

Il prestigioso mensile "Le Scienze" dello scorso settembre ha pubblicato con il titolo "Sterili per legge", uno studio che affronta il tema della procreazione medicalmente assistita dal punto di vista delle percentuali di successo e, soprattutto, il problema dei rischi corsi dai nati attraverso fecondazione in vitro.

Le autrici sono Nora Frontali, per molti anni dirigente di ricerca all'Istituto superiore di sanità, e Flavia Zucco, primo ricercatore all'Istituto di neurobiologia e medicina molecolare del Cnr, a Roma.

Nel più comune procedimento di procreazione medicalmente assistita (Pma), la Fivet (fecondazione in vitro con embryo-transfer), la donna è sottoposta a un intenso trattamento ormonale per ottenere la superovulazione, cioè la maturazione contemporanea di più ovuli. Questo trattamento non è privo di rischi, e non sono rari i casi in cui si assiste alla "sindrome da iperstimolazione ovarica", un evento assai sgradevole e pericoloso (vi sono stati anche casi mortali). Mediante sottilissimi aghi, sotto controllo ecografico, dall'ovaia viene prelevato un certo numero di ovuli che vengono trasferiti in vitro e qui fecondati con gli spermatozoi, del marito o del partner (nella fecondazione cosiddetta omologa), o di un donatore (eterologa).

Dopo aver osservato al microscopio l'avvenuta fusione dei due nuclei e le prime fasi dello sviluppo embrionale, si procede al trasferimento in utero di uno o più pre-embrioni: generalmente più d'uno, per aumentare la probabilità che almeno uno si annidi e dia origine a una gravidanza. Ma, come è noto, i gemelli spesso nascono prematuramente, e alla nascita sono di peso inferiore al normale; per questa ragione, i bambini nati mediante Pma sono in più alta percentuale prematuri e sottopeso, e quindi bisognosi di maggiori cure.

Inoltre, è raro che il procedimento di Pma riesca al primo tentativo. Molte donne provano più e più volte, e, per non dover ricominciare ogni volta il pericoloso e pesante trattamento ormonale necessario alla superovulazione, si usa trasferire in utero embrioni, conservati a bassissima temperatura, prodotti nel primo trattamento.

In sostanza, le tecniche di Pma sono tuttora allo stadio sperimentale, e richiedono ancora molta ricerca: ricerca epidemiologica per l'analisi dei rischi per la madre e per i nati, e ricerca sperimentale per cercare di migliorare le tecniche. Per il primo tipo di ricerca occorrono registri nazionali che censiscano tutti i trattamenti di Pma iniziati, il loro andamento e il loro esito. Il secondo tipo di ricerca si effettua prevalentemente in vitro, studiando il meccanismo della fecondazione e le varie fasi dello sviluppo dell'embrione.

Questa situazione della Pma, già così difficile e aleatoria, è resa ancor più difficile dalla nuova Legge n. 40/04, per i cui estensori ogni minimo dettaglio della procedura, dal momento della fecondazione in poi, ha un significato teologico, e l'obiettivo principale non è garantire la buona riuscita dell'operazione, bensì vigilare che nessun ovulo fecondato vada perduto: una norma quasi impossibile da rispettare dal punto di vista tecnico, ma difesa dalla minaccia di sanzioni gravissime. Con la nuova legge si avrà un ulteriore peggioramento della situazione, fino a rendere impraticabile la Pma. Non rimane che sperare in un referendum che abroghi in toto la 40/04, e in un'altra legge che imponga regole per assicurare l'affidabilità dei centri e istituisca il Registro nazionale dei trattamenti di Pma.

I rischi per i nati

Il successo di un trattamento di procreazione medicalmente assistita va giudicato a una certa distanza di tempo. Secondo i risultati delle prime indagini, effettuate una decina di anni fa nei paesi in cui tutti i casi di applicazione di queste tecniche erano regolarmente registrati (Gran Bretagna, Francia, Australia, Israele), la percentuale di malformazioni congenite gravi rilevabili un anno dopo la nascita in bambino concepiti con Pma non differiva da quella dei bambini concepiti normalmente.

Oggi, tuttavia, i nati con Pma nel mondo sono ormai circa un milione, per cui gli studi statistici più recenti che riguardano un numero di casi molto più elevato, hanno maggiore attendibilità. E i dati che ne emergono sono assai meno rassicuranti.

Secondo l'indagine effettuata nel 2002 da Strömberg e colleghi in Svezia, dove quasi tutti i bambini con qualche handicap neurologico, sensoriale o mentale frequentano centri di riabilitazione del servizio sanitario nazionale, il rischio di handicap è risultato più alto nei ragazzi nati con Fivet, anche escludendo dall'analisi i gemelli. Oltre a quella di paresi cerebrale, le diagnosi più frequenti comprendevano malformazioni congenite, ritardo mentale, disturbi del comportamento. Questa analisi mostra inoltre che danni a lungo termine possono comparire anche oltre il primo anno di vita, scadenza alla quale di solito si fermano le indagini. In un studio del 2002, un gruppo di ricercatrici australiane ha analizzato i risultati relativi a più di 1000 bambini nati con Pma in un determinato intervallo di tempo nell'Australia occidentale, scoprendo che il circa nove per cento di essi soffriva di almeno una malformazione congenita grave rilevabile a un anno di età, a confronto con un 4,5 per cento fra i bambini concepiti normalmente.

