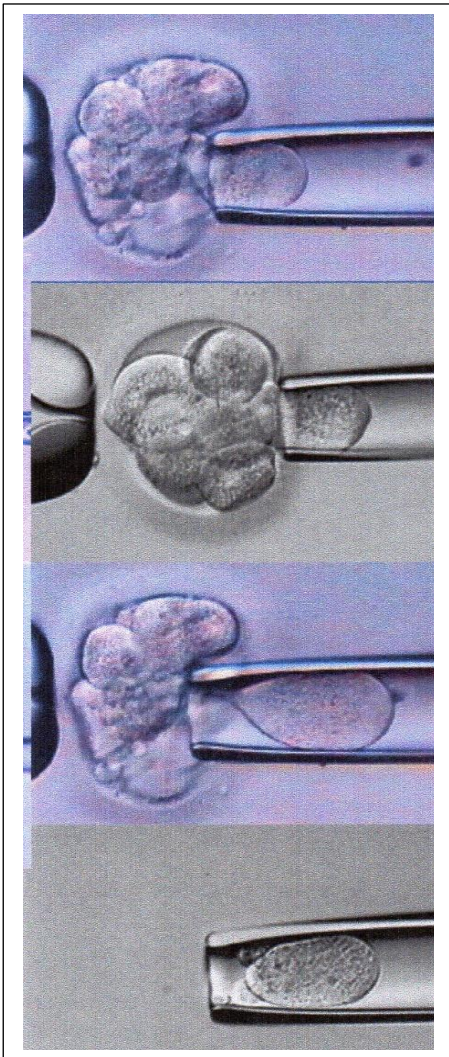


Diagnosi Pre-Implanto

19

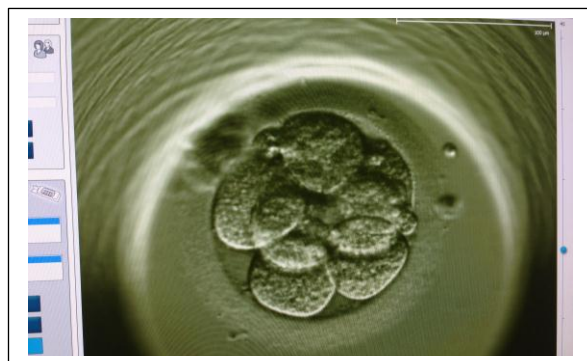
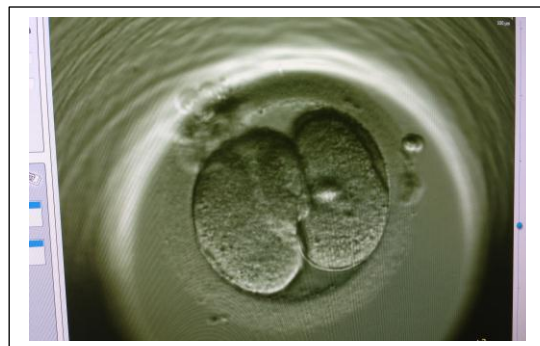


Viene eseguita in base ad una precisa indicazione presente nella coppia.

Può essere effettuata in terza giornata di sviluppo dell'embrione o quando questi è allo stadio di blastocisti.

Come si può osservare nelle immagini, viene prelevata una cellula (blastomero) e fatto esaminare.

Riscontrata l'assenza di patologie che hanno portato alla indicazione della diagnosi pre-impianto, si procede al transfer di questi embrioni.

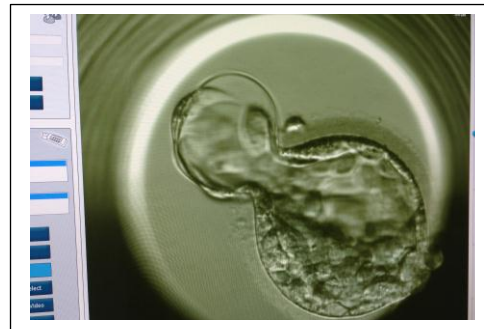
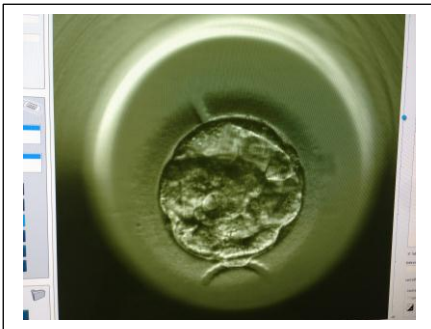


Con l'avanzare dell'età, soprattutto materna, aumenta la percentuale di anomalie cromosomiche che porta ad una riduzione delle possibilità di successo. La diagnosi pre-impianto, permette di trasferire embrioni privi di anomalie cromosomiche, quindi aumentare le possibilità di successo ed evitare tutte le problematiche personali e sociali che la scoperta durante la gravidanza può comportare.

