions and/or clinical experience of respected authorities

Adapted from Eccles M, Mason J (2001) How to develop cost-conscious guidelines. *Health Technology Assessment* 5 (16)



## Ma cos'è davvero essenziale?

3 sono i fattori basilari da indagare nel primo approccio ad una coppia che si presenta per un problema di infertilità senza evidenza chiara o documentata di patologia:

1. Indagare la presenza di cicli ovulatori ♀
2. Valutare la qualità del liquido seminale ♂
3. Accertare la pervietà tubarica ♀

## VALUTAZIONE DELL' OVULAZIONE

**Nelle donne con problemi di fertilità deve essere indagata la frequenza e la regolarità dei cicli mestruali**

- ❖ **Donne con cicli mestruali regolari** e con storia di infertilità di durata superiore ad un anno dovrebbero essere sottoposte a **dosaggio ematico del progesterone nella fase medio-luteale del ciclo mestruale** (dal giorno 21° al 28° del ciclo) per confermare l'ovulazione.
- ❖ **Donne con cicli mestruali prolungati** dovrebbero essere sottoposte a **dosaggio plasmatico del progesterone** da eseguire, a seconda della durata del ciclo mestruale, dal 28° al 35° giorno del ciclo e da ripetere settimanalmente fino alle mestruazioni successive.
- ❖ **Donne con cicli mestruali irregolari** dovrebbero essere sottoposte a **dosaggio ematico delle gonadotropine** (FSH e LH).



## VALUTAZIONE DELL' OVULAZIONE

**In pratica nelle donne in cui si sospetta assenza o alterazione dell'ovulazione si esegue un cosiddetto **'CICLO DI CONTROLLO'****

- ❖ La paziente annuncia le mestruazioni
  
- ❖ Si eseguono dosaggi seriatî di: **Estradiolo, LH, Progesterone**
  1. La prima volta pochi giorni prima della presunta ovulazione (valutata in base ai cicli precedenti)
  2. A seguire fino all'identificazione del picco di LH e/o all'aumento del Progesterone
  3. Si dosa il Progesterone circa 9-10 giorni dopo il picco ovulatorio

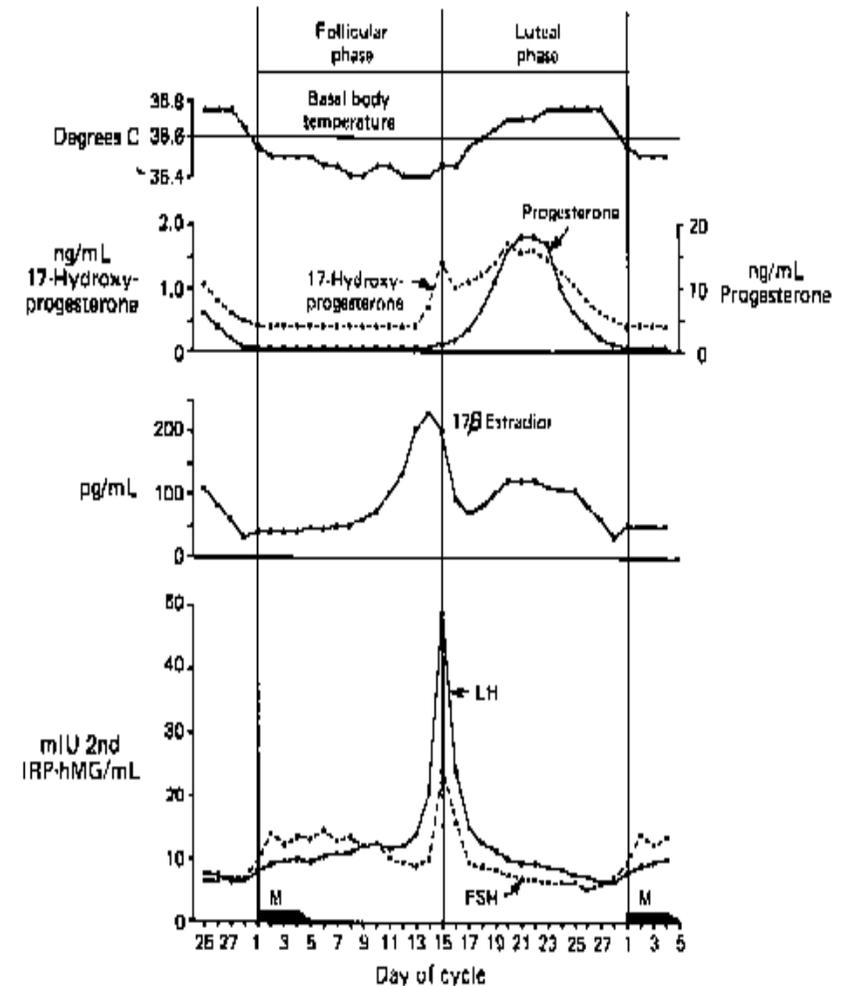
## VALUTAZIONE DELL'OVULAZIONE

- valutazione dell'ovulazione mediante **ciclo di controllo**



dosaggi seriati di **17  $\beta$  estradiolo**, **progesterone** ed **LH**, individuazione del picco ovulatorio e studio della fase luteale

- valutazione dell'ovulazione mediante dosaggio del **progesterone in fase medio-luteale** del ciclo mestruale (dal 21° al 28° giorno)



## ALCUNI VALORI 'INDICATIVI'

- Estradiolo:** all'inizio del ciclo (al 3° giorno)  $<0.20/0.25$  nmol/L  
aumenta prima del picco ovulatorio in genere oltre 1 nmol/L  
!! Livelli eccessivamente bassi (Menopausa? Ipogonadismo?)  
!! Livelli elevati (Ciclo disovulatorio?)
- FSH:** all'inizio del ciclo (al 3° giorno) ( $<12$  UI/L di riferimento per PMA)  
valori bassi indicano una buona riserva ovarica  
!! Livelli elevati o eccessivamente bassi (Menopausa?)
- LH:** all'inizio del ciclo è basso ( $<$  dell'FSH di norma)  
i livelli al picco ovulatorio sono elevati (in genere  $>20$  UI/L)  
!!Inversione rapporto FSH/LH nella PCO
- Progesterone:** livelli bassi prima dell'ovulazione  
livelli alti in seguito (in genere  $>20$  nmol/L)

