

The background of the slide is a large, circular, golden seal of the University of Bologna. The seal features a central shield with a cross, surrounded by various figures and architectural elements. The text "UNIVERSITAS STUDIORUM BOLOGNENSIS" is visible around the perimeter of the seal.

# I FIGLI DELLA FECONDAZIONE ASSISTITA

GIAN PAOLO SALVIOLI  
ALMA MATER STUDIORUM  
Università di Bologna

Torino 26.10.2007

# Terminologia essenziale

- **ART =**  
**Assisted Reproductive Technology**  
**(Riproduzione assistita con**  
**tecniche artificiali)**

**ovvero**

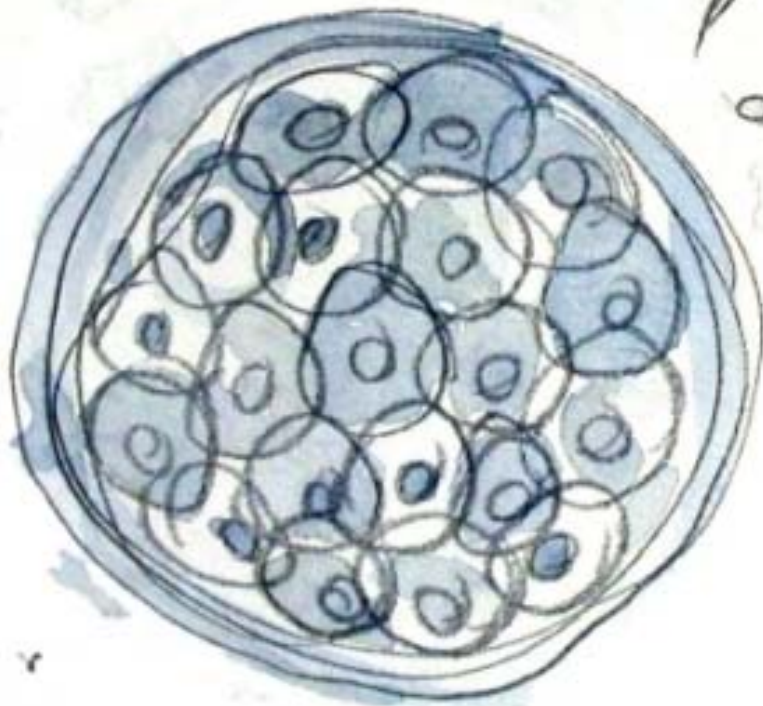
- **PMA =**  
**Procreazione**  
**Medicalmente Assistita**



# Terminologia essenziale

- **AID = Inseminazione artificiale con seme di donatore → infertilità maschile e di coppia**
- **IVF (FIVET) = Fecondazione in vitro e trasferimento in utero → infertilità femminile (1978)**
- **GIFT= Trasferimento intratubarico di gameti maschili → infertilità femminile (1982)**
- **ICSI = Iniezione intracitoplasmatica di spermatozoo → infertilità maschile (1992)**

GRUPPO A  
CHI ?



Grimaldi  
2005

- **Le procedure di Fecondazione In Vitro (IVF), introdotte a partire dal 1978, hanno modificato le aspettative di maternità nelle coppie con infertilità femminile o idiopatica**
- **La ICSI (Iniezione intracitoplasmatica di spermatozoo), diffusasi dopo il 1992, ha avuto un ruolo simile nelle coppie con infertilità maschile**



- **INFERTILITÀ = impossibilità di concepimento spontaneo dopo 12 mesi di rapporti non protetti**
  - **10% della popolazione USA in età riproduttiva**
- **20-25 % delle procedure di PMA esita in nati vivi**
  - **1-3 % dei nati è da PMA**
  - **si stima la nascita di oltre due milioni di nati da PMA tra il 1978 ed il 2005 nel mondo**
- **30% dei nati da PMA sono plurimi**
  - **maggior rischio documentato di basso peso, prematurità, ritardo di crescita intrauterino, esiti neurologici e mortalità perinatale**

# cause genetiche di infertilità maschile

- **fibrosi cistica**
- **microdelezioni del cromosoma Y**
- **mutazioni del gene recettore per gli androgeni**
- **distrofia miotonica**
- **sindrome di Kartagener**
- **sindrome di Kallmann**
- **aberrazioni cromosomiche (autosomi e X)**
- **altri difetti genetici ultrastrutturali**

# potenziali rischi dell'ICSI

- trasmissione di anomalie genetiche associate all'infertilità
- assenza di preselezione dello spermatozoo
- timing dell'ICSI rispetto alla maturazione dell'ovocita
- possibilità di attivazione meccanica dell'ovocita
- possibile interferenza con la separazione dei cromosomi nella seconda divisione meiotica
- difetti epigenetici
  - Difetti di *imprinting genomico*
- ...