Hassisted Hatching Laser

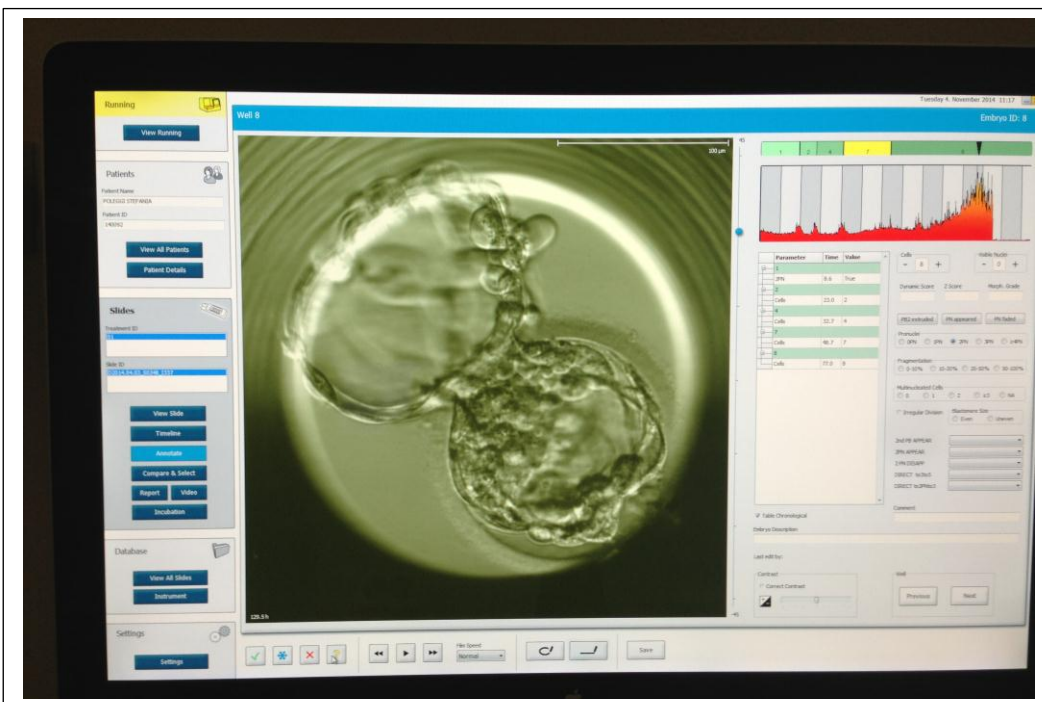
Molti Centri eseguono l'Assisted Hatching ; questa tecnica permette con il laser, di effettuare delle incisioni nella zona pellucida dell'embrione o della blastocisti per facilitare lo sguscio della blastocisti e quindi l'impianto. Nell'immagine in basso a sinistra, si possono osservare le due incisioni effettuate con il laser alle ore 11,00 lineare ed alle ore 06,00 semicircolare. Attraverso una di queste due aree avviene lo sguscio della blastocisti.

20



Secondo alcuni Autori la presenza di una zona pellucida maggiormente resistente, impedirebbe lo sguscio della blastocisti determinando così il mancato impianto.

In molti Centri, lo sviluppo dell'Embrione viene controllato e monitorato continuamente (24 ore su 24) grazie all'**Embryoscope**. Strumento che permette di valutare la divisione cellulare, i tempi, le modalità in cui questa si è verificata ed il metabolismo di ogni singolo embrione. Come si può osservare nell'immagine sottostante nel grafico in alto a destra il metabolismo di quell'embrione dal momento della microiniezione allo stadio di blastocisti. Viene registrato tutto quello che avviene nei suoi primi 5 giorni.



