

UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI CATANIA

DIPARTIMENTO DI SCIENZE BIOLOGICHE, GEOLOGICHE ED AMBIENTALI

SEZIONE DI BIOLOGIA ANIMALE "M. LA GRECA"

CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN BIOLOGIA SANITARIA

MARIA RENATA RANIOLO

**QUALITÀ OVOCITARIA IN DONNE CON PCOS
TRATTATE MEDIANTE INOSITOLO**

Relatrice:

CHIAR.MA PROF.SSA RENATA VISCUSO

Correlatore:

DOTT. GIOVANNI BRACCHITTA

ANNO ACCADEMICO 2011 - 2012

INDICE

PREMESSA	3
INTRODUZIONE	7
CONCETTO DI INFERTILITÀ	7
EPIDEMIOLOGIA APPLICATA ALL'INFERTILITÀ	9
GAMETOGENESI.....	14
OVOGENESI	20
EVOLUZIONE DEI FOLLICOLI OOFORI.....	23
INFERTILITÀ FEMMINILE	28
CHE COS'È LA PCOS	36
CARATTERISTICHE DELLA PCOS.....	38
OBIETTIVI TERAPAUTICI NELLE PAZIENTI CHE DESIDERANO UNA GRAVIDANZA	42
L'INOSITOLE	44
IMPORTANZA DELL'INOSITOLE NELLA QUALITÀ E MATURAZIONE OVOCITARIA.....	46
TECNICHE DI PROCREAZIONE MEDICALMENTE ASSISTITA	53
SCOPO DEL LAVORO.....	59
MATERIALI E METODI	61
PRELIEVO OVOCITARIO	61

RISULTATI	69
DISCUSSIONE.....	72
CONCLUSIONI.....	76
BIBLIOGRAFIA.....	77

PREMESSA

La famiglia fra passato e presente:

"Negli ultimi trent'anni abbiamo attraversato la rivoluzione femminile, la fase di infantilizzazione del maschio che ha perso l'attitudine alla costruzione della famiglia e la conseguente perdita del senso della gravidanza da parte della donna".(Dott. Cianconi).

Confrontando la situazione dell'Italia oggi con quella di venti anni fa si evidenziano profonde modifiche che hanno prodotto importanti effetti non soltanto sul sistema economico ma anche sulle condizioni di vita della popolazione.

Secondo i primi risultati del 15° Censimento (Ottobre 2011) generale della popolazione e delle abitazioni, rispetto al 1991 la popolazione è aumentata del 4,7 %. E' notevolmente cresciuta l'immigrazione: solo negli ultimi dieci anni la popolazione straniera in Italia è triplicata.

Nel nostro Paese si vive più a lungo: la vita media continua ad aumentare ed è arrivata a 79,4 anni per gli uomini e 84,5 per le donne ma nonostante ciò si continuano a fare pochi figli. La combinazione tra aumento della sopravvivenza e persistente bassa fecondità ha reso l'Italia uno dei paesi con più elevato livello di invecchiamento: attualmente si contano 144 persone con 65 anni e oltre per ogni 100 con meno di 15, mentre nel 1992 questa proporzione era di 97 a 100.

La struttura delle famiglie italiane è cambiata: si è ridotto il numero dei componenti, sono diminuite le coppie coniugate con figli e sono aumentate le nuove forme familiari. La famiglia tradizionale non è più il modello prevalente nemmeno nel Mezzogiorno: negli ultimi venti anni le libere unioni sono quadruplicate e la quota di nati dai genitori non coniugati si è più che raddoppiata, raggiungendo il livello del 20 %.

Si esce dalla famiglia più tardi, si assiste ad uno spostamento in avanti di tutte le fasi della vita. La quota di giovani tra i 25 e i 34 anni che vive ancora nella famiglia di origine si è incrementata di quasi 9 punti ed è arrivata a circa il 42 %, quella di adulti (tra i 35 e i 44anni) si è addirittura raddoppiata e ha raggiunto il 7 %.

L'età media delle madri alla nascita del primo figlio cresce di generazione in generazione.

Le donne residenti in Italia hanno in media 1,42 figli: la fecondità italiana è scesa sotto il “livello di sostituzione” (2 figli per donna) dalla metà degli anni settanta, toccando un minimo di 1,19 nel 1995. A diminuire sono stati innanzitutto i figli di ordine elevato (terzogeniti o successivi) e in un secondo tempo anche i secondogeniti, soprattutto al Nord e al Centro dove si è largamente diffuso il modello del figlio unico.

La progressiva importanza assunta dalle nascite da madri straniere influenza sensibilmente gli indicatori di fecondità e spiega oltre la metà dell'aumento del numero medio di figli per donna che si è registrato a partire dagli anni novanta nelle regioni del Nord e del Centro. Nel 2011 il numero di figli medi per donna (1,42) deriva da valori pari a 2,07 per le residenti straniere e a 1,33 per le italiane. A causa del contributo della popolazione immigrata, maggiormente più concentrata nelle regioni settentrionali e centrali, la geografia della fecondità si è rovesciata nel corso dell'ultimo decennio: attualmente le regioni più prolifiche sono quelle del Nord (1,48 figli per donna) e del Centro (1,38 figli per donna), mentre nel Mezzogiorno si stimano solo 1,35 figli per donna nel 2011.

Recentemente si tende sempre più spesso a sottolineare che l'età femminile è uno dei fattori principali nel determinare la fertilità. Il fatto che l'età media in cui si cerca il primo figlio si sia spostata di circa 10 anni negli ultimi 70 anni è un dato accertato. Questo aspetto viene sottolineato con un vago accenno colpevolizzante nei confronti delle donne che cercano figli così tardi.