**Il numero di donne che si sottopongono a procedure di PMA è aumentato del 37% negli USA tra il 1995 ed il 2000.**

**Per coppie infertili che non hanno speranze concrete di un concepimento spontaneo, le tecnologie odierne offrono grandi speranze, con rischi ed esiti che sono considerati accettabili.**

**Tuttavia, i rischi possono essere non accettati da tutti e rendono necessaria **un'adeguata ed attenta informazione** finalizzata ad un reale consenso informato ed alla adozione di eventuali misure preventive.**

# Percentuali di nati con PMA in alcuni paesi europei

	<i>2000</i>	<i>1997</i>
<b>Danimarca</b>	<b>3,7</b>	<b>2,6</b>
<b>Finlandia</b>	<b>2,5</b>	<b>2,6</b>
<b>Svezia</b>	<b>2,5</b>	<b>2,3</b>
<b>Norvegia</b>	<b>1,6</b>	<b>1,3</b>
<b>Francia</b>	<b>1,4</b>	<b>1,2</b>

## In ITALIA

- **OGNI GIORNO NASCONO NON MENO DI 15 BAMBINI IN SEGUITO A TECNICHE DI PMA (~1%)**
- **SI CALCOLA CHE DAL 1997 AL 2002 :**

**4-5 CICLI DI TRATTAMENTO ORMONALE OGNI NATO**

**97.000 CICLI**

**21.000 GRAVIDANZE**

**22.000 NATI**



- **Le gravidanze multiple che derivano da PMA sono di norma dizigotiche per:**

- iperstimolazione ovarica (gonadotropine, clomifene) con liberazione di più ovociti
- impianto di embrioni > 1

- **Tasso di gravidanze multiple monozigotiche in PMA: 9,8% (vs 0,4% nella popolazione generale).**

**Cause:**

- ritardo dell'impianto
- alterazioni temporali dello sviluppo iniziale dell'embrione durante la blastogenesi
- anomalie di segmentazione della blastocisti
- perdita di contatto con le secrezioni oviduttali e/o uterine



MIA TIOGLIE HA FATTO LA  
TOTALE, IO SONO AZOOSPERMICO,  
ALLORA MIA ZIA MI HA DONATO  
UN OVULO, E MAMMA AVEVA  
DA PARTE UN PO' DI SEME DEL  
BABBO, BUONANITA, CHE TENEVA  
PER I MOMENTI DIFFICILI. A ME  
HANNO TRAPIANTATO UN UTERO DI  
MIA SORELLA, CHE E' COMPATIBILE  
MA NON VUOLE FIGLI, E ADESSO  
E' ANDATO TUTTO PER IL TIEGLIO-  
GLI AMICI MI DI CONO CHE MI SONO  
VENUTI GLI OCCHI PIU' BUONI -  
L'UNICA PREOCCUPAZIONE E' CHE  
SONO CINQUE ...