## VALUTAZIONE DEL LIQUIDO SEMINALE

WHO 1999

Parametri seminali standard	Range di normalità
Volume seminale	> 2 ml
pH	> 7,2
Concentrazione spermatozoi	> 20 x 10 <sup>6</sup> /ml
N° totale	> 40 x 10 <sup>6</sup> /eiaculato
Motilità (%)	> 50% con motilità progressiva (grado a e b) o > 25% con motilità rapidamente progressiva (grado a)
Morfologia (%)	> 30% forme normali
Vitalità (%)	> 50%
Leucociti	< 1 x 10 <sup>6</sup> /ml
Immunobead test o MARtest	< 50% spermatozoi mobili con bead adese < 50% spermatozoi con particelle adese



**!!! 3 spermiogrammi servirebbero per fare diagnosi**

**!!! N° spermatozoi vitali dopo capacitazione soprattutto per il tipo di tecnica da utilizzare**

## VALUTAZIONE DEL FATTORE TUBARICO



**I RISULTATI DELL'ANALISI DEL LIQUIDO SEMINALE E DELLA VALUTAZIONE DELL'OVULAZIONE DOVREBBERO ESSERE NOTI PRIMA DI INTRAPRENDERE UNA VALUTAZIONE DELLA PERVIETA' TUBARICA (NON CONDIVISO DA TUTTI)**

❖ Donne in cui non sembrano esserci co-morbidity (storia di PID, precedenti GEU o endometriosi)

**Isterosalpingografia (HSG)** per lo screening della pervietà tubarica, perché è un test affidabile nella diagnosi di occlusioni tubariche ed è meno invasivo della LPS

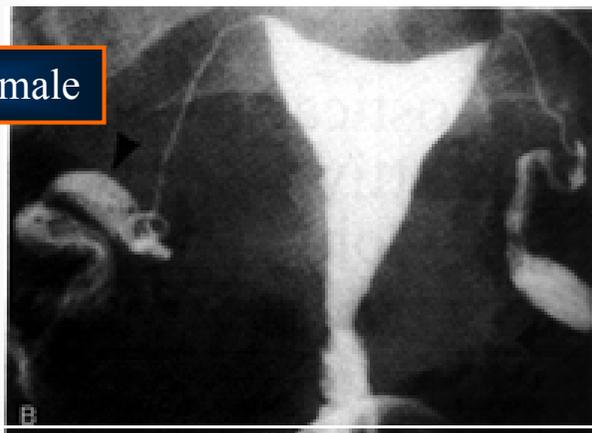
**Sonoisterosalpingografia (SHG)**, in mani esperte è una valida alternativa alla HSG nelle donne in assenza di co-morbidity

❖ Donne con co-morbidity

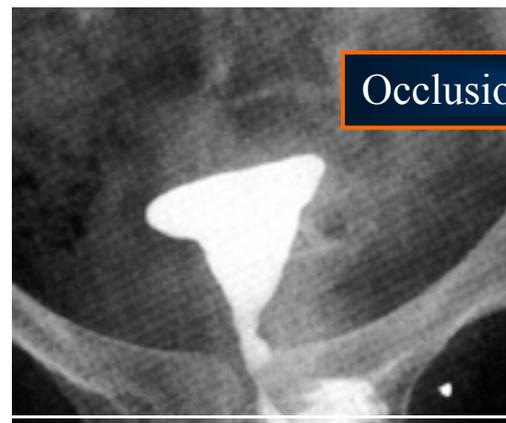
**Laparoscopia (LPS)** che consente di valutare sia le tube che la presenza di altre patologie pelviche