I fattori complessi di trasformazione sociale della società che hanno visto in 50 anni radicalmente mutarsi l'organizzazione

familiare e il ruolo della donna: completare i propri studi, cercare un lavoro soddisfacente, consolidare il proprio rapporto e progettare un figlio portano oggi la ricerca di una gravidanza nella quarta decade della vita.

INTRODUZIONE

Concetto di infertilità

Si è generalmente portati a distinguere tra il concetto di sterilità ed il concetto di infertilità: l'infertilità fa riferimento ai problemi connessi con l'attecchimento o con lo sviluppo dell'embrione, con conseguente incapacità di portare a termine la gravidanza per la donna; la sterilità si definisce come condizione di ostacolo per la fecondazione con conseguente mancanza di capacità procreativa sia nell'uomo che nella donna.

Secondo l'organizzazione Mondiale della Sanità (O.M.S.) e l'American Fertility Society (A.F.S.) una coppia è da considerarsi infertile quando non è in grado di concepire e di avere un bambino dopo un anno o più di rapporti sessuali; si distingue poi un' infertilità secondaria in quelle coppie che non riescono ad avere un bambino dopo una gravidanza coronata con successo.

La definizione di infertilità proposta dall'O.M.S e dall'A.F.S trae origine da un noto lavoro di M.J. Whitelaw pubblicato nel 1960 che dimostrava, sulla base di uno studio condotto in una popolazione omogenea degli Stati Uniti, come circa il 56% delle coppie sane concepiva entro il 1° mese di rapporti sessuali; il 78% entro il 6° mese e ben l'86% delle coppie concepiva entro il 12° mese.

Mentre sterile è quella coppia nella quale uno od entrambi i coniugi sono affetti da una condizione fisica permanente che non renda possibile avere dei bambini.

Nella donna esistono periodi fisiologici di sterilità identificabili come il periodo puberale e quello direttamente successivo alla menopausa.

Anche durante il normale ciclo mestruale la donna va incontro a periodi di sterilità fisiologica se si considera il fatto che la fecondazione dell'uovo è ottenibile solo tra il 12-20 giorno di ciclo. Durante il rapporto sessuale infatti, gli spermatozoi vengono depositati in fondo alla vagina, vicino al collo dell'utero. Gli spermatozoi passano attraverso il muco cervicale, entrano nell'utero e risalgono le tube di Falloppio, dove può avere luogo la fecondazione. Se questa avviene e tutte le condizioni sono favorevoli, l'ovulo fecondato si impianta in 6^a/7^a giornata nella mucosa uterina o endometrio, dando così inizio alla gravidanza. Una disfunzione o un ostacolo in qualsiasi punto di questo processo possono impedire che avvenga la gravidanza, portando la coppia ad interrogarsi circa la propria fertilità.

Epidemiologia applicata all'infertilità

L'applicazione dell'epidemiologia a questa condizione ha delle limitazioni che sono legate al fatto che non si tratta di analizzare le caratteristiche e la diffusione di un agente etiologico ben preciso; l'infertilità è infatti espressione di agenti etiologici diversi, talvolta sintomatici ma molto spesso asintomatici da un punto di vista clinico. Una ridotta o totale incapacità riproduttiva è, inoltre, espressione dell'interazione di due differenti condizioni fisiche, quella maschile e quella femminile.

Una stima dell'infertilità di una popolazione deve quindi necessariamente utilizzare dei metodi approssimativi di tipo indiretto o diretto.

Una stima indiretta prende in considerazione il numero complessivo di coppie in età feconda che non hanno avuto figli; tale tipo di indagine può avere il rischio di una sovrastima dei dati, in quanto l'assenza di figli, in una certa percentuale di casi, è una scelta e non un effetto dell'infertilità. Il rischio di sovrastima dei dati è reale nei paesi industrializzati dove la scelta dell'uso di mezzi contraccettivi è più diffusa, viceversa nei paesi in via di sviluppo questo rischio è irrilevante a causa delle

differenti condizioni socio-culturali che non hanno portato ancora ad una completa separazione della sessualità dalla procreazione.

Le stime dirette dell'infertilità sono certamente più affidabili, in quanto si basano su indagini demografiche specifiche condotte sull'intera popolazione o su "gruppi campione". Queste indagini permettono di determinare quante coppie al momento dell'inchiesta sono:

- 1) volontariamente o involontariamente non procreanti;
- 2) affette da infertilità primaria;
- 3) affette da infertilità secondaria;

L'evidenza di un progressivo calo della crescita demografica nei Paesi occidentali, maggiormente industrializzati, ha fatto sorgere il dubbio che ciò potesse essere connesso anche ad un incremento dei casi di infertilità e sterilità.

Purtroppo in Italia abbiamo esclusivamente come parametri di riferimento solo i dati ISTAT che considerano esclusivamente gli indici di natalità e di fecondità senza una analisi precisa dell'incidenza dell'infertilità e della sterilità.

Tale incremento nei paesi occidentali è dovuto a numerosi fattori:

- età media dei coniugi (mediamente più elevata rispetto al passato);

- difficoltà ed esigenze sociali che inducono la coppia a programmare il concepimento in un'epoca più tardiva;
- incremento delle malattie sessualmente trasmesse (le flogosi cervico-vaginali oltre ad essere frequentemente un fattore di dispareunia (rapporti sessuali dolorosi) alterano le condizioni microambientali locali ed hanno talvolta un effetto spermiossico diretto; inoltre, per via ascendente, possono essere responsabili di endometriti, flogosi pelviche con conseguente occlusione tubarica. Inoltre la maggiore liberalizzazione dei costumi ed una diversa visione della sessualità ha favorito un incremento delle malattie sessualmente trasmesse ed accanto alle malattie veneree comunemente conosciute quali la Sifilide e la Gonorrea, sono emersi nuovi agenti patogeni, anche più insidiosi, fra i quali, per rilevanza clinica, va ricordata la Chlamydia.