Q. P. P. P.  
2005

## ***COSA DICONO I MASS-MEDIA***

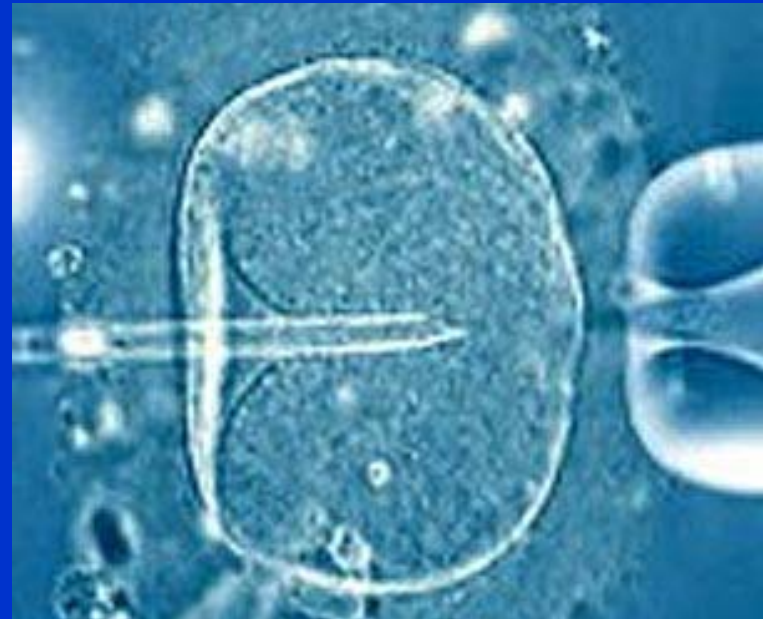
**...donna partorisce a 60 anni...**

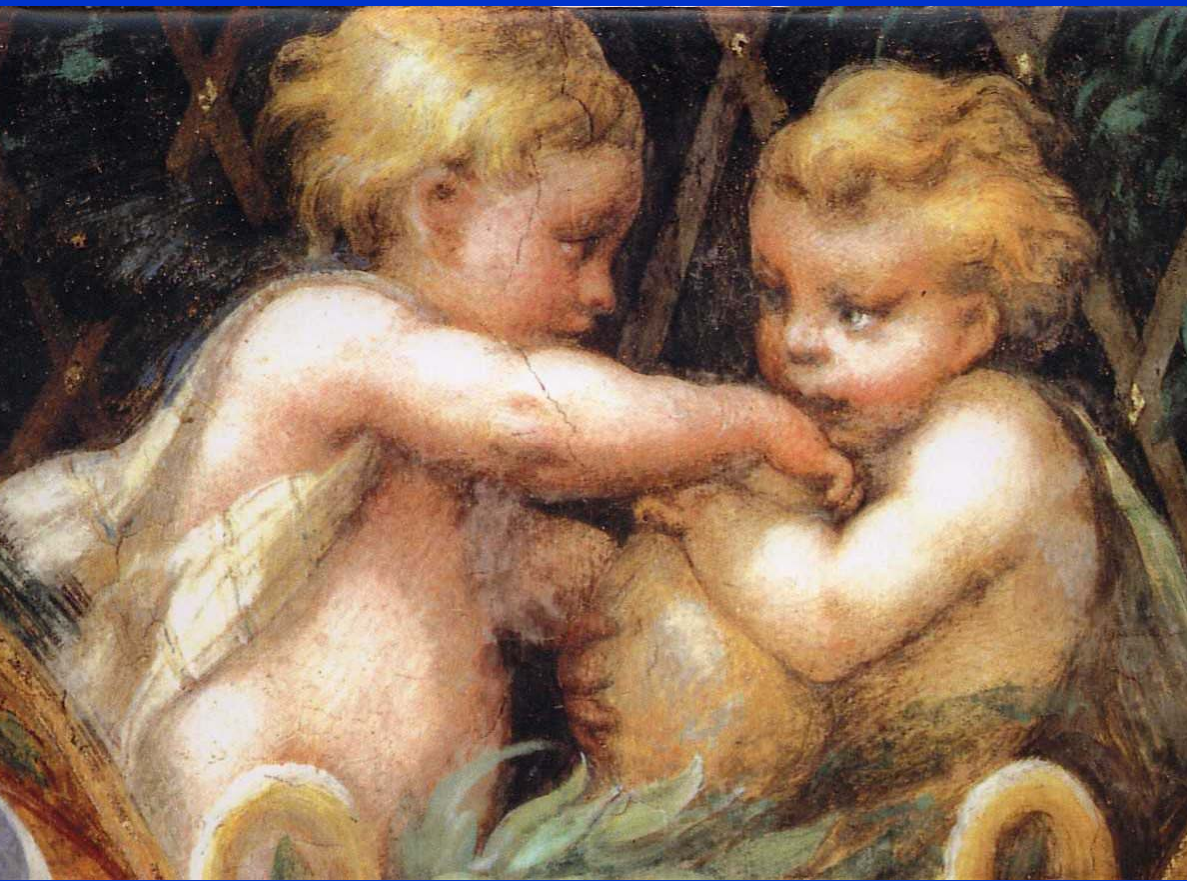
**...vedova fecondata dallo sperma del marito deceduto...**

**...madri-nonne incinte al posto della figlia...**

**non ultima la notizia di....**

**.... studi sulla partenogenesi...**





**QUALE**

**OUTCOME**

**PER I FIGLI DELLA PROVETTA ?**

# Nati da PMA: aspetti di interesse pediatrico

- **Rischio di gravidanze multiple**
  - *superstimolazione ovarica*
  - *molteplicità di embrioni trasferiti*
- **Rischio di basso peso, parto pretermine ed IUGR**
  - *in relazione alle gravidanze multiple*
  - *in relazione alle cause di sterilità*
- **Rischio di mortalità perinatale, danni ipossico-ischemici e patologia respiratoria ad esordio pre e perinatale**
  - *in relazione a gravidanze multiple, prematurità e IUGR*
- **Rischio di difetti congeniti**
  - *in relazione ad età parentale, riproduzione assistita e gravidanze multiple*

- **Nel periodo 1980-1997 il tasso di nati da gravidanza gemellare è ↑ del 52%, quello dei nati da gravidanza tripla è ↑ del 400% (dati USA)**

- **incidenza di gravidanze triple: 1: 10.500 nel 1960 (Barlum, 1997) 1: 3.000 nel 1990**