# Isterosalpingografia

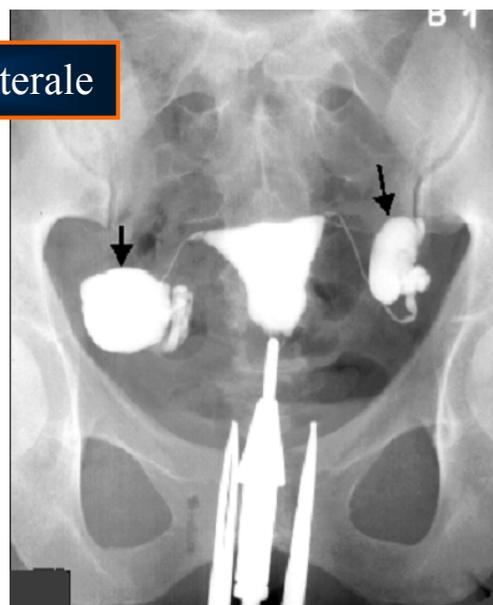
Quadro normale



Occlusione tubarica bilaterale



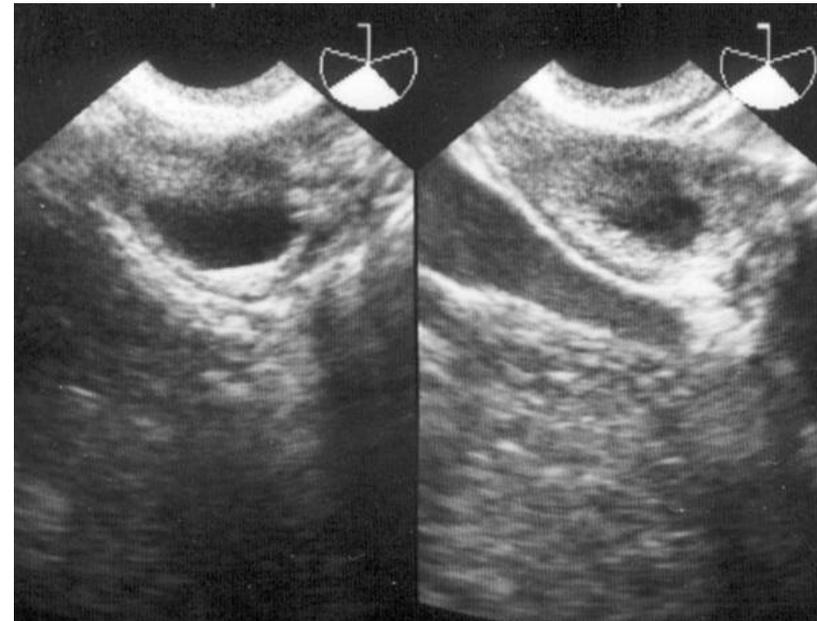
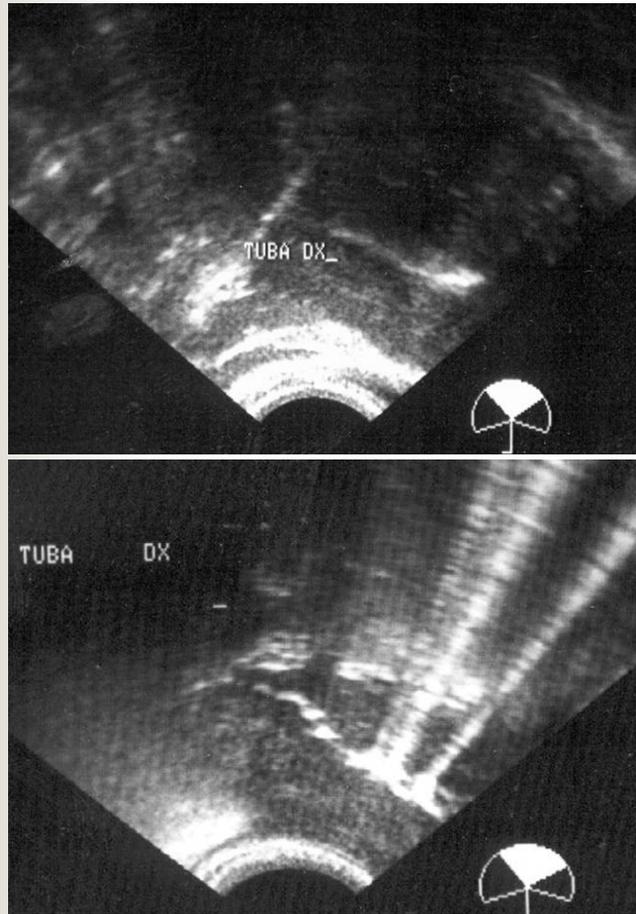
Sactosalpinge bilaterale



Utero bicornue



# Sonoisterosalpingografia



-Soluzione salina

-Aria

-Echovist:

microbolle stabilizzate da cristalli di galattosio

-Levovist:

microbolle stabilizzate da cristalli di galattosio e acido palmitico



## ALTRE VALUTAZIONI

Altri accertamenti necessari per la coppia che si presenta per un problema di sterilità:

1. Esami complementari o di approfondimento: necessari per stabilire la diagnosi
2. Esami necessari per stabilire il tipo di trattamento più opportuno
3. Esami necessari per accertare le condizioni della paziente che deve essere sottoposta a procreazione medicalmente assistita



## Esami complementari o di approfondimento

- Ecografia ginecologica** ←
- Test di funzionalità ovarica** ←
- Tampone vaginale ed endocervicale** con ricerca di Chlamydia e Mycoplasmi ←
- Esami per ricercare anticorpi autoimmuni:**  
Ac anticardiolipina, anti  $\beta$ 2glicoproteina I, anti nucleo, LAC
- Fx tiroidea:**  
FT4, TSH, Ac antitireoglobulina, Ac antiperoxidasi tiroidea
- PRL basale** (ed eventualmente a 30')
- Isteroscopia diagnostica**
- Cariotipo e test per la Fibrosi Cistica**
- Anticorpi anti Helicobacter Pylori e Anticorpi anti Chlamydia Trachomatis sierici**
- Test del muco cervicale**



## Esami utili per definire anche il tipo di protocollo e il dosaggio farmacologico

### -Test di funzionalità ovarica:



Esami da eseguirsi tra 3° e 5° giorno del ciclo:

FSH, LH, 17  $\beta$  estradiolo

Eco pelvica TV con conta dei follicoli antrali

Inibina B/AMH

Bilancio PCO: DHEA-S,  $\Delta$  4 androstenedione, testosterone libero

### -OGTT

## VALUTAZIONE DELLA RISERVA OVARICA

1. **DOSAGGIO DEL FSH E DEL 17  $\beta$  ESTRADIOLO IN FASE FOLLICOLARE PRECOCE (3° giorno del ciclo mestruale)  $\pm$  ECOGRAFIA PER AFC**

**CUTOFF:**  
**FSH  $\leq$  12 UI/L**  
**E2  $\leq$  0,20 nmol/L**

2. **DOSAGGIO DELL'INIBINA B IN FASE FOLLICOLARE PRECOCE (3° giorno del ciclo mestruale)**

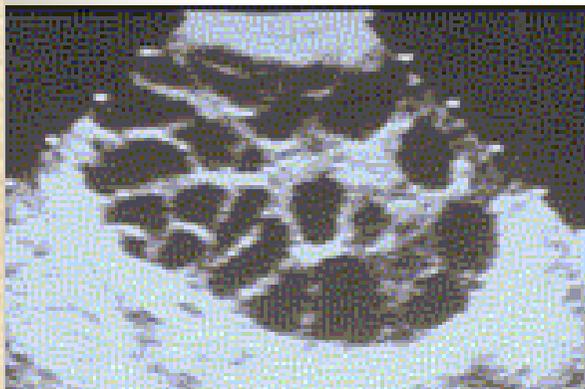
**CUTOFF: 7 ng/L**

2. **DOSAGGIO AMH (ANTI MULLERIAN HORMONE)**

**AMH: 0.7-3.5 ng/ml  $\rightarrow$  buona risposta ovarica**  
**AMH  $<$  0.7 ng/ml  $\rightarrow$  cattiva risposta ovarica**

## Bilancio PCO

↑ Rapporto LH/FSH  
↑ Testosterone libero  
↑ DHEAS  
↓ SHBG



Ecografia per conta dei follicoli antrali

17  $\beta$  estradiolo  
Progesterone  
LH e FSH  
DHEA  
DHEA-S  
 $\Delta$  4 androstenedione  
Testosterone  
SHBG