La ricerca di anticorpi anti-Chlamydia e dello stesso protozoo sono risultati frequentemente positivi in soggetti infertili altrimenti clinicamente normali e in donne con occlusioni tubariche, aderenze pelviche o affette da abortività ripetuta);

- stress (sia nell'uomo che nella donna i peptici oppioidi endogeni sono tra i principali protagonisti della risposta endocrina allo

stress; i livelli dell'attività endorfinica aumentano sensibilmente durante l'evento stressante e questo incremento è probabilmente responsabile dell'innalzamento dei livelli di prolattina e della riduzione dei livelli di LH osservati in questi pazienti);

- abitudini voluttuarie (tabagismo, uso di droghe, abuso di alcol ed altro);
- nuovo ruolo sociale della donna che, essendo sempre di più allontanata dal nucleo familiare, convive sempre meno con il proprio coniuge;
- inquinamento;

In base a quanto esposto possiamo dire che è utile un attento monitoraggio epidemiologico del fenomeno sia in sede locale che nazionale ed internazionale.

Tale monitoraggio per essere efficace deve essere condotto non solamente attraverso l'analisi di dati demografici, ma soprattutto attraverso l'utilizzo di inchieste di tipo diretto mirate ad individuare il problema riproduttivo nelle sue diverse espressioni. Solo così sarà possibile riconoscere e studiare più approfonditamente i fattori di rischio e condurre idonee campagne informative di prevenzione.

Ad esempio per quanto riguarda l'infertilità maschile in Italia nonostante negli ultimi anni gli uomini abbiano preso maggior

coscienza del loro ruolo primario nelle difficoltà legate al concepimento, la quasi totalità (**90%**) non fa prevenzione e non consulta l'andrologo preventivamente, dato oltremodo allarmante tenendo conto che la maggior parte dei casi di infertilità maschile hanno origine da patologie uro-genitali, che in diversi casi si possono prevenire o curare.

Un secondo dato preoccupante è che ben il **50%** degli uomini italiani non si sottopone a visita andrologica nemmeno a seguito di una diagnosi di infertilità.

Apparato genitale femminile

L'apparato genitale femminile ha il compito di produrre i gameti femminili (oociti) e di secernere ormoni sessuali; è inoltre la sede della copula, della fecondazione e della gravidanza e, al termine della gravidanza, dà passaggio al feto. È costituito dalle ovaie, le gonadi femminili, dalle vie genitali (tube uterine, utero, vagina) e dai genitali esterni.

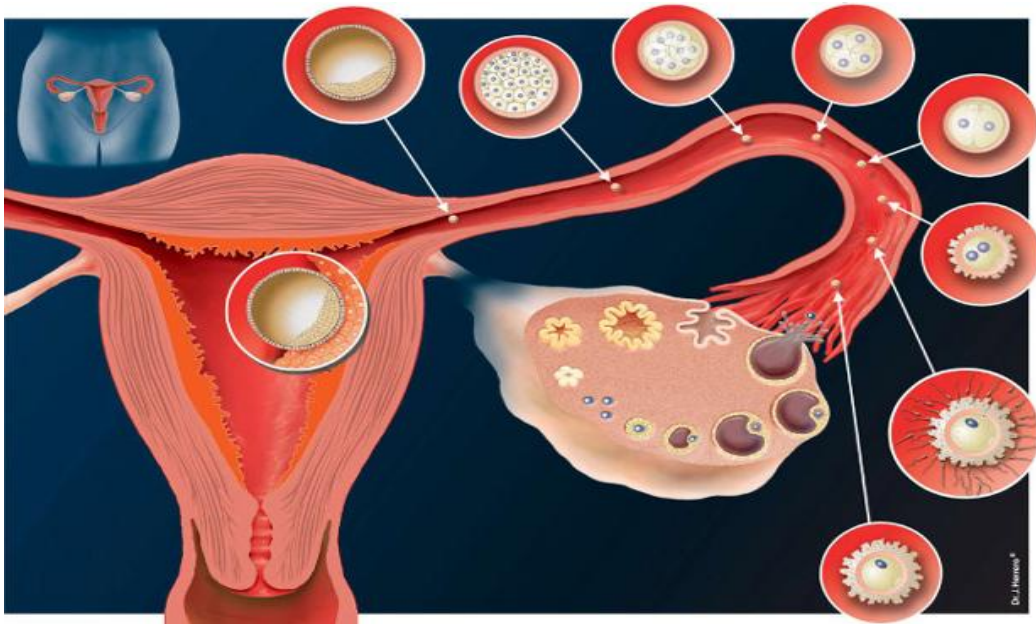


Figura 1: apparato genitale femminile

L'ovaio, organo pari, è la sede di maturazione degli oociti, che vengono rilasciati al momento dell'ovulazione. Secerne inoltre gli ormoni sessuali femminili (estrogeni e progesterone) e una piccola quantità di ormoni androgeni.

Ha la forma di una “mandorla” ed esternamente è rivestito da un epitelio isoprismatico denominato *epitelio superficiale*

dell'ovaio. Sotto l'epitelio è presente uno strato di connettivo denso, detto *tonaca falsa albuginea*, che delimita il parenchima dell'organo. Quest'ultimo è formato da una zona corticale periferica e una zona midollare centrale.

La *zona corticale* è la parte più periferica dell'organo ed è caratterizzata dalla presenza dei follicoli oofori in vari stadi di maturazione e dalle formazioni che da essi derivano: i corpi lutei, i follicoli atresici e i corpi albicanti. I follicoli oofori sono immersi in uno stroma di tessuto connettivo, ricco di cellule, che partecipa alle modificazioni morfologiche e funzionali dei follicoli stessi durante il ciclo ovario.

