

Procreazione medicalmente assistita nelle pazienti affette da endometriosi: la nostra esperienza

F. GENOVESE*, F.A. GULINO**, M.C. TEODORO**, E. GIUFFRIDA**, M.G. STRACQUADANIO*, I. PAGANO*, S.G. VITALE*, L. CIOTTA*, M.A. PALUMBO**

RIASSUNTO: Procreazione medicalmente assistita nelle pazienti affette da endometriosi: la nostra esperienza.

F. GENOVESE, F.A. GULINO, M.C. TEODORO, E. GIUFFRIDA, M.G. STRACQUADANIO, I. PAGANO, S.G. VITALE, L. CIOTTA, M.A. PALUMBO

Obiettivo. Lo scopo del nostro studio è valutare il ruolo dell'endometriosi nel determinare una condizione di infertilità e, conseguentemente, stimare i risultati delle tecniche di fecondazione assistita nelle pazienti con endometriosi.

Pazienti. Per la realizzazione dello studio è stata utilizzata una coorte composta da 60 pazienti affette al Centro di Fisiopatologia della Riproduzione dell'Ospedale "S. Bambino" di Catania, in un periodo compreso tra l'ottobre 2006 e l'ottobre 2009; tali pazienti sono state sottoposte a tecniche di fecondazione in vitro FIVET o ICSI.

Metodi. È stato effettuato uno studio retrospettivo, confrontato con un gruppo controllo. Il gruppo di studio consta di 30 pazienti con endometriosi diagnosticata per via laparoscopica, delle quali 15 con endometriosi lieve e 15 con endometriosi moderata o severa. Il gruppo di controllo consta di 30 pazienti apparentemente sane, che hanno fatto ricorso alle tecniche di riproduzione in vitro a causa di un fattore maschile di infertilità.

Risultati. È stato riscontrato un tasso di gravidanze significativamente più basso nelle donne con endometriosi severa (13,3%) e con endometriosi lieve (26,6%), rispetto alle pazienti del gruppo di controllo (40%). La percentuale di "bambini in braccio" ha fatto emergere che le pazienti con endometriosi severa hanno valori percentuali più bassi (13,3%) rispetto alle donne con stadio lieve di infertilità (20%); entrambi i valori delle pazienti con endometriosi sono più bassi rispetto alla percentuale del gruppo di controllo (33,3%).

Conclusioni. L'endometriosi ha un significato prognostico negativo sui tassi di gravidanza e sulla percentuale di "bambini in braccio" in corso di trattamento FIVET/ICSI.

SUMMARY: Assisted reproduction in women affected by endometriosis: our experience.

F. GENOVESE, F.A. GULINO, M.C. TEODORO, E. GIUFFRIDA, M.G. STRACQUADANIO, I. PAGANO, S.G. VITALE, L. CIOTTA, M.A. PALUMBO

Objective. The aim of our study was to evaluate the role of endometriosis in determining a condition of infertility, and, consequently, estimate the results of assisted reproductive techniques in patients with endometriosis.

Patients. To carry out the study it was used a cohort of 60 patients of the Center for Reproductive Physiopathology "S. Bambino" Hospital in Catania, in a period between October 2006 and October 2009; these patients were undergoing assisted reproduction techniques like ICSI or FIVET.

Methods. It has been performed a retrospective study, compared with a control group. The study group consists of 30 patients with endometriosis diagnosed by laparoscopy, of which 15 with mild endometriosis and 15 with moderate or severe endometriosis. The control group consists of 30 apparently healthy patients who have recourse to in vitro reproduction techniques due to male factor infertility.

Results. It has been reported a significantly lower pregnancy rate in women with severe endometriosis (13.3%) and mild endometriosis (26.6%) than in the control group (40%). The percentage of "children in her arms" shows that patients with severe endometriosis have lower percentages (13.3%) than women with mild stage of infertility (20%) and than women of the control group (33.3%).

Conclusions. Endometriosis affects negatively the prognosis of pregnancy and the percentage of "children in her arms" during treatment IVF/ICSI.

KEY WORDS: Endometriosi - Gravidanza - Qualità ovocitaria - Tecniche di riproduzione assistita - ICSI.
Endometriosis - Pregnancy - Oocyte quality - Assisted reproduction techniques - ICSI.