OGTT

# Interazione muco-liquido seminale

## ■ ESAMI IN VIVO:

### **Post Coital Test (PCT)**



- In fase periovulatoria
- 6-8 h dopo rapporto sessuale
- Prelievo di muco dal primo tratto del canale cervicale con siringa sterile o cannula
- Allestimento di 1 o + vetrini e analisi al microscopio (10X per ricerca spermatozoi, 40X per valutarne motilità)
- Esame di 10 campi non contigui a 40X e calcolo della media

**Score di Insler per caratteristiche muco:**  
Apertura dell'OUE; Abbondanza; Filanza (1-4 cm, 5-8 cm, >8 cm); Cristallizzazione (lineare, parziale, completa): tutti punteggi da 1 a 3

## ■ ESAMI IN VITRO:

### **Slide test o test di Miller-Kurzrok (MK)**



- Su un vetrino porta-oggetto si deposita a un estremo una goccia di liquido seminale, all'altro una goccia di muco e si copre con un vetrino copri-oggetto
- Incubazione a 37°
- Lettura a 40X a 15', 60', 120'

Si identificano 2 campi microscopici:

- ✓ Campo 1 (F1): interfaccia muco cervicale-liquido seminale
- ✓ Campo 2 (F2): adiacente a F1 nel muco cervicale



## Esami necessari per accertare le condizioni della paziente

### **-Es generali:**

Gruppo sanguigno e test di Coombs indiretto, emocromo, AST, ALT, colesterolo totale e HDL, trigliceridi, glicemia, esame urine completo  
Emoglobine anomale e resistenza osmotica eritrocitaria

### **-Sierologia:**

HbsAg, anti HCV, anti CMV rubeotest, toxotest, anticorpi anti HIV 1 e 2, TPHA e VDRL

### **-Coagulazione:**

PT, PTT, Antitrombina III, D-dimero, Proteina S, Proteina C, Resistenza alla proteina C attivata, Fattore V Leiden, Omocisteina, Variante protrombinica, Polimorfismi MTHFR

### **-Colpocitologia**

### **-Colposcopia**

### **-Visita senologica ed ecografia mammaria/mammografia**



## Esami complementari, di approfondimento o finalizzati ad accertare le condizioni del paziente

### **-Esami generali e sierologici**

Gruppo sanguigno, HbsAg, anti HCV anticorpi anti HIV 1 e 2, TPHA e VDRL

### **-Esami infettivologici:**

Spermicoltura con eventuale antibiogramma

### **-Esami ormonali**

FSH, LH, Testosterone libero, PRL, T4, TSH

### **-Esami genetici:**

Cariotipo e test di fibrosi cistica

Analisi microdelezioni del cr Y (in caso di oligozoospermia severa  $<0.5$  mil/ml- o azoospermia)

### **-Visita andrologica e ulteriori approfondimenti**



## Indicazioni ad una precoce investigazione (< 12 mesi)

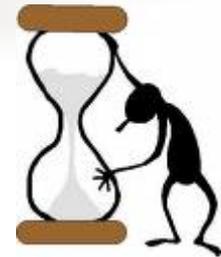
### *Partner Femminile:*

- Età > 35 anni
- Precedente gravidanza ectopica
- Patologia tubarica già nota o storia di malattia infiammatoria pelvica o malattie a trasmissione sessuale
- Amenorrea o oligomenorrea
- Presenza di fibromi

### *Partner Maschile:*

- Criptorchidismo
- Chemio – Radioterapia
- Precedente chirurgia tratto urogenitale
- Storia di malattia a trasmissione sessuale
- Varicocele

La gradualità nell'esecuzione degli accertamenti necessari spesso contrasta con l'esigenza di accelerare le tempistiche per la diagnosi, al fine di poter procedere con i trattamenti prima possibile; questo è senza dubbio fondamentale soprattutto nelle pazienti di età più avanzata



A livello pratico spesso risulta difficile procedere in modo graduale con gli esami diagnostici perché si rischia di far perdere tempo prezioso alla coppia

Si tende cioè a far eseguire subito la gran parte delle indagini di base per avere un quadro completo che consenta una diagnosi e l'impostazione del trattamento appropriato



# Quale trattamento?

- La legge prevede la gradualità nella scelta dell'approccio terapeutico
- Il primo trattamento, quando possibile, va sempre indirizzato a risolvere le possibili cause di sterilità

## Tecniche di I livello

- Rapporti sessuali mirati
- Inseminazione intrauterina (IUI)

## Tecniche di II livello

- Fecondazione in vitro con embrio transfert (FIVET)
- Iniezione intracistoplasmatica dello spermatozoo (ICSI)

## Qualche notizia sui farmaci...

### Stimolazione ormonale

**Fostimon**

(urofollitropina, FSH urinario) (sc)

**Gonal F**

(follitropina  $\alpha$ , FSH r) (sc)

**Puregon**

(follitropina  $\beta$ , FSH r) (sc)

**Meropur**

(menotropina, HMG) (sc)

**Menogon**

(menotropina, HMG) (sc)

**Pergoveris**

(follitropina  $\alpha$  + lutropina  $\alpha$ , FSH+LH) (sc)

**Luveris**

(lutropina  $\alpha$ , LHr)

### Aantiestrogenico

**Clomid**

(Clomifene citrato)

### Agonisti GnRH

(Flare-up per primi 5 gg, poi blocco ipofisario)

**Decapeptyl**

(triptorelina) 0.1 mg (sc), 3.75 mg (im)