La *zona midollare* dell'ovaio occupa la porzione centrale dell'organo ed è costituita da tessuto connettivo lasso contenente fibre elastiche e fibre muscolari lisce; le arteriole che la irrorano formano una sorta di tessuto erettile che riempiendosi di sangue può facilitare lo scoppio dei follicoli oofori.

Le tube o trombe uterine (di Falloppio o di Salpingi) sono due condotti, posti a lato dell'utero che collegano l'ovaio alla cavità uterina. Oltre a dare passaggio all'oocito consentono anche la migrazione e la capacitazione degli spermatozoi e rappresentano la sede dell'eventuale fecondazione.

Ogni tuba è lunga circa 12 cm ed è suddivisibile in quattro porzioni: infundibolare (o padiglione), ampollare, istimica e intamurale. In connessione alle tube vi è l'utero, organo impari posto al centro della piccola pelvi nel quale si possono riscontrare una porzione superiore (*fondo*), una intermedia (*corpo*) e una inferiore (*collo*) separate da una parte ristretta, l'*istmo*. Ha la forma di una "pera" con la base posta in alto ed in avanti e presenta tre tonache che dall'interno verso l'esterno sono:

- tonaca mucosa o endometrio;
- tonaca muscolare o miometrio;
- tonaca sierosa o perimetrio.

L'utero rappresenta l'organo della gestazione nel quale si annida la blastocisti e si sviluppa il feto che al termine della gravidanza, per contrazione della robusta tonaca muscolare, viene espulso (*parto*) assieme alla placenta (*secondamento*).

La vagina è un canale muscolo-membranoso impari lungo 7-8 cm. Rappresenta l'organo copulatore, dà passaggio al flusso mestruale e, durante il parto, al feto.

Gli organi genitali esterni costituiscono nel loro complesso la *vulva* (o pudendo femminile) e sono rappresentati da formazioni cutanee, corpi erettili e ghiandole. In particolare :

- un rilievo cutaneo detto *monte del pube* (o di Venere);
- due spesse pieghe cutanee arcuate dette *le grandi labbra*;
- due pieghe cutanee più sottili delle grandi labbra tra cui sono comprese dette *piccole labbra*;
- uno spazio ovalare compreso tra le piccole labbra detto *vestibolo della vagina*;
- le formazioni erettili rappresentate da un organo impari mediano, *il clitoride*, e da due formazioni laterali, *i bulbi del vestibolo*.
- Le ghiandole annesse ai genitali esterni sono le *ghiandole vestibolari* e le *ghiandole parauretrali*. Le ghiandole vestibolari maggiori e minori sono ghiandole tubuloalveolari composte secernenti muco. Le ghiandole parauretrali (di Skene) sono anch'esse tubuloalveolari composte secernenti muco; tutte hanno funzione lubrificante durante la copula.

Gametogenesi

Il ciclo riproduttivo sessuato prevede la formazione nei due sessi di cellule apolidi (*gameti*), così che con la *fecondazione* si ripristini il corredo diploide delle cellule somatiche. Il dimezzamento del corredo cromosomico, cui peraltro si accompagna la ricombinazione genica tra i cromosomi omologhi di origine paterna e materna, si ottiene con la *meiosi*, modalità esclusiva delle cellule germinali. Da essa risulta infatti che le cellule germinali fecondanti hanno corredo apolide, ma sono anche caratterizzate da cromosomi che, grazie alla ricombinazione, hanno nuovi corredi di geni che rendono ciascun gamete unico.

L'*ovogenesi* e la *spermatogenesi* hanno inizio durante lo sviluppo embrionale con la comparsa di cellule germinali primordiali (PCG). Dalla parete del sacco vitellino, dove sono inizialmente identificabili, esse migrano nelle creste genitali, che evolvono successivamente in ovaio nella femmina e in testicolo nel maschio. Nella cresta genitale, che viene denominata gonade fetale allorché acquisisce caratteristiche tipiche del sesso, le cellule germinali primordiali si dividono per mitosi dando un elevato numero di *oogoni* nella femmina e di *spermatogoni* nel maschio. A partire da questo punto le modalità con cui i due

processi evolvono sono nettamente diverse nei due sessi, anche se il risultato finale è fondamentalmente lo stesso e cioè la produzione di cellule germinali mature lungo tutto il periodo di vita fertile dell'individuo adulto, produzione che è ciclica nella femmina, mentre è continua nel maschio.

Ovogenesi

Le cellule germinali primordiali, gli oogoni, sono rintracciabili nella gonade fetale a partire dalla 11-12^a settimana di gestazione. Tali cellule si moltiplicano con divisioni mitotiche sino al settimo mese di vita intrauterina, quando vengono circondate da uno strato di cellule follicolari appiattite costituendo il *follicolo primordiale*. Nel follicolo primordiale l'oogonio è diventato oocito primario, questa cellula inizia il processo meiotico arrestandosi però nello stadio di diplotene della profase della prima divisione meiotica, ovvero si blocca appena dopo l'appaiamento dei cromosomi, la comparsa dei chiasmi e il crossing-over. I follicoli primordiali sono, alla nascita, circa 1.000.000 in totale per le due ovaie e sono situati nella porzione più periferica della zona corticale delle due gonadi. Durante i primi 10-12 anni di vita della bambina i follicoli primordiali si riducono progressivamente di numero per generazione (*atresia follicolare*) e al momento della pubertà ne rimarranno attivi circa 400.000 (in totale per ambedue le ovaie).