### **I nati da gravidanze multiple rappresentano:**

- **3 % dei nati vivi**
- **13% dei nati pretermine (< 37 sett.)**
- **20% dei nati di peso < 2500 g**
- **14% dei morti in epoca neonatale (0-28 gg)**
- **10% di tutti i soggetti con PCI**

- **Il rischio di parto pretermine rispetto ai singoli è più elevato di:**

- **5,9 volte nei gemelli**
- **10,7 volte nei trigemini**

- **50-60% dei nati da gravidanze multiple è LBW**

# Fattori correlati con l'insorgenza di gravidanze multiple

## • N° embrioni trasferiti (PMA)

– tipo grav.	1	2	3	4	5
• singola	8,1	19,9	27,8	26,7	26,3
• gemellare	0,4	3,8	5,8	10,3	8,7
• tripla			1,2	4,7	4,7
• totale	8,5	23,7	34,8	41,7	39,6

*Tasso di gravidanze per 100 in funzione del n° di embrioni trasferiti*

# Handicaps e mortalità nei nati da gravidanze multiple

<b>Classe neonati</b>	<b>Handicaps neurologici (per mille)</b>	<b>Mortalità (score)</b>
<b>Singoli</b>	<b>2,8</b>	<b>1</b>
<b>Gemelli</b>	<b>15,5</b>	<b>8</b>
<b>Trigemini</b>	<b>42,5</b>	<b>15</b>
<b>Quadrigemini</b>	<b>57,0</b>	<b>20</b>

- **Tassi di mortalità dei gemelli sono da 5 a 7 volte più elevati rispetto a quelli dei singoli**
- **25% dei gemelli ed il 75% dei trigemini vengono ricoverati in UTIN**
- **Il rischio di PCI nei nati da gravidanze multiple rispetto ai singoli è:**
  - **12 volte più elevato in totale**
  - **3 volte più elevato dopo correzione dei dati per EG**

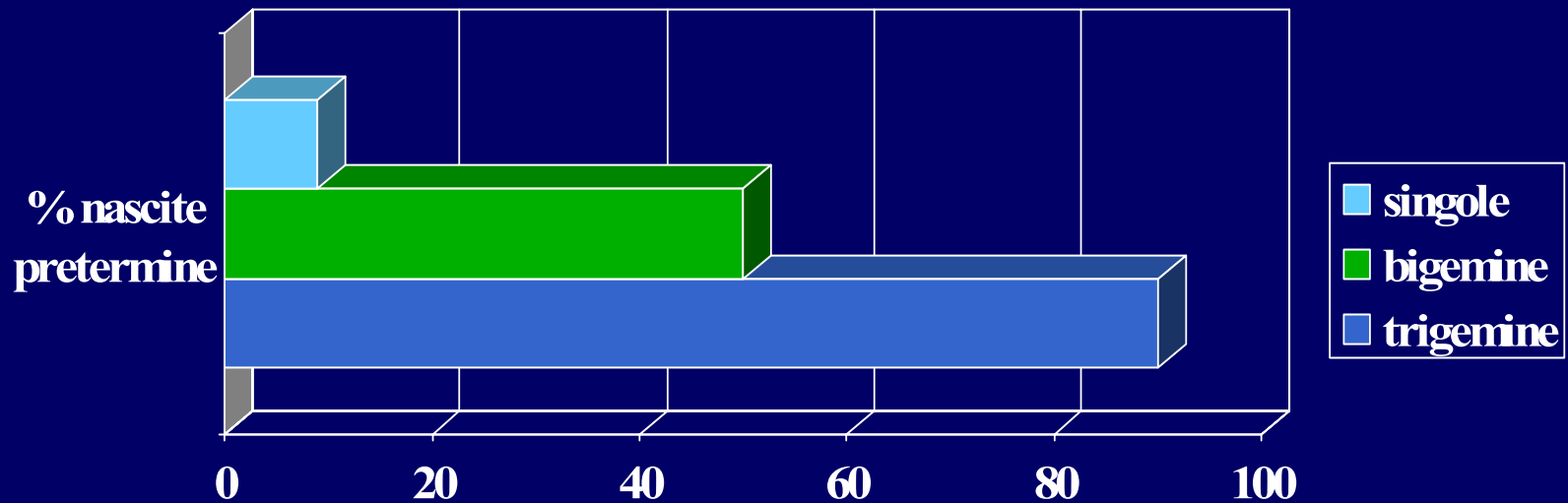
# Dati relativi a 5594 nati - Israel Neonatal Network Study - 1995-1999