**Gonapeptyl Depot**

(triptorelina) 3.75 mg

**Enantone**

(Leuprorelina) 3.75 mg

### Antagonisti GnRH (blocco ipofisario)

**Orgalutran** (Ganirelix)**Cetrotide** (Cetrorelix)

### Induzione dell'ovulazione

**Ovitrelle** (coriogonadotropina  $\alpha$ , HCG ricombinante)

**Gonasi HP** (gonadotropina corionica, HCG urinario)

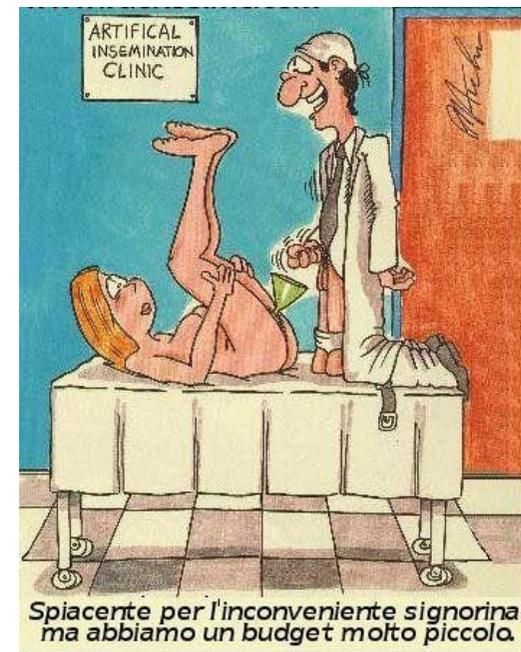
## INSEMINAZIONE INTRAUTERINA

Consiste nell'introduzione, al momento dell'ovulazione all'interno della cavità uterina, del liquido seminale capacitato mediante un catetere collegato ad una siringa

**% SUCCESSO**  
~ 15%

### *Indicazioni:*

- Oligo-astenospermia lieve-moderata
- Disturbi dell'eiaculazione
- Cause disovulatorie
- Endometriosi di grado I-II
- Sterilità cervicale
- Sterilità inspiegata

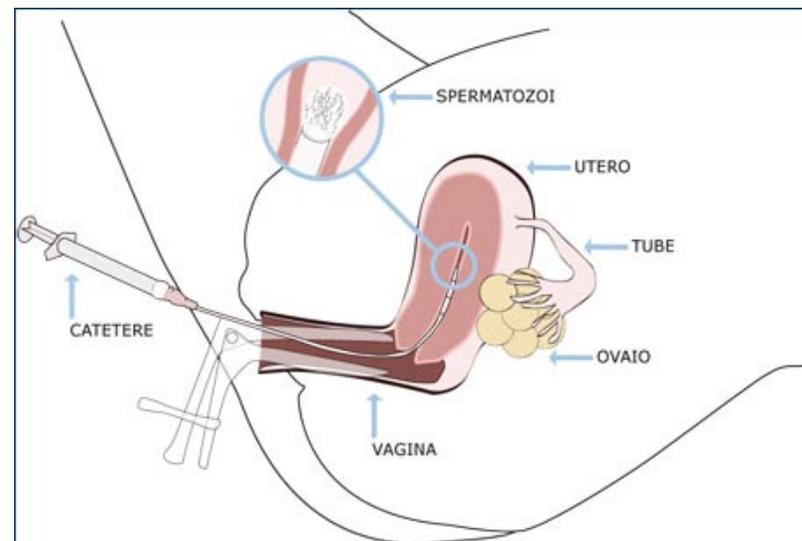


## INSEMINAZIONE INTRAUTERINA

**In genere 3 cicli (consecutivamente), si arriva fino a 6 cicli**

**Su ciclo naturale o stimolato (Clomid, hp/r FSH)**

**In caso non stia avvenendo l'ovulazione spontaneamente (su ciclo stimolato) è necessario indurre l'ovulazione somministrando hp/r HCG 32-36 h prima dell'inseminazione**