Transfer

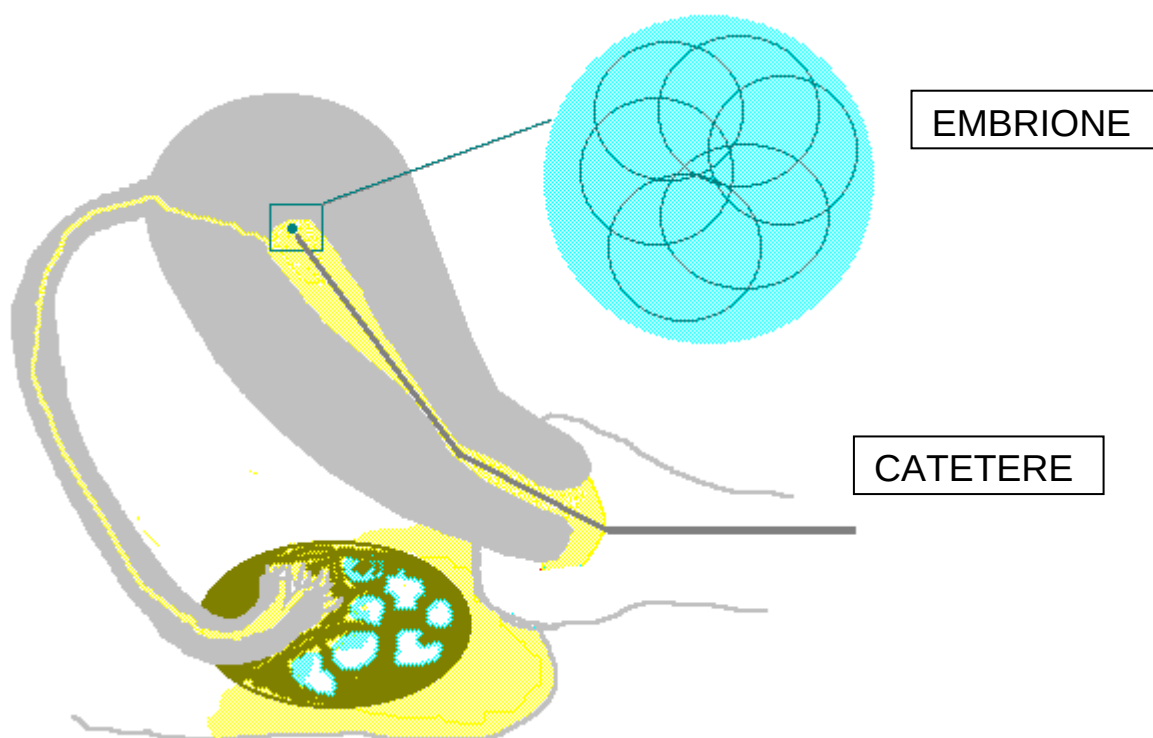
Il Transfer degli Embrioni, si può eseguire:

- dopo 47 – 52 ore, **secondo** giorno dal prelievo ovocitario – divisione cellulare allo stadio di 4 cellule,
- dopo 71 – 76 ore, **terzo** giorno dal prelievo ovocitario – divisione cellulare allo stadio di 8 – 10 cellule,
- dopo 120 – 125 ore, **quinto** giorno dal prelievo ovocitario – divisione cellulare allo stadio di blastocisti.

La scelta di quando effettuare il Transfer, dipende dal numero e dalle caratteristiche morfologiche degli embrioni.

Gli Embrioni, vengono classificati in quattro gradi, in base a due caratteristiche:

- uguaglianza dei blastomeri (le cellule che compongono l'embrione – blastomeri – devono essere uguali),
- assenza / presenza e percentuale di frammenti.



Il transfer, si esegue mediante un catetere molto sottile depositando gli embrioni vicino al fondo uterino – a circa un centimetro dal fondo. Viene eseguito sotto controllo ecografico.

Questa manovra deve essere eseguita con estrema cautela; non richiede né anestesia né ricovero ed è assolutamente indolore.

Dopo circa un minuto dal rilascio degli embrioni in cavità uterina, si retrae lentamente il catetere che viene ripassato alla biologa per il controllo dell'avvenuto transfer. In una percentuale molto bassa, uno o tutti gli embrioni che dovevano essere trasferiti, rimangono nel catetere; per cui è necessario ripetere o completare l'operazione di transfer.

E' possibile (5% dei casi circa) che non avvenga la fecondazione e/o la divisione dei gameti e quindi non sia possibile procedere al transfer degli embrioni. Questo fenomeno dipende generalmente dalle caratteristiche del liquido seminale ed in una percentuale minore dalla qualità degli ovociti.