	<b>Nati da PMA (%)</b>	<b>Mortalità infantile (OR)</b>	<b>RDS (OR)</b>	<b>Handicaps neurologici (OR)</b>
<b>Singoli</b>	<b>10,3</b>	<b>1,0</b>	<b>1,0</b>	<b>1,0</b>
<b>Gemelli</b>	<b>56,2</b>	<b>1,12</b>	<b>1,58</b>	<b>1,09</b>
<b>Multipli &gt;= 3</b>	<b>91,3</b>	<b>1,54</b>	<b>2,51</b>	<b>1,29</b>

**STUDIO DI POPOLAZIONE SU 42.463 NEONATI CONCEPITI CON PMA NEL 1996 E NEL 1997 A CONFRONTO CON 3.389.098 NATI IN USA NEL 1997 (DONNE > 20 ANNI).**

- 0,6% di tutti i nati nel 1997 da PMA**
- 3,5% dei nati LBW da PMA**
- 4,3% dei nati VLBW da PMA**
- 0,6% dei singoli LBW nati da PMA**
  - vs 0,2% atteso**
- 6,5% dei nati singoli da PMA sono LBW (vs 2,5% degli spontanei)**
  - rischio 2,6 volte più elevato**
  - correlazione con i trattamenti per l'infertilità**

# Percentuale di nascite pretermine (<37w) nelle gravidanze singole, bigemine e trigemine (USA)



**Il rischio di prematurità nelle gravidanze bigemine è 5,9 volte maggiore che nelle gravidanze singole, e nelle trigemine 10,7 volte maggiore.**

# PMA e rischio malformativo: cause

- **Fattori correlati all'infertilità di uno o entrambi i partners**
  - trasmissione di mutazioni e/o alterazioni genetiche collegate con l'infertilità o la sterilità
- **Età avanzata delle donne che si sottopongono alle procedure**
  - età media 33-34 vs 27-28 delle donne con concepimento spontaneo
  - aumento dell'età media paterna rispetto ai nati da gravidanza spontanea
- **Maggiore esposizione a farmaci o a restrizioni dietetico-nutrizionali rispetto a donne con gravidanze spontanee**

# **difetti congeniti in PMA**

## **possibili cause**

### **infertilità di base**

- **età avanzata delle coppie infertili**
- **causa stessa dell'infertilità di coppia**
- **farmaci per tutelare la gravidanza negli stadi precoci**

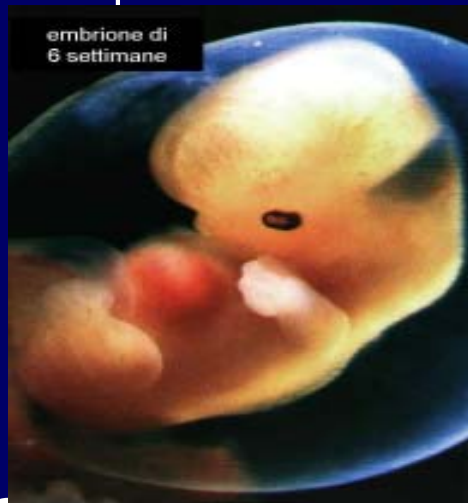
### **farmaci e procedure di PMA**

- **farmaci per stimolare l'ovulazione**
- **gemellarità**
- **assenza di selezione naturale dei gameti**
- **ritardata fecondazione dell'ovocita**
- **congelamento degli embrioni**
- **microambiente delle colture embrionali (pH, elettroliti, aa, ...)**

# malformazioni congenite (MC)

## PROBLEMI METODOLOGICI

- molti studi non hanno evidenziato un  $\uparrow$  rischio di MC dopo IVF o ICSI



Bonduelle et al; Hum Reprod 2002  
Bonduelle et al; Hum Reprod 1999  
Westergaard et al; Hum Reprod 1999  
Van Steiteghem; N Engl J Med 1998  
FIVNAT; 1995  
Rizk et al; Hum Reprod 1991  
MRC Working Party; 1990

- alcuni studi includono piccole coorti di gravidanze
- identificazione di MC nei nati da PMA deve essere il risultato di accurato e prolungato *follow-up*
- non si possono confrontare con i dati dei registri delle MC di popolazione

## Registro Australia e New Zealand, Lancaster, 2000

	<b>ICSI</b>	<b>IVF</b>
<b>N° nati</b>	<b>2949</b>	<b>10758</b>
<b>Nati multipli</b>	<b>18,7%</b>	<b>18,2%</b>
<b>Nati LBW</b>	<b>26,8%</b>	<b>27,0%</b>
<b>Malformazioni maggiori</b>	<b>2,5%</b>	<b>2,5%</b>