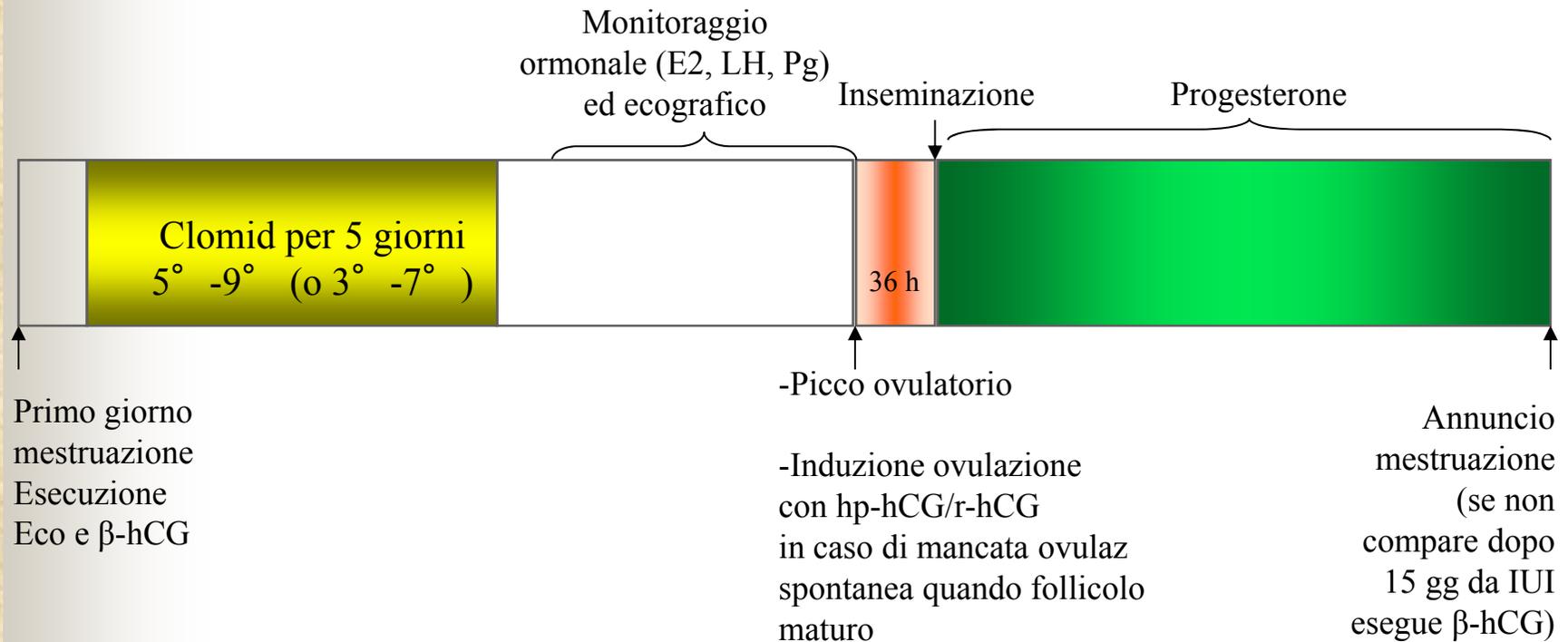
## **INSEMINAZIONE INTRAUTERINA**

### *Fasi:*

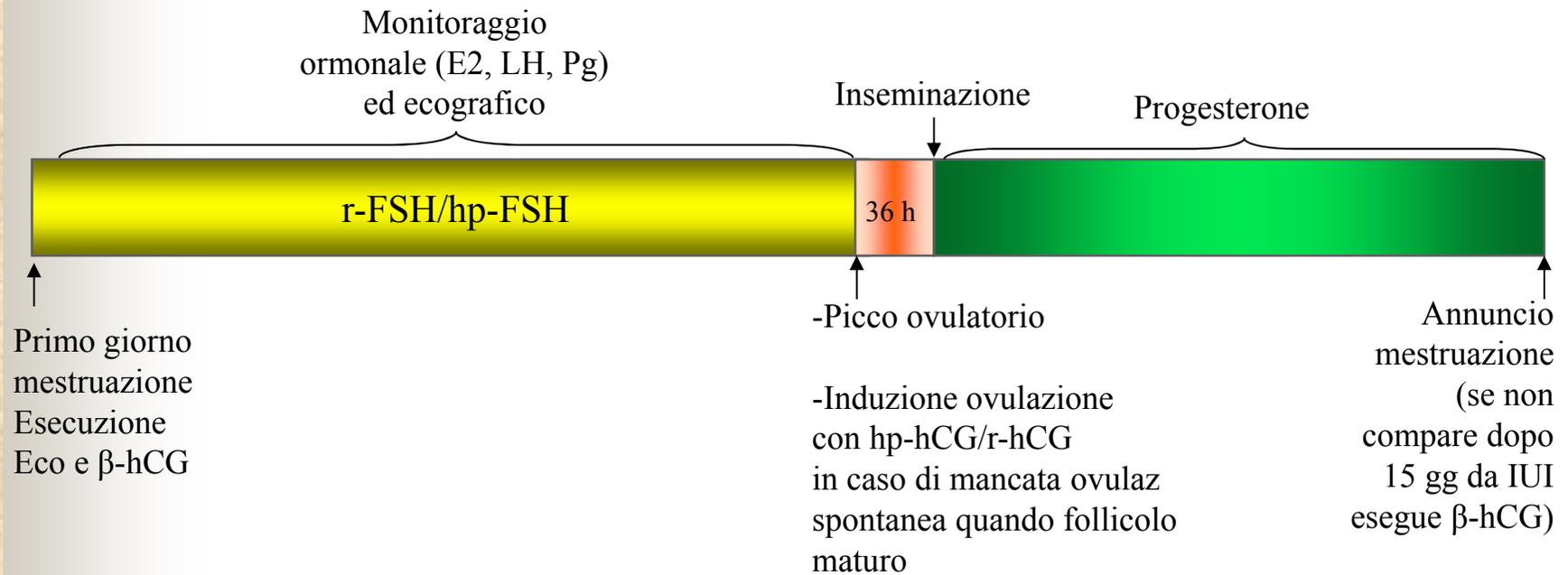
- 1. (Stimolazione ovarica) + monitoraggio ormonale/ecografico**
- 2. Induzione dell'ovulazione (se necessaria perché non spontanea)**
- 3. Pretrattamento del liquido seminale**
- 4. Inseminazione**
- 5. Sostegno luteale**

**! In caso di Rapporti sessuali mirati/Inseminazione  
il dosaggio del farmaco per la stimolazione deve essere basso perché si punta ad ottenere la  
MONO-OVULAZIONE**

## Inseminazione con Clomid



## Inseminazione con FSH





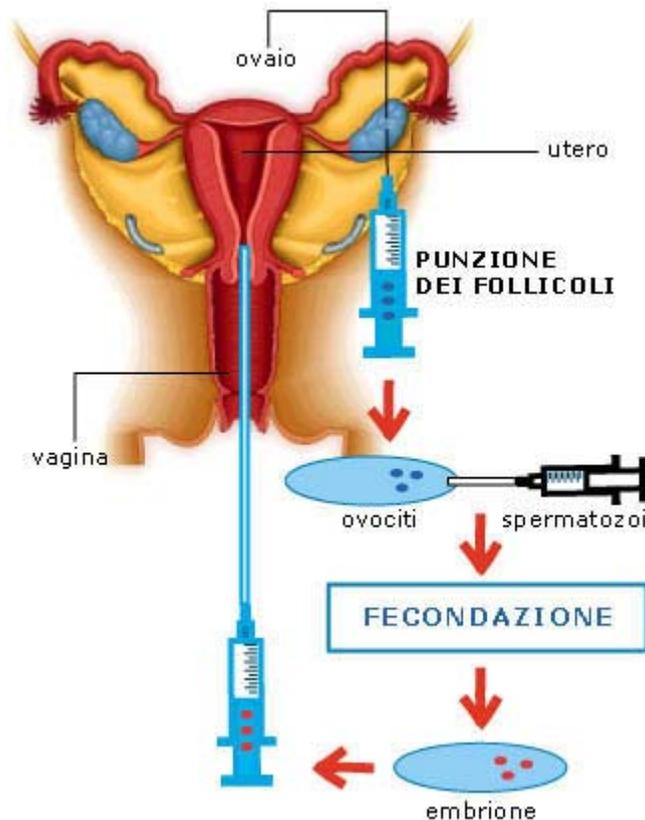
## **FIVET: Fecondazione in Vitro con Embrio-Transfer**

**Fertilizzazione in vitro degli ovociti recuperati durante il pick-up ovocitario dopo una stimolazione ovarica farmacologica e successivo trasferimento degli embrioni ottenuti in cavità uterina**