La fase successiva dell'ovogenesi avviene dopo la pubertà e porta all'espulsione ciclica (*ovulazione*) nelle vie genitali femminili di uno o, più raramente, più ovociti dall'ovaio ogni 28 giorni.

La maturazione dell'oocito primario è sotto stretto controllo dell'FSH ipofisario ed è caratterizzata, poche ore prima dell'ovulazione, dalla ripresa della prima divisione meiotica e dalla divisione asimmetrica delle cellule con formazione dell'oocito secondario, che conserva quasi per intero il citoplasma, e del primo globulo polare, che ne contiene una piccola quantità e degenera. L'oocita secondario entra nella seconda divisione meiotica che tuttavia si arresta alla metafase II, e in tale stadio viene espulso dall'ovaio. Solo con la fecondazione (se avrà luogo) la seconda divisione meiotica viene conclusa con l'emissione del secondo globulo polare, mentre in assenza di fecondazione l'oocita degenera.

Considerando che una donna può essere feconda fino a circa 50 anni, è evidente che gli ultimi oociti che vengono ovulati prima della menopausa possono rimanere nello stato quiescente anche per oltre 40 anni.

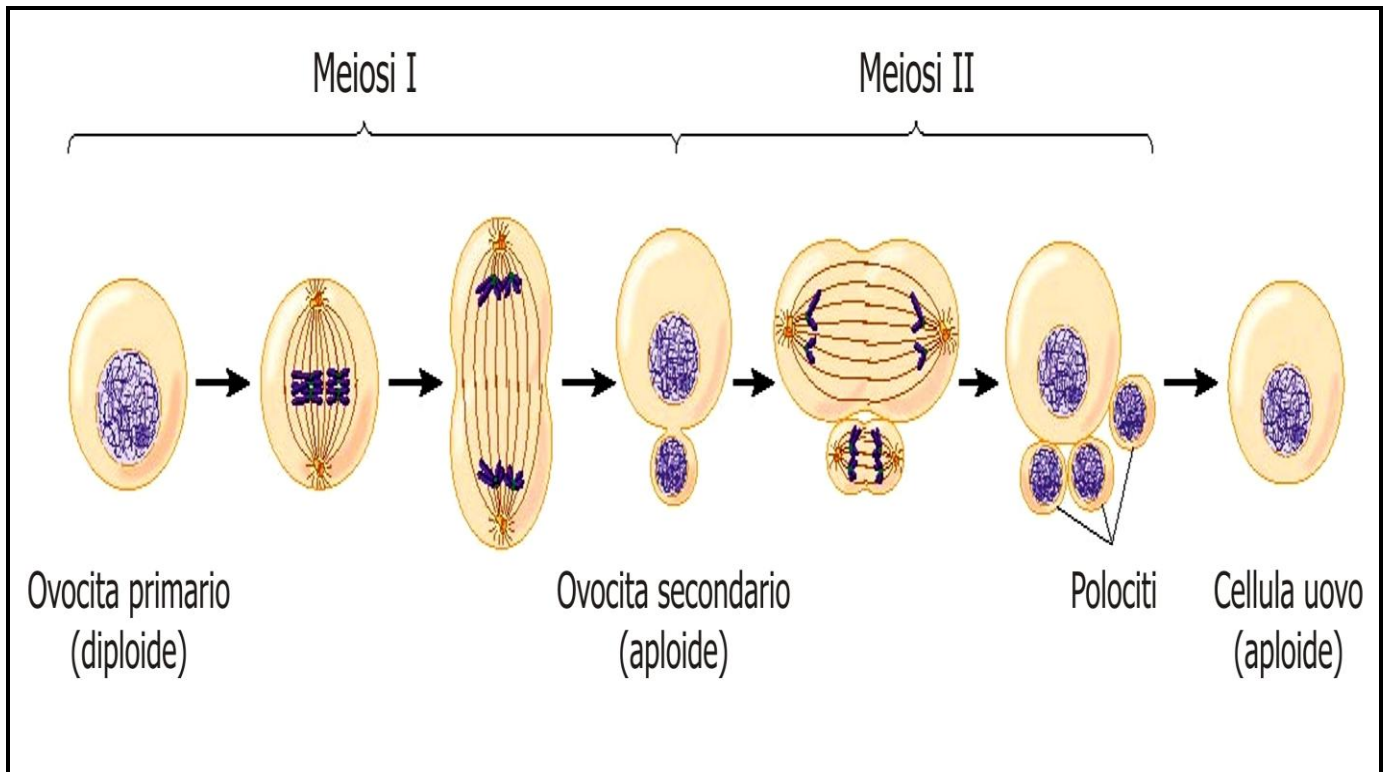


Figura 2: Ovogenesi

Evoluzione dei follicoli oofori

Le unità funzionali dell'ovaio deputate alla maturazione degli oociti e alla produzione degli ormoni sessuali femminili sono rappresentate dai *follicoli oofori*, costituiti da un oocito circondato inizialmente dalle cellule follicolari che a loro volta si circonda delle cellule tecali.

Il destino di ogni follicolo ooforo è determinato non solo dagli ormoni ipofisari FSH ed LH, ma anche da fattori paracrini intraovularici. Parallelamente all'evoluzione del follicolo ooforo, e sotto il controllo metabolico dello stesso follicolo, l'oocito in esso contenuto segue un peculiare processo maturativo caratterizzato dal progredire della meiosi.

Nella donna, soltanto una minima frazione (circa 400) dei 400.000 follicoli primordiali presenti nelle due ovaie alla pubertà diventa follicolo maturo di Graaf e giunge all'ovulazione durante l'intero arco della vita riproduttiva, fino alla menopausa.