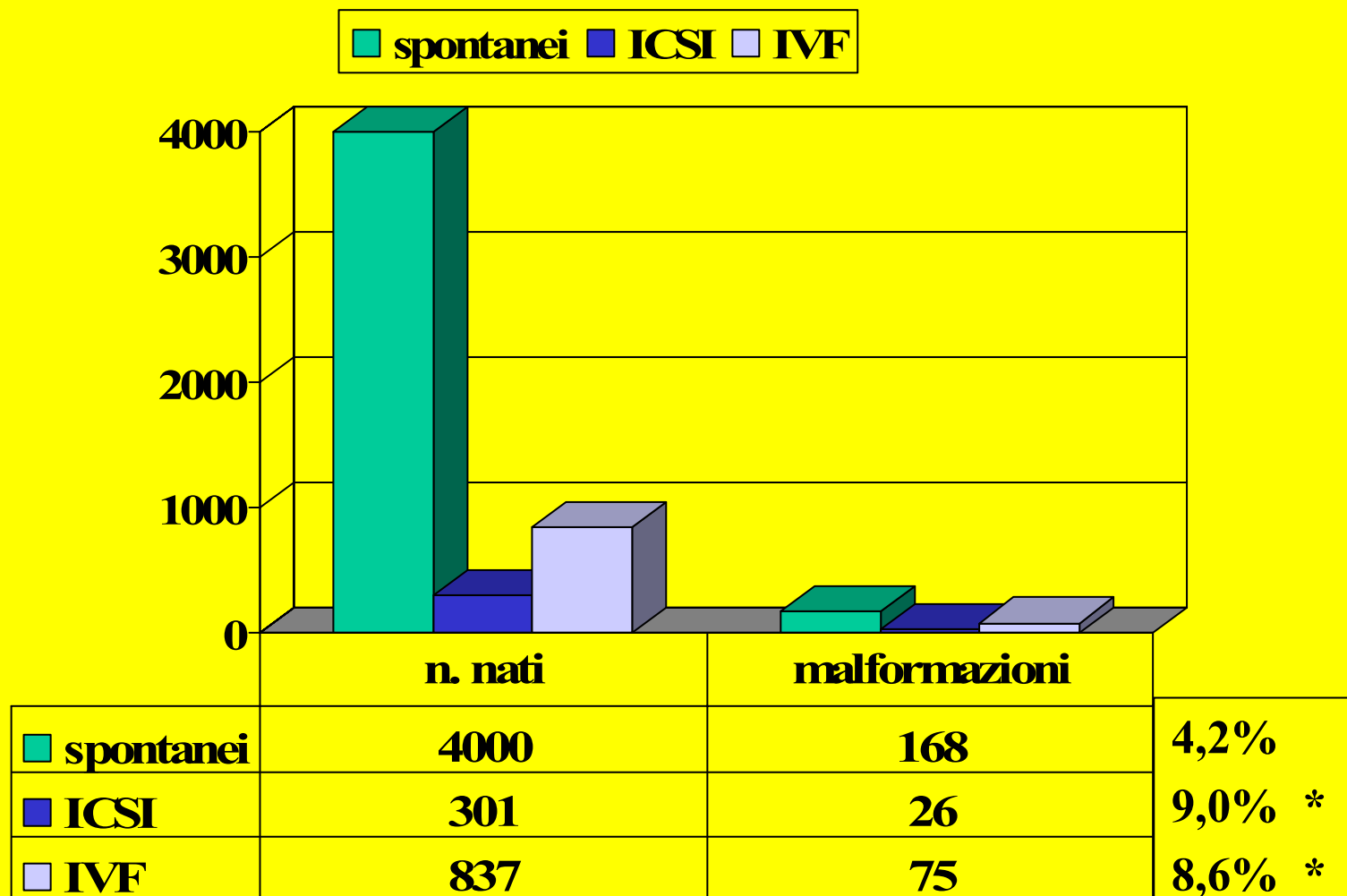
**NB: il sistema di codifica usato per le MC è diverso rispetto a quello usato per i registri di popolazione**

- **IVF: ↑ rischio (1.5 volte) per MC**
- **Correlabile alle caratteristiche proprie delle donne che si sottopongono a IVF:**
  - età
  - parità
  - patologia di base
- **il rischio assoluto e corretto di insorgenza di MC dopo IVF è simile a quello della popolazione**
- **un maggior rischio è stato osservato per:**
  - Difetti Tubo Neurale
  - atresie del canale alimentare
  - omfalocele
  - ipospadia