Dopo il transfer, la paziente rimane in posizione supina per circa 10 minuti quindi viene dimessa.

Consigli:

- seguire scrupolosamente la terapia consigliata, controllare peso, diuresi e circonferenza vita,
- per le prime 48 ore stare prevalentemente a letto,
fino al prelievo venoso per il dosaggio della BHCG:
- evitare di fare il bagno ma fare la doccia,
- evitare lavori pesanti, evitare di sollevare pesi,
- evitare sport tipo: equitazione – bicicletta – etc.
- comunicare ai responsabili del centro qualsiasi vostro dubbio o perplessità.
- Se consigliati dal medico: dieta iperproteica – controllo della diuresi nelle 24 ore – controllo circonferenza vita – controllo peso.



Embrione a 4 cellule di grado 1

- l'embrione presenta i quattro blastomero uguali tra loro dello stesso diametro, non presenta frammenti

FASI TRANSFER

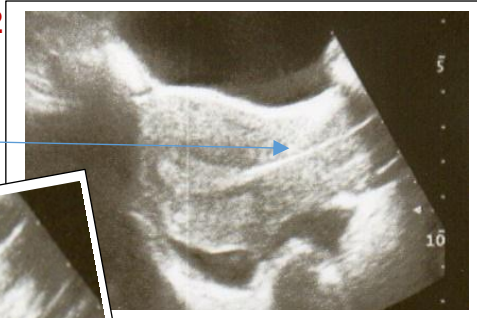
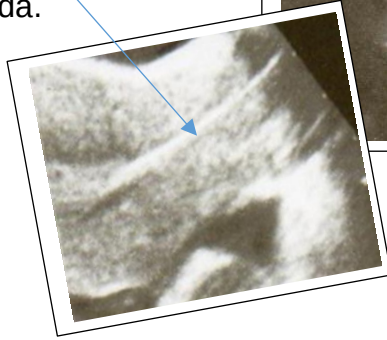
1 – Identificazione della Signora e caricamento degli embrioni nel catetere per transfer. **1**

Rossi



23

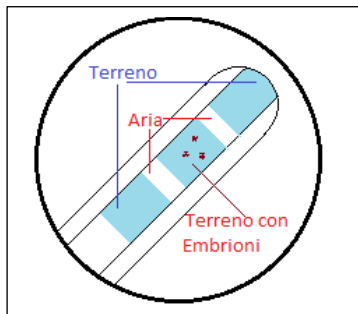
2 – Posizionamento catetere guida.



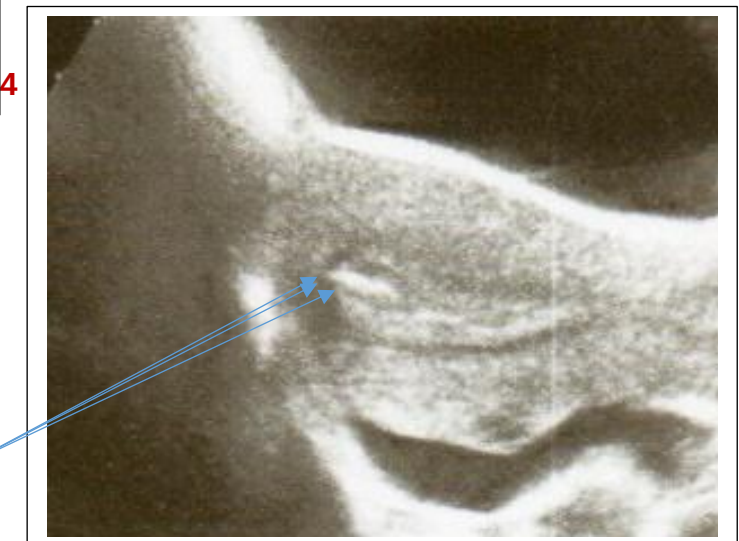
3 – Attraverso il catetere guida si introduce il catetere contenete gli embrioni e sotto controllo ecografico si posizionano vicino al fondo uterino a circa 7 – 10 mm da esso.



Catetere guida con catetere contenete gli embrioni



4 – Estrazione del catetere guida e del catetere che conteneva gli embrioni. Nell'immagine ecografica, si osserva una piccola area iperecogena (area dove sono stati depositi gli embrioni).



Terapia Fase Luteale

Eseguito il Prelievo degli Ovociti ed il transfer degli embrioni, si prosegue con la terapia indicata dal Centro fino al secondo dosaggio della BHCG. Se anche il secondo dosaggio da esito negativo, si sospende la terapia.