I follicoli primordiali sono reclutati per l'accrescimento in maniera continua e ormone-indipendente fino alla fase di follicolo secondario, sotto l'influenza di fattori ovarici locali (GDF-9, C-kit).

I *follicoli oofori primordiali* sono costituiti da un oocita primario bloccato nella profase della prima divisione meiotica (durante gli

ultimi mesi di vita fetale), circondato dalle cellule follicolari, inizialmente appiattite e monostratificate.

I *follicoli oofori primari* sono poco più voluminosi dei precedenti, e sono formati da uno strato di cellule follicolari cuboidali o cilindriche che circondano l'oocita in via di maturazione. In questa fase l'oocito comincia a rivestirsi della *zona pellucida*, involucro glicoproteico da esso stesso sintetizzato.

Nei *follicoli oofori secondari*, le cellule follicolari proliferano sotto lo stimolo dell'ormone ipofisario FSH, si dispongono in più strati e producono un liquido che va a localizzarsi in spazi tra le cellule follicolari stesse. All'esterno della membrana basale che circonda il follicolo, le cellule connettivali dello stroma si dispongono concentricamente a formare le teche (*teca interna e teca esterna*).

Il *follicolo ooforo antrale o vescicoloso di Graaf* è caratterizzato dalla presenza di una cavità contenente liquido (*liquor follicoli*), che deriva dalla confluenza delle fessure e piccole cavità che si formano tra le cellule follicolari. Le cellule follicolari che circondano la cavità e l'oocito prendono il nome di *cellule della granulosa*. L'ampliamento della cavità del follicolo spinge l'oocito a ridosso della parete del follicolo stesso e le cellule

della granulosa che lo rivestono formano il *cumulo ooforo*, che sporge all'interno della cavità follicolare. Durante la maturazione l'oocito si accresce fino a raggiungere un diametro di circa 125-150 μm , senza presentare evidenti modificazioni nucleari.

Intorno al follicolo sono ben evidenti la teca interna, formata da alcuni strati di cellule poliedriche steroidogeniche che producono prevalentemente androgeni, e la teca esterna costituita da fibroblasti e da cellule muscolari lisce. Gli androgeni prodotti dalla teca interna sono trasportati all'interno delle cellule della granulosa, ove sono in estrogeni attraverso un processo di aromatizzazione, e immessi nel circolo capillare ematico, ben organizzato nella teca interna.

Il *follicolo ooforo maturo di Graaf* è un grosso follicolo vescicoloso di circa 19-24 mm di diametro, che si forma di norma in un solo ovaio, che sporge sulla superficie dell'organo. Nella parte più superficiale la parete del follicolo diventa molto sottile e presenta lo *stigma*, cioè il punto in cui avrà luogo la rottura del follicolo stesso. In questa fase, poche ore prima dell'ovulazione, l'oocito primario completa la prima meiosi e diventa oocito secondario. Immediatamente inizia la seconda fase della meiosi, che si arresta in metafase II e completerà la maturazione soltanto al momento della fecondazione, se questa

avrà luogo. Il follicolo è pronto per deiscenza e infatti, in risposta ad un picco di LH ipofisario, il follicolo scoppia e si apre a livello dello stigma, proiettando all'esterno il liquor e l'intero cumulo ooforo, cioè l'ocito secondario circondato da una corona radiata di cellule della granulosa (*ovulazione*).

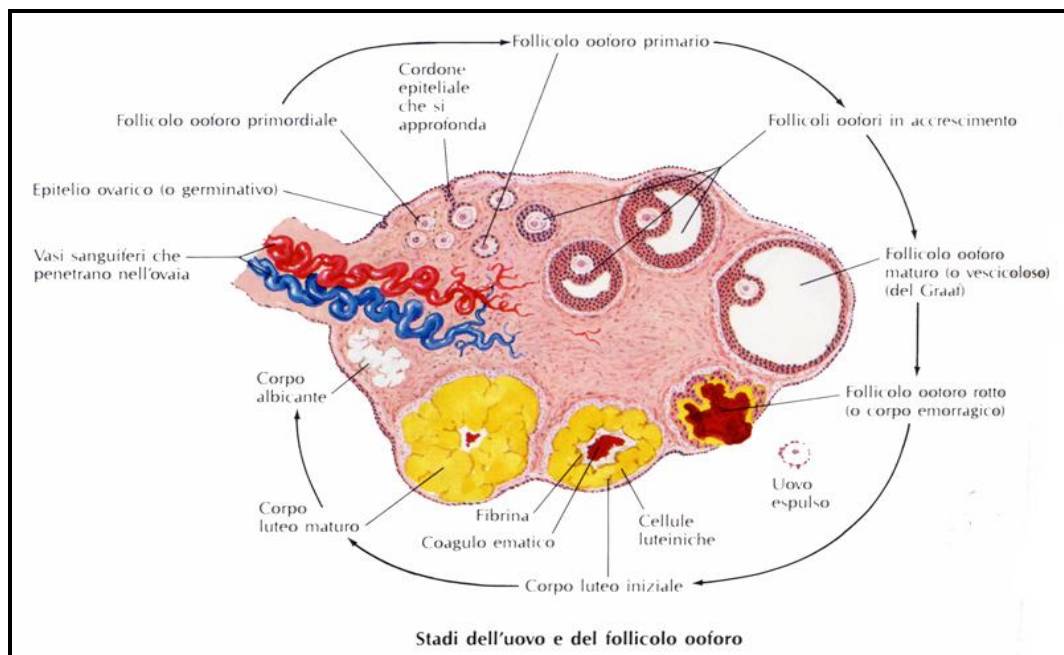


Figura 3: maturazione follicoli oofori

Il *corpo luteo* si forma per la trasformazione che subisce il follicolo maturo dopo la deiscenza. Al momento dell'ovulazione, il follicolo ooforo si svuota della maggior parte del suo contenuto e la cavità si riempie di un coagulo sanguigno. Successivamente i vasi delle teche proliferano e penetrano nel coagulo portando con sé fibroblasti che producono fibre e matrice extracellulare. Per effetto dell'LH ipofisario le cellule follicolari residue proliferano e diventano *cellule luteiniche* steroidogeniche, che iniziano a

produrre progesterone, mentre le cellule della teca interna (*cellule paraluteiniche*) continuano a produrre estrogeni, indispensabili per la formazione dei recettori per il progesterone.