# **ATRESIA DEL CANALE ALIMENTARE**

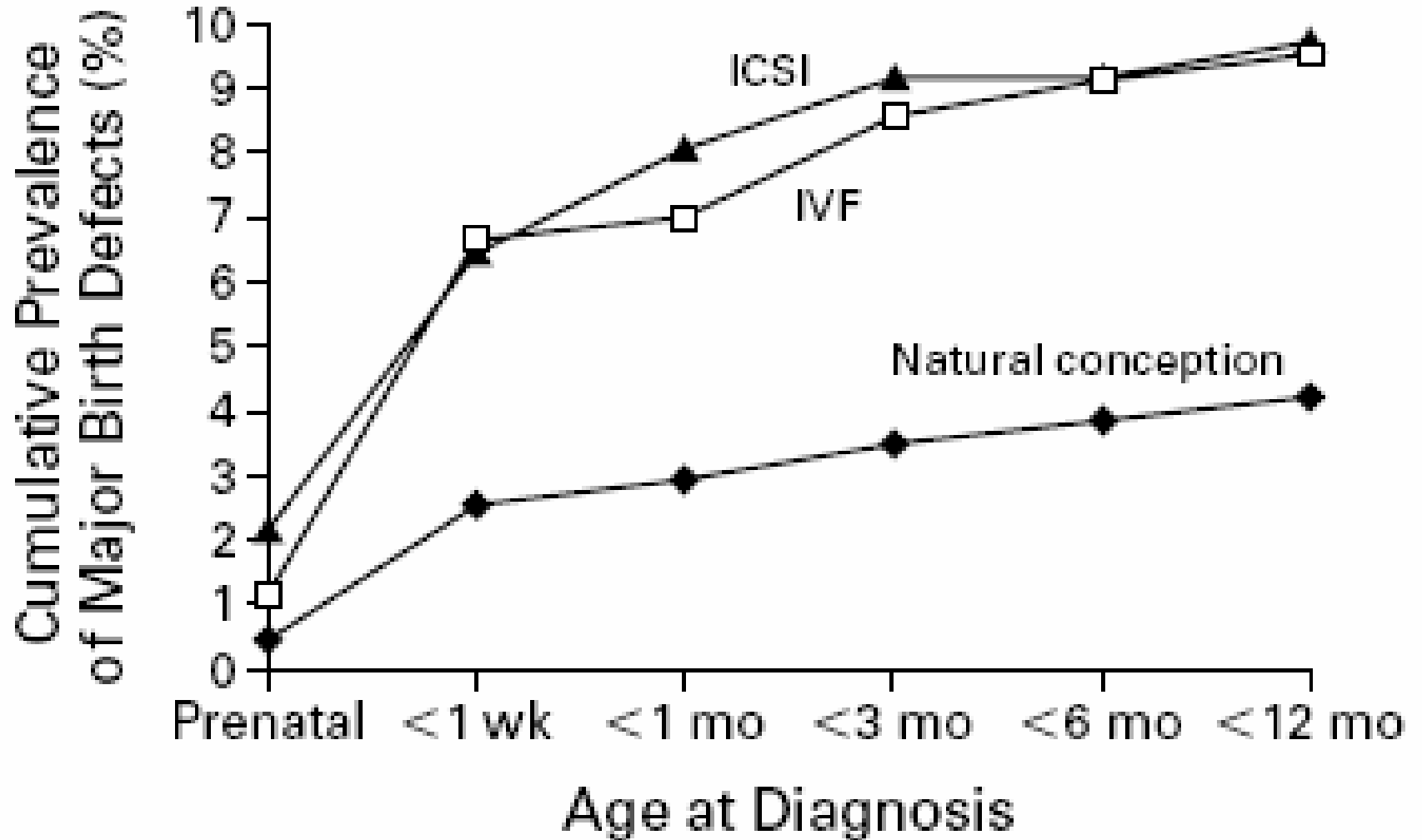
- **atresia esofagea, intestinale, anale**
- **↑ rischio (3 volte) di atresia del canale alimentare nei gemelli MZ**
- **↑ rischio (2.6 volte) di gemellarità MZ dopo IVF**
- **l'atresia del canale alimentare potrebbe essere patogeneticamente correlata alla genesi dei gemelli MZ, a causa di un disturbo molto precoce dello sviluppo embrionale (VACTERL)**

# PREVALENZA DEI DIFETTI CONGENITI MAGGIORI DIAGNOSTICATI ENTRO IL 1° ANNO DI VITA. *Hansen, 2002*



\* =  $p < 0,001$

# PREVALENZA CUMULATIVA DI DIFETTI CONGENITI IN BASE ALL'ETÀ ALLA DIAGNOSI



- **Il 9% dei bambini nati da PMA entro il primo anno di vita presenta almeno un difetto congenito maggiore**
  - vs 4,2% dei nati da gravidanze spontanee
- **Tassi sovrapponibili sia per IVF (8,6) che per ICSI (9,0)**
- **Aumento del rischio malformativo sia nei singoli, che nei gemelli e nei tripli**
- **Anomalie cromosomiche, difetti scheletrici e cardiovascolari sono i più significativi**