### ***INDICAZIONI:***

- **Ostruzione tubarica bilaterale**
- **Endometriosi pelvica moderata-severa**
- **OTA severa (ICSI se  $< 500$  mila spermatozoi nell'eiaculato dopo capacitazione)**
- **Fallimento IUI**

## FIVET: Fecondazione in Vitro con Embrio-Transfer



**% FECONDAZIONE**  
~ 65/75%

**% SUCCESSO**  
~ 25/30%

**! In caso di FIVET (con o senza ICSI)  
il dosaggio del farmaco per la stimolazione deve essere elevato perché si punta ad ottenere la  
CRESCITA FOLLICOLARE MULTIPLA**

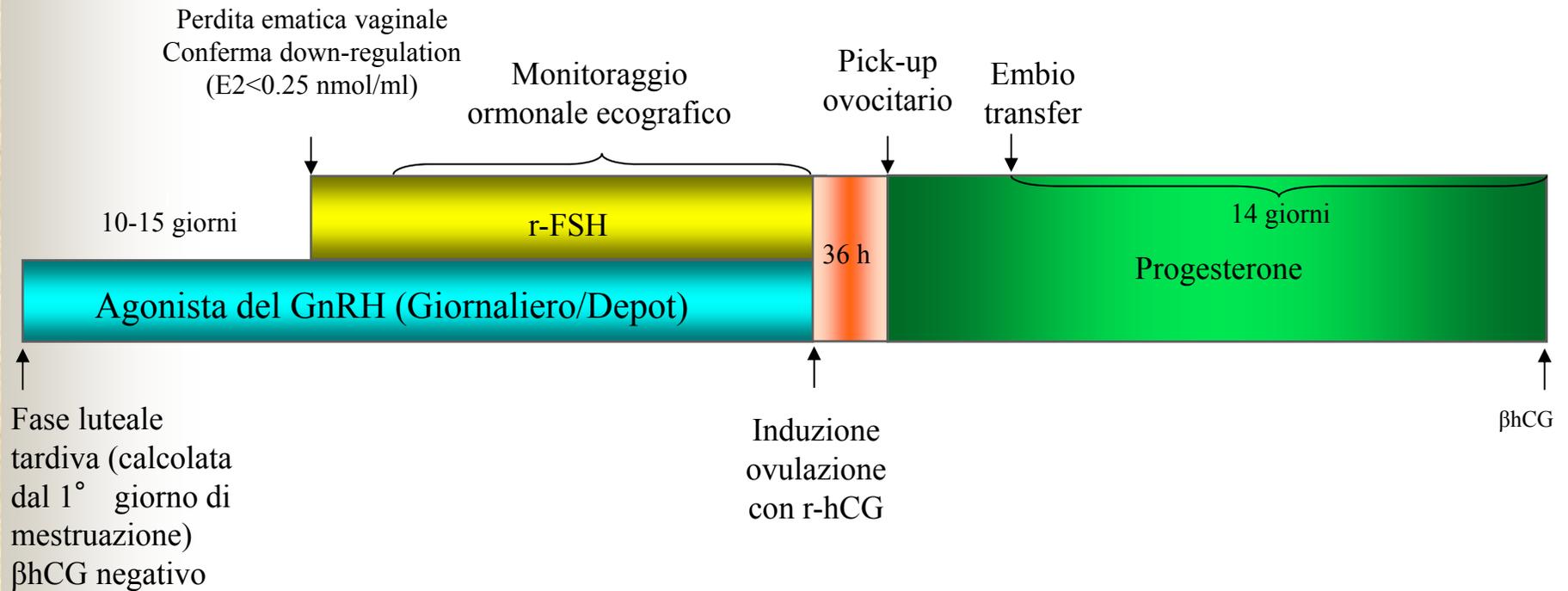


## **FIVET: Fecondazione in Vitro con Embrio-Transfer**

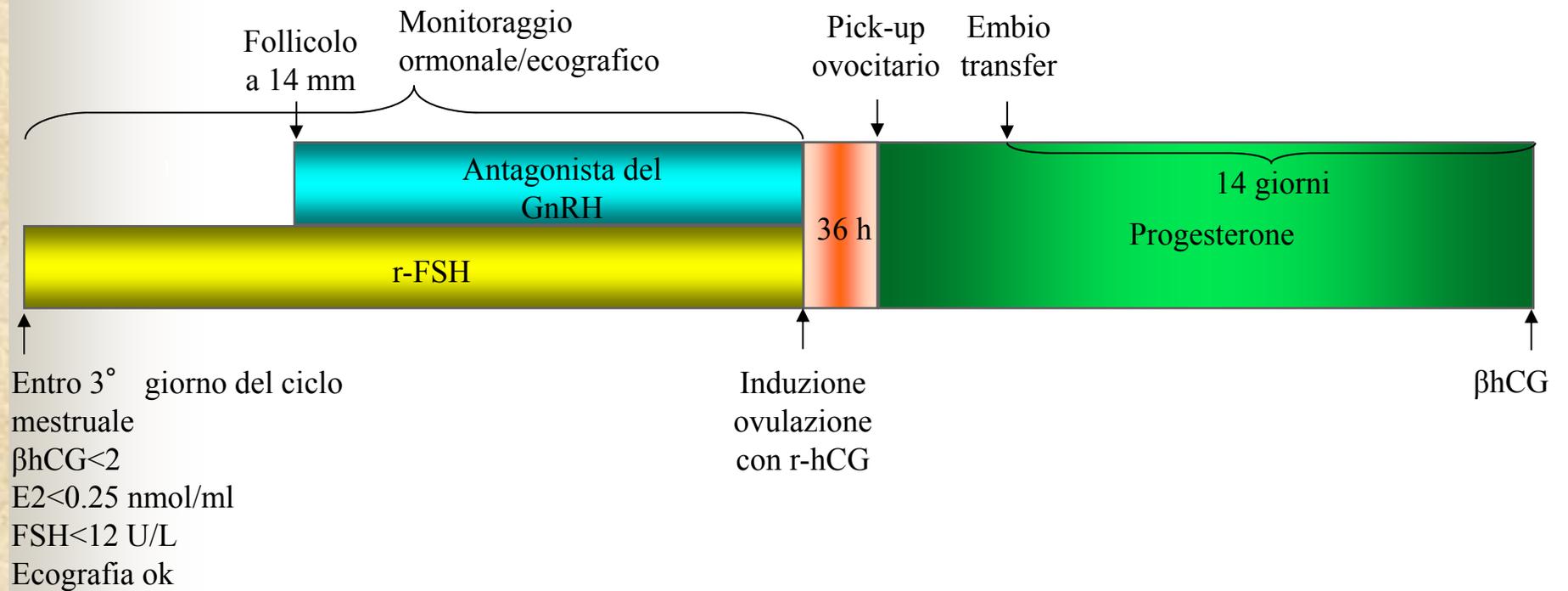
### *Fasi:*

- 1. Stimolazione ovarica e blocco ipofisario con monitoraggio ormonale/ecografico**
- 2. Induzione dell'ovulazione**
- 3. Pick-up ovocitario**
- 4. Pretrattamento del liquido seminale**
- 5. Fecondazione in vitro (FIVET/ICSI)**
- 6. Embrio transfert**
- 7. Sostegno luteale**

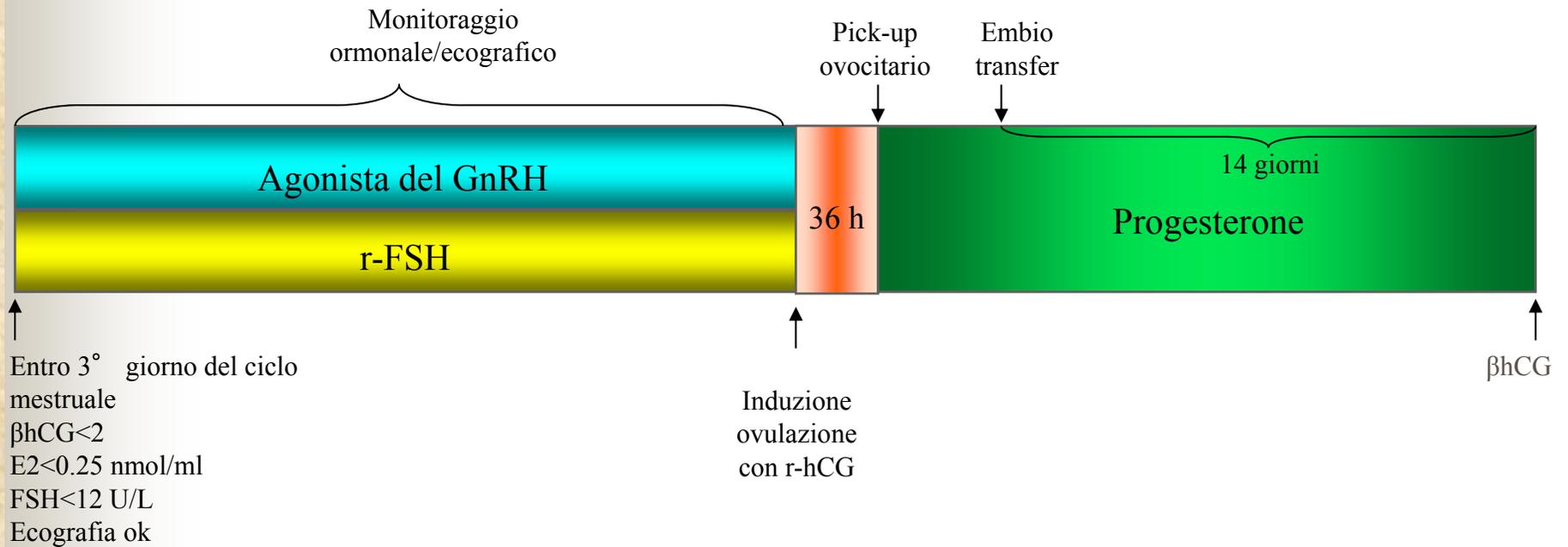
## Protocollo lungo



## Protocollo corto con antagonista GnRH



## Protocollo corto con agonista GnRH



## MICROMANIPOLAZIONE

### ICSI: Intra Cytoplasmic Sperm Injection

#### *Indicazioni*

- Sterilità maschile (< 500.000 spermatozoi capacitati nell'ejaculato)
- Utilizzo di spermatozoi congelati
- MESA= Microsurgical Epididymal Sperm Aspiration