Se dopo l'ovulazione, l'oocito non viene fecondato, il corpo luteo rimane attivo una dozzina di giorni e prende il nome di *corpo luteo mestruale*; se invece ha inizio la gravidanza, il corpo luteo aumenta di dimensioni e rimane attivo per 3-4 mesi prendendo il nome di *corpo luteo gravidico*.

Infertilità Femminile

L'infertilità femminile può essere dovuta a diversi fattori: fattore neuro-endocrino, tubarico, uterino-endometriotico, immunologico, cervicale e ovulatorio

FATTORE NEUROENDOCRINO

Si calcola che il 40-50% dell'infertilità femminile abbia origine da disfunzioni endocrine. Qualunque anomalia lungo l'asse ipotalamo-ipofisi-gonadi può portare o ad una mancanza di ovulazione o ad un alterato ciclo ovulatorio oppure ad una secrezione ormonale disregolata.

Perché avvenga l'ovulazione si deve produrre una sorta di "reazione a cascata" ormonale. Alcuni neuroni dell'ipotalamo liberano l'ormone chiamato GnRH, questo raggiunge la ghiandola pituitaria anteriore che, a sua volta, rilascia le gonadotropine, cioè gli ormoni follicolo-stimolante (FSH) e luteinizzante (LH). Sono questi ad agire sull'ovaio portando a maturazione il follicolo e, quindi, alla produzione della cellula uovo; se infatti il follicolo non viene portato a completa maturità, sino al rilascio della cellula uovo, non potrà avvenire l'incontro di quest'ultima con gli spermatozoi ed il conseguente concepimento.

I principali problemi ormonali che causano sterilità sono:

A) **“FSH basso - ipogonadismo ipogonadotropo”**: consiste nello scarso funzionamento delle gonadi e nella ridotta produzione di gonadotropine. Di norma bassi livelli di GnRH sono correlati a problemi dell’ipotalamo la cui funzionalità può essere compromessa da neoplasie o altri tipi di lesioni; mentre bassi livelli di FSH o LH sono correlati a problemi dell’ipofisi. In questo caso si parla di ipogonadismo centrale.

In alcuni casi sono il “semplice” risultato di un forte stress emotivo o fisico; alcune atlete, ad esempio, soffrono di amenorrea (mancanza di mestruazione per almeno tre mesi consecutivi) a causa dell’eccesso sforzo profuso nell’attività sportiva. Questo è un esempio di ipogonadismo primario in cui la causa è un mal funzionamento delle gonadi.

Anche disagi psichici, quali l’anoressia o la bulimia, possono determinare sterilità femminile su base ormonale.

B) **“FSH elevato - ipogonadismo ipergonadotropo”** : consiste in un mal funzionamento delle gonadi (cioè delle ovaie) accompagnato ad un aumento delle gonadotropine; le ovaie non svolgono il loro lavoro e non rispondono agli stimoli del cervello; e poiché l’ipofisi, per sollecitare le ovaie a lavorare,

mette in circolo maggiori quantità di ormone follicolo stimolante (l'FSH appunto) il risultato è un aumento di questo ormone.

C) **“l'iperprolattinemia** : è un ormone prodotto dall'ipofisi; il suo ruolo fisiologico nella donna è quello di preparare durante la gravidanza, in sinergismo con estrogeni e progesterone, la ghiandola mammaria alla lattazione e successivamente al parto quello di mantenere e promuovere la lattazione.

A causa di stress, all'uso di particolari farmaci, o alla presenza di adenoma ipofisario si può verificare un rilascio eccessivo di prolattina; elevati livelli di quest'ultima possono interferire con la produzione di GnRH e con il funzionamento delle ovaie, causando anovulazione e irregolarità mestruale.

D) **“l'ipotiroidismo”**: le disfunzioni della tiroide possono interferire con la fertilità, causando irregolarità mestruali e disturbi dell'ovulazione.

È soprattutto l'ipotiroidismo ad interferire con la fertilità.

In primo luogo il rallentamento generale del metabolismo che si ha nell'ipotiroidismo provoca un rallentamento anche del metabolismo degli ormoni sessuali ed in particolare dell'FSH, la cui quantità di conseguenza può aumentare. In secondo luogo quando la tiroide non lavora abbastanza l'ipotalamo e l'ipofisi cercano di stimolarla aumentando la quantità di TRH (ormone di

rilascio della tireotropina) e di TSH (ormone tireostimolante), il quale a sua volta provoca un aumento della prolattina che può causare iperprolattinemia.

Un lieve aumento della prolattina non dà in genere alcun sintomo, ma all'aumentare dei valori si hanno in genere disturbi dell'umore (ansia, irascibilità), irregolarità mestruale. La mancanza delle mestruazioni e la galattorrea (cioè la fuoriuscita di latte dai capezzoli) si hanno solo se la prolattina è molto alta.

FATTORE TUBARICO

Il fattore tubarico di infertilità comprende una serie di condizioni che determinano alterazioni od ostruzioni delle tube di Falloppio che, in genere, si associano a malattia infiammatoria pelvica o a precedente chirurgia pelvica o tubarica.