# rischi epigenetici & PMA

- studi caso-controllo su ampia scala per gli *outcomes* da PMA (inclusi difetti congeniti e tumori)
- ricerche sulla correlazione tra errori epigenetici, specifiche metodiche PMA e causa della infertilità
- completa pubblica divulgazione dei componenti dei *terreni di cultura* utilizzati nelle procedure PMA (i.e. methionine)

# sindrome di Beckwith-Wiedemann

(Iperaccrescimento pre-postnatale, visceromegalia, macroglossia, omfalocele, ipoglicemia neonatale ; IGF2 gene (11p15.5)-DISOMIA UNIPARENTALE cr 11 ; ↑ rischio di Neoplasie (10%) - T. Wilms (7,5%)

- ↑ tasso di PMA tra i nati con BWS
- ↑ rischio di 4.2 volte per BWS ( $p < 0.001$ )
  - PMA=1% nati (USA, UK)

DeBaun et al; Am J Hum Genet 2003  
Maher et al; J Med Genet 2003  
Gicquel et al; Am J Hum Genet 2003



- **BWS è talora associata (50-60%) a fenomeni di imprinting genico con un difetto di metilazione dell'allele materno**
- **BWS da difetto di metilazione (LIT1) in un solo gemello monozigote**
- ***LIT1 può essere suscettibile di demetilazione durante lo sviluppo preimpianto e successivamente il difetto di imprinting può predisporre la blastocisti alla gemellarità monozigote e alla BWS discordante***

- **Association of in vitro fertilization with Beckwith-Wiedemann syndrome and epigenetic alteration of LIT1 and H19 (*DeBaun, 2003*)**
  - **4,6% of BWS are PMA vs 0,8% popolazione**
- **Intracytoplasmatic sperm injection may increase the risk of imprinting defects (*Cox, 2002*)**
- **Epigenetic differences arise during the lifetime of monozygotic twins (*Fraga, 2005*)**

# BWS e rischio tumori: 16% su 287 pazienti.

*Bliek, 2004*

<b>Gruppo</b>	<b>% soggetti</b>	<b>Rischio tumori</b>	<b>n°Wilms /n°tumori</b>	<b>Meccanis mo (alt. Metilaz.)</b>
<b>I</b>	<b>20</b>	<b>39 %</b>	<b>10/18</b>	<b>BWSIC1 + BWSIC2</b>
<b>II</b>	<b>10</b>	<b>63 %</b>	<b>11/11</b>	<b>BWSIC1 (H19)</b>
<b>III</b>	<b>40</b>	<b>4%</b>	<b>0/7</b>	<b>BWSIC2</b>
<b>IV</b>	<b>30</b>	<b>23%</b>	<b>9/13</b>	<b>Pattern metilazione normale</b>

# Counselling per le coppie infertili

**In coppie infertili sconsigliare PMA se l'età della donna è < 30 aa e la durata della infertilità < 36 mesi, anche in presenza di oligozoospermia**

**Induzione dell'ovulazione e rapporti programmati in coppie con infertilità anovulatoria o endometriosi**

**Programmare IVF (il tasso di gravidanze è più basso in presenza di infertilità maschile)**

**Programmare ICSI in casi di:**

- **infertilità maschile grave**
- **fallimento delle altre procedure**
- **azoospermia ostruttiva o non ostruttiva (estrazione dello spermatozoo da testicoli o epididimi)**

**Counselling sul rischio malformativo**

- **più elevato per nati da PMA rispetto a spontanei**
- **più elevato per nati da ICSI rispetto ad IVF**
- **screening preconcezionale citogenetico e molecolare dell'Y paterno**
- **screening e diagnosi e prenatale sempre**
- **diagnosi preconcezionale o preimpianto (quando applicabile)**

# ***CONSENSUS RECOMMENDATIONS***

- entrambi i partner dovrebbero essere esaminati da un ginecologo e un andrologo
- consulenza genetica offerta quale parte del trattamento
- è necessario includere tra le analisi di laboratorio:
  - cariotipo
  - gene CFTR
  - microdelezioni del Y
  - ...
- al II trimestre di gravidanza, screening ecografico per malformazioni congenite e amniocentesi per analisi citogenetica

# Registri di morbilità/mortalità

- **sebbene le PMA siano applicate su ampia scala in Europa, rischi e complicanze sono poco documentati**
- **i registri dovrebbero includere dati su:**
  - **morbilità e mortalità materna e fetale**
  - **complicazioni della gravidanza**
  - **zigosità nelle gravidanze gemellari**
  - **malformazioni congenite**
  - **riduzione selettiva degli embrioni**
  - **procedure speciali**
  - **...**
- **la misura degli *outcomes* deve fare riferimento ai tassi nei nati singoli**