In caso di esito positivo (come vi auguriamo) si prosegue con la terapia fino a diversa indicazione medica.

Dopo una settimana, si esegue una ecografia trans-vaginale per visualizzare la sede di impianto della o delle camere gestazionali e la presenza dell'embrione.

24

Esempio Protocollo:

Data	Progesterone	ASA	Corticosteroidi	Estrogeni
Prelievo Ovociti	2		1	
	3		1	
Transfer	3	1	1	2
Transfer	3	1	1	2
	3	1	1	2
Transfer	3	1	1	2
Transfer	3	1	1	2

	3	1	1	2
BHCG	3	1	1	2
	3	1	1	2
BHCG	3	1	1	2
	3	1	1	2

Le percentuali di successo di queste tecniche, non sono elevatissime e sono sicuramente influenzate da vari fattori anche psicologici.

Per questo, molte volte può essere utile e consigliata una valutazione psicologica.

Colloquio psicologico, importante nelle tecniche omologhe dove i gameti maschile (spermatozoi) e femminile (ovociti) vengono messi a disposizione dalla coppia stessa, importantissimo nelle coppie dove c'è il ricorso all'utilizzo di gameti (spermatozoi e/o ovociti) di un donatore/donatrice.

E' importante essere a conoscenza che l'approccio alla tecnica rappresenta la tappa finale di esami ed accertamenti finalizzati a risolvere diversamente la ricerca della gravidanza.

E' importantissimo psicologicamente l'accettazione dello stato di ipofertilità e quindi il ricorso alla tecnica di p.m.a. quale soluzione più appropriata per l'ottenimento della gravidanza. Come anche, l'accettazione della gravidanza e del bambino ottenuto tramite tecniche di procreazione medicalmente assistita.

Accettazione della sterilità assoluta e quindi la possibilità di ricorrere a spermatozoi e/o ovociti forniti da una terza persona esterna ed estranea alla coppia.

Aderire ad una tecnica di P.M.A. non vuol dire sono già gravida.

La gravidanza è (nei casi in cui avviene) l'esito finale di un percorso dove i momenti di sconforto e delusione sono tantissimi.

- 1- Durante la stimolazione possono svilupparsi delle cisti ovariche che portano alla sospensione della terapia.
- 2- Le ovaie possono rispondere con 1 – 2 follicoli, pochissimi per poter garantire anche il recupero degli ovociti.
- 3- Si può avere una risposta eccessiva (8-10 o più follicoli per ovaio) quindi un eccessivo rischio di iperstimolo.
- 4- Può essere eseguito il prelievo ovocitario e non avere recupero di ovociti; anche se il numero di follicoli ed i valori ormonali eseguiti durante la stimolazione non fanno presagire questa possibilità.
- 5- Il recupero di ovociti e la disponibilità di spermatozoi non sono una garanzia dell'ottenimento degli embrioni; fecondazione.
- 6- L'ovocita fecondato deve successivamente andare incontro alla divisione e quindi allo sviluppo dell'embrione.
- 7- L'embrione trasferito deve continuare lo sviluppo e quindi impiantarsi nella cavità uterina.

In questo iter tutti i fattori possono ed hanno molta importanza per l'esito finale: risposta ovarica, qualità degli ovociti, età materna, qualità del liquido seminale, qualità e divisione cellulare dell'embrione e non meno importante **tranquillità psicologica** con la quale questo duro iter viene affrontato. La tranquillità psicologica di certo favorisce un esito positivo e permette di gestire meglio quello negativo.

Cosa può contribuire al successo?

Vi sono diversi fattori che influiscono sull'esito positivo di un ciclo di fertilizzazione in vitro:

- **appropriatezza della stimolazione ovarica** - Questa permette di avere ovociti maturi ed in un buon numero. Il numero di ovociti in Metafase II (maturi) in un ciclo di stimolazione dovrebbe essere di circa il 70-90 %. Degli ovociti maturi inseminati (fiv-et) o microiniettati (icsi), l'80% circa devono dare origine ad embrioni vitali e di ottima qualità. Molta importanza ha quindi la personalizzazione del protocollo di stimolazione ovarica, il momento di somministrazione dell'HCG ed il tempo che intercorre tra quest'ultima somministrazione ed il prelievo degli ovociti. Alla somministrazione dell'HCG deve esistere un ottimo rapporto tra quadro ecografico determinato da (spessore ed ecostruttura dell'endometrio, numero e diametro dei follicoli) ed i valori ormonali di 17Beta-Estradiolo e Progesterone. Un'induzione precoce può portare ad un minor recupero ed un numero maggiore di ovociti immaturi; come un'induzione tardiva può portare ad un numero maggiore di ovociti post-maturi o degenerati. L'età femminile generalmente incide sul numero di follicoli sviluppati e sulla loro qualità; molto meno sul grado di maturità.
- **prelievo ovocitario** - Questo avviene ormai normalmente per via trans-vaginale. L'ago può essere monovia o doppiavia con un diametro che varia tra 18G e 17G. Importante è la taratura della pressione negativa di aspirazione della pompa che viene utilizzata per aspirare il liquido follicolare. Una pressione bassa può portare ad uno scarso recupero ovocitario come una troppo alta, può determinare delle alterazioni degli ovociti. Normalmente la pressione di aspirazione deve essere contenuta tra -130 e -140 mmHg. L'esperienza dell'operatore è fondamentale nel determinare la migliore taratura di aspirazione del liquido follicolare.
- **catena del caldo** - La sala operatoria ed il laboratorio necessariamente contigui devono presentare un temperatura costante tra 22 – 24°C e con continuo ricambio e filtraggio dell'aria. Il liquido follicolare deve essere aspirato in provette sterili tenute dall'assistente in un apposito porta provette, su tavolino riscaldato o in un termostato a temperatura di circa 38°C. La provetta con il liquido follicolare, deve essere consegnata subito in laboratorio. Importante è l'esperienza e la velocità della Biologa nella osservazione del liquido follicolare e nella selezione dell'ovocita. Importante, all'interno del laboratorio è la distribuzione della strumentazione in modo da facilitare al massimo il passaggio tra le varie postazioni: cappa a flusso laminare, incubatori (embrioscope), micromanipolatore, laser. Importante è la presenza di un piccolissimo incubatore all'interno della cappa in modo da permettere agli ovociti di stazionare in ambiente di CO₂ ed una più idonea temperatura per tutta la durata del prelievo ovocitario (in media di circa dieci minuti); prima di trasferirli all'incubatore principale. L'ovocita è una cellula molto delicata; diventa quindi importantissimo eliminare tutti i momenti di stress che potrebbero danneggiarlo.
- **microiniezione, hassisted hatching, biopsia per diagnosi pre-impianto, vitrificazione ovociti-embrioni** - Sono manovre molto importanti che devono essere eseguite con molta cautela, in brevissimo

tempo ed in maniera estremamente sicura. Quindi effettuate da personale molto esperto in questo campo della procreazione medico assistita.

- **transfer degli Embrioni** – E' il momento finale di tutto questo processo, dove l'osservanza di quanto già detto e la perfetta sincronizzazione tra i vari operatori eliminano gli ultimi momenti critici l'embrione può subire. Il catetere deve essere morbido con la punta arrotondata, atraumatica. Il transfer deve essere eseguito sotto controllo ecografico, in modo da vedere il procedere del catetere in cavità uterina, e gli embrioni rilasciati con una morbida pressione della siringa collegata al catetere a circa 8-10 mm da fondo uterino. Cateteri molto morbidi possono risultare difficili da utilizzare come anche cateteri troppo rigidi, possono creare dei microtraumatismi. Importantissimo è non toccare il fondo uterino in quanto potrebbero verificarsi delle contrazioni della muscolatura uterina e quindi possibili ripercussioni sull'impianto.

27

Nel determinare in mancato successo, accanto a questi fattori evitabili, esistono fattori non evitabili quali: scarsa o alterata recettività dell'endometrio, difetti di sviluppo dell'embrione, difetti del liquido seminale, anomalie genetiche e fattori che una corretta anamnesi deve evitare: anomalie della cavità uterina (sinechie, polipi, fibromi), patologia immunologica, trombofilia, idrosalpinge (secondo molti autori, la presenza di una idrosalpinge "raccolta liquida nella tuba" potrebbe determinare un reflusso di questo liquido dalla idrosalpinge verso la cavità uterina che rappresenterebbe una causa dell'insuccesso).

Tutto questo, serve solo per migliorare ed aumentare le possibilità di successo; essendo per la maggior parte determinato da quello che non sappiamo e che forse il genere umano non saprà mai.

E' il segreto della vita.