Introduzione

L'endometriosi è una malattia infiammatoria cronica definita come la presenza di tessuto endometriale al di fuori della cavità uterina e i sintomi più comuni includono dismenorrea, dispareunia e infertilità (1,2). Sebbene l'esatta prevalenza dell'endometriosi nella popolazione generale non sia conosciuta, essa rappresenta una patologia frequente tra le donne in età riproduttiva, venendo infatti riscontrata in una percentuale variabile dal 10 al 15% (3,4), anche se dati recenti suggeriscono che questa percentuale possa essere inferiore (5).

L'endometriosi rappresenta una delle patologie ginecologiche più controverse; infatti, nonostante il particolare interesse riservatole negli ultimi decenni dall'intera comunità scientifica internazionale, e nonostante la notevole esperienza clinica accumulata in materia, resta, ad oggi, un enigma da risolvere nella quasi totalità delle sue implicazioni fisiopatologiche.

In particolare, complessa e fortemente dibattuta risulta la pur inequivocabile relazione esistente fra endometriosi ed infertilità (6).

Diversi fattori sono coinvolti nello sviluppo dell'endometriosi e, specificatamente, la malattia sembrerebbe sostenuta dalla espressione aberrante di diverse citochine pro-infiammatorie (7).

Se infatti è plausibile che nelle forme moderate/severe di endometriosi (stadio III e IV) la sterilità sia primariamente dovuta ad un fattore meccanico, ovvero la sovrersione della normale anatomia pelvica (ad esempio, alterazioni del rapporto tubo-ovarico, distorsione/ostruzione tubarica), non è ancora ben chiaro il perché dell'infertilità/subfertilità nelle donne affette da endometriosi minima/lieve (stadio I e II), ovvero in assenza di aderenze e di lesioni endometriosiche gravi (8).

Ad oggi, sembra che nessuno dei meccanismi ipotizzati possa, da solo, spiegare in maniera univoca la sterilità nell'endometriosi e che invece questa riconosca un'eziologia multifattoriale.

Studi epidemiologici recenti suggeriscono che le donne con determinate forme di endometriosi possono avere un aumentato rischio di parto pretermine e neonati piccoli per l'età gestazionale (SGA) e, tra i meccanismi possibili, i più accreditati sono l'alterata funzione endometriale e gli elevati livelli di prostaglandine (PG) (9-10).

Pazienti

Per la realizzazione dello studio è stata utilizzata una coorte composta da 60 pazienti afferite al Centro di Fisiopatologia della Riproduzione dell'Ospedale

“S. Bambino” di Catania, in un periodo compreso tra l'ottobre del 2006 e l'ottobre del 2009; tali pazienti sono state sottoposte a tecniche di fecondazione *in vitro* quali FIVET o ICSI.

Metodi

È stato effettuato uno studio retrospettivo, confrontato con un gruppo di controllo. Il gruppo di studio consta di 30 pazienti con endometriosi diagnosticata per via laparoscopica, delle quali 15 con endometriosi lieve (*American Society for Reproductive Medicine*, stadio I e stadio II) e 15 pazienti con endometriosi moderata o severa (*American Society for Reproductive Medicine*, stadio III e stadio IV).

Il gruppo di controllo consta di 30 pazienti apparentemente sane che hanno fatto ricorso alle tecniche di riproduzione *in vitro* a causa di un fattore maschile di infertilità.

Tutte le pazienti sono state sottoposte a un protocollo di stimolazione lungo che ha previsto la desensibilizzazione ipofisaria con analoghi del GnRH, con somministrazione giornaliera dal ventunesimo giorno del ciclo precedente.

Dopo aver raggiunto la desensibilizzazione dell'ipofisi, indicata dai livelli di E2 nel siero ($E2 < 40$ pg/ml) e dal diametro follicolare < 10 mm, le pazienti hanno iniziato la stimolazione ovarica con FSH ricombinante. La dose giornaliera di gonadotropine esogene è stata continuata su base individuale in relazione alla crescita follicolare. Diecimila UI di hCG sono state somministrate quando i due follicoli più grandi hanno raggiunto un diametro minimo di 16 mm con consistenti livelli di E2. Il prelievo ovocitario è stato effettuato dopo 36 ore mediante agoaspirazione ecoguidata transvaginale dei follicoli.

Gli ovociti sono stati sottoposti a procedure standard di FIVET o ICSI. A 72 ore è stato effettuato il *transfer* degli embrioni in utero. Tutte le pazienti hanno effettuato terapia di supporto della fase luteale con progesterone e aspirinetta. Il dosaggio di β -hCG è stato effettuato dopo 12 gg.