Sulla base delle nuove possibilità di ricerca epidemiologica offerte dai grandi numeri, altri autori hanno rilevato nei nati con fecondazione assistita una prevalenza statisticamente significativa di difetti del tubo neurale, di atresia dell'esofago e di malformazioni cardiache. Sia queste malformazioni sia gli handicap vengono imputati dagli autori delle due ricerche alle gravidanze gemellari o plurime.

Le malattie genetiche, dovute cioè a un danno ai cromosomi o più in generale al Dna, sono numerosissime nell'uomo ma per fortuna ognuna di esse è molto rara. Di conseguenza, quando compaiono malattie di questo tipo fra i bambini nati da Pma, il timore è che non si tratti di eventi casuali. Questi dubbi sono sorti a proposito della sindrome di Beckwith-Wiedemann (BWS), detta anche "large offspring syndrome", caratterizzata da sovrappeso pre e postnatale, lingua grossa e difetti della parete addominale anteriore. Una patologia simile è stata descritta nei bovini e può verificarsi quando embrioni di pecora o di topo, sottoposti sperimentalmente a Pma, vengono coltivati in vitro per troppi giorni prima di essere inseriti in utero. Sei casi di questa grave malattia fra i bambini nati con Pma sono stati segnalati al gruppo di genetica medica dell'Università di Birmingham. Dal confronto statistico risulta giustificato il sospetto che la malattia sia più frequente nei bambini nati con Pma. In Olanda, nel 2001, su 3000 donne che si erano sottoposte a Pma, cinque hanno dato alla luce bambini con reticoblastoma, un raro tumore infantile della retina di origine genetica. Anche in questa occasione lo studio statistico ha messo in evidenza che l'aumento dei casi rispetto al numero che ci si poteva aspettare (al massimo uno), era significativo.

A destare preoccupazione è in particolare la tecnica denominata Icsi (iniezione intracitoplasmatica degli spermatozoi) nella quale uno spermatozoo viene iniettato direttamente all'interno dell'ovulo, in modo da superare le membrane che avvolgono l'ovulo stesso. Questa tecnica, ideata nei primi anni novanta e subito adottata, anche se non era ancora sufficientemente collaudata, si è diffusa così rapidamente che oggi negli Stati Uniti circa metà dei 50.000 bambini che nascono ogni anno con Pma nascono da una madre che si è sottoposta all'Icsi, quindi la sterilità si può trasmettere di padre in figlio.

Per evitare di mettere al mondo un figlio con un difetto genetico è possibile ricorrere alla diagnosi genetica pre-impianto, un'indagine molto complessa che si effettua su una cellula prelevata dal pre-embrione prima del trasferimento in utero quando si ha motivo di sospettare che sia affetto da una malattia ereditaria grave. Lo scopo è ovviamente quello di non scegliere per l'impianto in utero l'embrione difettoso, ma questo non è consentito dalla nostra normativa, secondo la quale esso va ugualmente trasferito in utero. A chi violi questo divieto sono comminate sanzioni gravissime.

I rischi per le madri

I rischi della Pma per le madri comprendono sia complicazioni della gravidanza sia effetti a lungo termine. Le prime, come la sindrome da iperstimolazione ovarica, l'aumentata frequenza di gravidanze ectopiche e di aborti, sono ormai ben note, senza contare che le gravidanze multiple comportano di per sé un aumento di stress, morbilità e mortalità anche fra le madri. E poiché la crioconservazione degli embrioni non è considerata ammissibile dalla nuova legge, la donna sarà costretta a ripetere ogni volta il trattamento ormonale, rischiando nuovamente la sindrome da iperstimolazione ovarica e gli altri disturbi.

Per accertare gli effetti a lungo termine è invece necessario seguire le donne per molti anni dopo il parto. Studi simili sono stati intrapresi, ma non hanno ancora prodotto conclusioni certe: si sospetta infatti che l'intenso trattamento con ormoni a cui sono sottoposte le donne per il prelievo degli ovociti possa provocare un aumento di tumori del tratto genitale o della mammella.

Uno studio su larga scala condotto in Olanda a 5-8 anni dalla gravidanza non ha però rilevato alcun aumento del rischio di cancro della mammella o dell'ovaio in donne che erano state sottoposte a Fivet, a confronto con donne subfertili che non avevano ricevuto il trattamento.

Migliorare le tecniche?

Di fronte agli esiti poco soddisfacenti delle tecniche di Pma, quasi tutti gli autori raccomandano di diminuire il numero dei pre-embrioni trasferiti in utero, individuando come causa principale dei rischi l'aumentata frequenza delle gravidanze gemellari e plurime.

Sarebbe quindi auspicabile arrivare a inserire un solo pre-embrione, ma poiché tale strategia, come abbiamo visto, ha di per sé uno scarso successo, è necessario massimizzare le probabilità che questo unico embrione si annidi.