- TESE= Testicular Sperm Extraction
- Mancata fecondazione in FIV classica



## **Alcune indicazioni...**

*Che tipo di trattamento come primo approccio?*

***In base al N° di spermatozoi vitali dopo capacitazione:***

<b><i>≥ 5 milioni/ml</i></b>	<b><i>Rapporti sessuali mirati/Inseminazione</i></b>
<b><i>≥ 1 milione/ml</i></b>	<b><i>Inseminazione</i></b>
<b><i>0.5-1 milioni/ml</i></b>	<b><i>(Inseminazione)/FIVET</i></b>
<b><i>&lt; 0.5 milioni/ml</i></b>	<b><i>ICSI</i></b>

*Che tipo di stimolazione per la fecondazione in vitro?*

***In base al valore di FSH***

<b><i>&lt; 8 UI/l</i></b>	<b><i>Ciclo lungo</i></b>
<b><i>8-12 UI/l</i></b>	<b><i>Ciclo corto</i></b>
<b><i>&gt; 12 UI/l</i></b>	<b><i>No</i></b>



## In conclusione...

- ✓ Un approccio ottimale nel management dell'infertilità richiede un metodo di investigazione adeguato che può essere impostato almeno inizialmente dal ginecologo curante
- ✓ Non esiste unanime accordo sulle indagini diagnostiche
- ✓ Posticipare un iter diagnostico in coppie che presentano uno o più fattori di rischio potrebbe comportare un ritardo ingiustificato
- ✓ I trattamenti andrebbero gestiti in centri specifici, in modo da garantire un monitoraggio costante e adeguato della paziente

Buona giornata e buon lavoro a tutti....