Per lo studio sono stati prelevati, previo consenso informato delle pazienti, campioni di siero basale al terzo giorno del ciclo (siero A) e al giorno del prelievo ovocitario (siero B), mentre i campioni di fluido follicolare (FF) sono stati raccolti durante la raccolta ovocitaria.

Risultati

Dallo studio clinico effettuato è emersa la necessità di eseguire un numero di cicli di Procreazione Medicalmente Assistita (PMA) maggiore nelle pazienti con

endometriosi di grado severo (media cicli = 2,25) e di grado lieve (media cicli = 2), rispetto al gruppo controllo (media cicli = 1,36).

Il tasso di gravidanze è stato significativamente più basso nelle donne con stadio III/IV di endometriosi (13,3%), rispetto alle donne con endometriosi allo stadio lieve I/II (26,6%). Inoltre, il tasso di gravidanze era più basso nelle pazienti con endometriosi, rispetto alle pazienti del gruppo controllo (40%).

La percentuale di “bambini in braccio” ha fatto emergere dati significativi: le pazienti con endometriosi severa hanno valori percentuali più bassi (13,3%) rispetto alle donne con stadio lieve di infertilità (20%). Le pazienti del gruppo di controllo, invece, hanno una percentuale di “bambini in braccio” notevolmente più alta rispetto alle pazienti con patologia endometriosa (33,3%) (Tab. 1).

TABELLA 1 - RISULTATI DELLO STUDIO CLINICO

	Gruppo controllo	Endometriosi I/II	Endometriosi III/IV
Numero di pazienti	30	15	15
Media età, anni	32,45	31,75	36,25
Media BMI	27,48	25,32	23,24
Media cicli, n	1,36	2	2,25
Tasso di fertilizzazione	61,5%	48,5%	45,3%
Gravidanze, n	12	4	2
Tasso di gravidanza	40%	26,6%	13,3%
Percentuale di “bambini in braccio”	33,3%	20%	13,3%
Media ovociti recuperati, n	8	9	8
Media embrioni formati, n	1,81	2	2

La media di ovociti recuperati al momento del *pick-up* ovocitario, confrontando il gruppo di controllo con il gruppo con patologia endometriosa, non ha dato differenze statisticamente significative.

La media degli embrioni prodotti è stata maggiore nelle pazienti con endometriosi (media = 2), rispetto alle pazienti del gruppo controllo (media = 1,81).

Discussione

Le alterazioni dello sviluppo e/o della maturazione dell'ovocita/embrione osservate in pazienti con endometriosi potrebbero influenzare negativamente la capacità di fecondazione e di impianto dello stesso.

L'interazione ovocita-spermatozoo in donne con endometriosi è stata oggetto di numerosi studi: è stato dimostrato che alterazioni quali-quantitative di natura

non steroidea del liquido follicolare, presenti in diverse condizioni richiedenti poi una FIVET, possono esercitare un effetto inibitorio sulla capacità degli spermatozoi di legare la zona pellucida, interferendo così criticamente con il processo di fecondazione. Tale effetto non sarebbe mediato da alterazioni della reazione acrosomiale, della motilità o della vitalità degli spermatozoi, ma dall'azione, attraverso un meccanismo ancora ignoto, di due glicoproteine presenti nel liquido follicolare che interferirebbero con l'interazione fra gameti (11).

Partendo dallo studio di Yao, Qiao et al. hanno dimostrato che gli spermatozoi incubati con liquido follicolare di pazienti con endometriosi presentano una capacità legante la zona pellucida inferiore rispetto agli spermatozoi incubati con liquido follicolare di donne affette da infertilità tubarica (12).

Per valutare la capacità fecondante di ovociti di donne con endometriosi, si sono confrontate tali donne con pazienti apparentemente sane, in cicli di fertilizzazione *in vitro* (FIVET).

I risultati sono stati alquanto controversi, in quanto alcuni Autori hanno mostrato ridotti tassi di fertilizzazione nelle donne con endometriosi, mentre altri non hanno rilevato tale associazione negativa (13,14).

Nel nostro studio i tassi di fertilizzazione delle donne con endometriosi sono risultati essere inferiori rispetto al gruppo controllo (Tab. 1). Il numero degli ovociti recuperati, invece, non presenta sostanziali differenze tra i due gruppi: da ciò si evince come la qualità degli ovociti prelevati dal liquido follicolare delle donne affette da endometriosi possa presumibilmente influenzare negativamente il processo della fertilizzazione.