Attualmente, sono in corso varie ricerche in vitro finalizzate a migliorare la qualità degli embrioni da trasferire e a riconoscere la loro capacità di impianto in utero. Questi esperimenti hanno mostrato, per esempio, che nei due-tre giorni di normale permanenza in vitro dei pre-embrioni, la composizione del medium (cioè del mezzo di coltura) è di estrema importanza. Si è anche pensato che l'iniezione nell'ovulo di una piccola quantità di citoplasma (contenente mitocondri) da ovuli di una donna donatrice, giovane e sana, avrebbe potuto rinvigorire l'ovulo di una madre non giovanissima, che ha attraversato numerose esperienze fallite di Fivet.

Dopo alcuni apparenti successi ottenuti con la sperimentazione sui topi, si è passati, forse un po' prematuramente, all'applicazione umana, e ormai nel mondo sono già nati 30 bambini con questa tecnica detta "del transfer citoplasmatico". Essa però è stata sottoposta a forti critiche, tanto che negli Stati Uniti è stata proibita.

Negli ultimi anni sono stati fatti notevoli progressi nell'identificazione delle caratteristiche dell'ambiente naturale nel quale l'ovulo viene fecondato e poi si sviluppa. L'obiettivo è far sì che immersi nel flusso continuamente modificato di un medium contenente in ogni momento la giusta concentrazione delle adatte sostanze nutritive e donatrici di energia, mentre sono via via eliminate le sostanze di scarto. Il perfezionamento di questo microambiente permette già oggi di portare avanti in modo soddisfacente lo sviluppo in vitro di uno o più ovuli fecondati fino allo stadio di blastocisti, uno stadio al quale è più facile riconoscere, anche grazie a test appositamente elaborati, quali sono i preembrioni più vitali.

A questo punto è dunque possibile scegliere fra i vari pre-embrioni quell'unico o quei pochissimi che si intende trasferire in utero, con buona speranza di attecchimento. Questo dovrebbe portare a un aumento dei successi, cioè del

numero di nascite a termine di bambini sani per 100 cicli di trattamento ormonale iniziati. I nuovi metodi di crioconservazione consentono già oggi di conservare le eventuali blastocisti soprannumerarie per un secondo figlio. Con l'introduzione delle tecniche di vetrificazione e di congelamento rapido, infatti, anche crioconservazione sta facendo progressi.

Ma né la scelta del pre-embrione né la sua crioconservazione sono consentite dalla nuova legge n. 40/04 sulle Pma, ragion per cui non solo si avrà un peggioramento della situazione attuale, ma in Italia non sarà possibile applicare le tecniche più progredite, che nei prossimi anni porteranno assai probabilmente a un miglioramento della riuscita dei trattamenti.

Dalla nascita di Louise Brown, la prima bambina concepita in vitro, sono passati ventisei anni. Oggi conosciamo molto meglio il processo della fecondazione umana, sono state inventate varianti e tecniche nuove, ma i dubbi sull'innocuità di queste pratiche permangono, e la loro riuscita è sempre aleatoria.

Quali sono le cause degli insuccessi? La composizione del medium di coltura potrebbe non essere ancora perfetta e provocare un cambiamento nell'espressione dei geni. Nel caso dell'Icsi, l'inserimento dell'ago di vetro potrebbe provocare un danno meccanico al fuso (una struttura interna alla cellula che si divide).

Un'altra ipotesi che va facendosi strada è quella della presenza di difetti ereditari nelle coppie con problemi di

sterilità.

Gruber e colleghi, esaminando i cariotipi dei pazienti, maschi e femmine, presentatisi in un centro di fertilità per sottoporsi a Pma, hanno scoperto anomalie del numero dei cromosomi nel 10 per cento dei casi, rispetto allo 0,85 per cento della popolazione generale, il che spiegherebbe come mai anche le gravidanze singole da concepimento con Pma hanno un esito perinatale significativamente peggiore di quelle da concepimento naturale. E' dunque probabile che, mentre il miglioramento delle condizioni della coltura in vitro e la riduzione delle gravidanze plurime porteranno a un aumento dei successi e a una diminuzione dei rischi, una certa quota di rischio di handicap resti comunque, in quanto insita nella ridotta fertilità dei genitori.

Tuttavia, per compiere un vero salto di qualità nel migliorare le opportunità di riproduzione degli esseri umani bisogna riuscire a comprenderne ancora meglio la fisiologia. Solo la ricerca di base potrà essere di guida per una serie di applicazioni, non tutte prevedibili, che vanno dai trattamenti per l'infertilità, i disturbi nella gravidanza, e le malattie dell'apparato riproduttivo all'impiego di contraccettivi, alle terapie ormonali sostitutive, e, naturalmente, alle tecnologie di riproduzione assistita.

Ma gli estensori della legge italiana n. 40/04 non hanno capito il legame che esiste fra l'evoluzione delle tecniche di Pma e il progresso della ricerca scientifica.

Nora Frontali e Flavia Zucco

da *"Le Scienze"*, settembre 2004