Inoltre dallo studio effettuato emerge una media di embrioni prodotti significativamente maggiore nelle donne affette da endometriosi, rispetto alle donne del gruppo controllo; ciò, tuttavia, non si accompagna ad un aumento del tasso di gravidanza. Questo può presumibilmente suggerire un possibile ruolo negativo della patologia endometriosa sull'impianto stesso dell'embrione.

Conclusioni

Quando associata con una condizione di infertilità, l'endometriosi spesso richiede la fecondazione assistita (IVF). La necessità della fecondazione *in vitro* al posto di altre tecniche di riproduzione assistita è correlata con la gravità delle lesioni endometriosiche. I risultati della fecondazione *in vitro* (in termini di tassi di gravidanza) sono influenzati da tre fattori: la scarsa riserva ovarica (e della risposta ovarica), la scarsa qualità degli ovociti e degli embrioni, la difficoltà dell'impianto.

Sembra che l'endometriosi lieve e moderata (punteggio I-II secondo l'*American Fertility Society*) abbia pochi effetti deleteri su riserva ovarica, risposta ovarica e tassi di gravidanza. Tutti questi parametri sono diminuiti in caso di endometriosi grave (III-IV, AFS).

Dai dati emersi dal nostro studio appare chiaro il ruolo prognostico negativo della patologia endometriosa sulla fertilità, intesa non solo come tasso di gravidanze, ma anche, e soprattutto, come indice di maturità e funzionalità ovcitaria ed embrionaria.

Bibliografia

1. Kennedy S, Bergqvist A, Chapron C, D'Hooghe T, Dunselman G, Greb R, Hummelshoj L, Prentice A, Saridogan E. ESHRE guideline for the diagnosis and treatment of endometriosis. *Hum Reprod* 2005;20:2698-2704.
2. Farquhar C. Endometriosis. *BMJ* 2007;334:249-253.
3. Nothnick WB, D'Hooghe TM. Medical management of endometriosis: novel targets and approaches towards the development of future treatment regimes. *Gynecol Obstet Invest* 2003;55:189-198.
4. Hemmings R, Rivard M, Olive DL, Poliquin-Fleury J, Gagne D, Hugo P, Gosselin D. Evaluation of risk factors associated with endometriosis. *Fertil Steril* 2004;81:1513-1521.
5. Pugsley Z, Ballard K. Management of endometriosis in general practice: the pathway to diagnosis. *Br J Gen Pract* 2007;57:470-476.
6. D'Hooghe T, Debrock S., Hill JA, Meuleman C. Endometriosis and subfertility: is the relationship resolved? *Semin Reprod Med* 2003;21(2):243-54.
7. Pizzo A, Salmeri FM, Ardita FV, Sofo V, Tripepi M, Marsico S. Behaviour of cytokine levels in serum and peritoneal fluid of women with endometriosis. *Gynecol Obstet Invest* 2002;54:82-87.
8. Ozkan S, Murk W, Arici A. Endometriosis and infertility: epidemiology and evidence-based treatments. *Ann NY Acad Sci* 2008;1127:92-100.
9. Juang CM, Chou P, Yen MS, Twu NF, Horng HC, Hsu WL. Adenomyosis and risk of preterm delivery. *BJOG* 2007;114:165-169.
10. Fernando S, Breheny S, Jaques AM, Halliday JL, Baker G, Healy D. Preterm birth, ovarian endometriomata, and assisted reproduction technologies. *Fertil Steril* 2009;91:325-330.
11. Yao YQ, Yeung WSB., and Ho PC. Human follicular fluids inhibits the binding of human spermatozoa to zona pellucida in vitro. *Hum Reprod* 1996;11:2674-2680.
12. Qiao J, Yeung WS, Yao YQ, Ho PC. The effects of follicular fluid from patients with different indications for IVF treatment on the binding of human spermatozoa to the zona pellucida. *Hum Reprod* 1998;13:128-131.
13. Barnhart K, Dunsmoor-Su R, Coutifaris C. Effects of endometriosis on in vitro fertilization. *Fertil Steril* 2002;66:1148-1155.
14. Minguez Y, Rubio C, Bernal A, Gaitan P, Remohi J, Simon C, Pellicer A. The impact of endometriosis in couplet undergoing intracytoplasmic sperm injection because of male infertility. *Hum Reprod* 1997;12:2282-2285.