Le alterazioni della funzionalità tubarica possono essere causa di infertilità interferendo con la captazione dell'ovocita e con la sua migrazione nella tuba, oppure possono determinare una alterazione quantitativa o qualitativa del fluido tubarico che a sua volta può interferire con il processo di fecondazione dell'ovocita da parte dello spermatozoo.

In genere si hanno però delle lesioni ostruttive a carico della tuba. Tali lesioni possono realizzarsi a vari livelli : prossimalmente o distalmente rispetto alla cavità uterina. Mentre

le lesioni prossimali possono essere più probabilmente ricondotte ad un processo flogistico ascendente (cioè che risale dall'utero), quelle distali vengono più facilmente ricondotte a processi infiammatori che originano dall'intestino o dagli organi pelvici.

FATTORE ENDOMETRIOSICO

E' una malattia cronica ginecologica caratterizzata dalla presenza di endometrio, mucosa che riveste la cavità uterina, in sedi ectopiche, esterne alla cavità, ove normalmente non dovrebbe essere rappresentato. Questo tessuto si va a localizzare in organi quali: ovaio, tube, peritoneo, legamenti utero-sacrali, vagina, vescica, intestino, e setto retto-vaginale.

Le “isole endometrioidiche” possono bloccare le tube di Falloppio o alterare i processi ovulatori.

Inoltre ogni mese, per effetto dell'attività ormonale ovarica, il tessuto endometriale impiantato in sede anomala va incontro a sanguinamento, nello stesso modo in cui si verifica per l'endometrio in fase di desquamazione mestruale. Tale sanguinamento comporta un'irritazione dei tessuti circostanti, che dà luogo all'innescamento di processi infiammatori con formazione di tessuto cicatriziale ed esiti aderenziali.

FATTORE CERVICALE:

Gli spermatozoi per raggiungere e penetrare l'ovocita da fecondare devono compiere un lungo percorso attraverso il tratto genitale femminile, e la cervice uterina ha un ruolo importante in questo processo. Essa, con la sua attività secretiva, svolge le seguenti funzioni:

1. Protegge lo spermatozoo dall'ambiente vaginale ostile.
2. Fornisce l'energia aggiuntiva necessaria allo spermatozoo.
3. Facilita il passaggio dello sperma dalla vagina all'utero durante il periodo ovulatorio
4. Preserva gli spermatozoi vitali entro le cripte cervicali e consente la loro liberazione fino a 3 giorni dall'eiaculazione.

Spesso si manifesta come un'incapacità a produrre il normale muco cervicale nella quantità e caratteristiche idonee. Ciò può essere causato anche da infezioni che hanno danneggiato le ghiandole che producono il muco. Altre volte nella cervice si trovano anticorpi antispermatozoo che sono in grado di immobilizzare gli spermatozoi stessi, anche in presenza di una quantità e di una consistenza normali di muco cervicale. Tale condizione viene spesso detta “**incompatibilità di coppia**”: si tratta di una forma di infertilità immunologica molto rara.

In tutti questi casi il collo dell'utero può rappresentare una barriera davvero impenetrabile.

Oggetto del nostro studio è stata l'alterazione del muco cervicale nell'interazione con gli spermatozoi.

FATTORE OVULATORIO

La maturazione periodica ed il rilascio dell'ovocita pronto per essere fecondato sono una tappa fondamentale del processo riproduttivo femminile; disfunzioni ovulatorie possono essere fonte di sterilità femminile.

Esempio sono:

a) **”la sindrome del follicolo luteinizzato”**: è una rara disfunzione ovulatoria, caratterizzata dalla presenza nelle ovaie di follicoli che si trasformano direttamente in corpo luteo senza rilasciare l'oocita; di conseguenza i cicli sono anovulatori.

c) Si parla di **“insufficienza della fase luteale”** quando la fase luteale del ciclo (durante la quale il corpo luteo rilascia progesterone per mantenere alto l'endometrio), dura meno di 10-11 giorni. Così l'endometrio non si sviluppa abbastanza da consentire il mantenimento dell'impianto dell'embrione.

b) **“la sindrome dell'ovaio policistico”** : è un disturbo complesso delle ovaie; gli ovociti maturi vengono periodicamente espulsi dall'ovaio durante il processo di

ovulazione per essere fecondati ad opera degli spermatozoi. In presenza di questa sindrome le ovaie hanno dimensioni superiori alla media e presentano al loro interno numerose cisti, piccole cavità ripiene di liquido; la superficie esterna appare punteggiata da un numero anomalo di piccoli follicoli.

I follicoli ovarici presentano differenti stadi di sviluppo; la loro maturazione è influenzata da alcuni ormoni prodotti dall'ipofisi, una ghiandola endocrina situata alla base dell'encefalo. Nella sindrome dell'ovaio policistico molti follicoli non raggiungono mai il completo sviluppo, l'ovulazione avviene raramente e le pazienti presentano una condizione di infertilità. I cicli mestruali sono irregolari: possono trascorrere anche molte settimane senza che si presenti una mestruazione. Altri segni della sindrome sono una condizione di sovrappeso e la presenza di un'eccessiva quantità di peli superflui.

Il nostro studio è stato incentrato sull'associazione tra la qualità ovocitaria in donne con PCOS ed il loro trattamento mediante mioinositolo.

Che cos'è la PCOS

Nel 1935 due ginecologi, Stein e Leventhal, hanno descritto per la prima volta una “sindrome” caratterizzata da ovaie micropolicistiche associate a disturbi del ciclo mestruale, irsutismo (abnorme distribuzione e crescita dei peli) ed obesità. Solo successivamente, però, sono stati individuati i meccanismi e le alterazioni che rendono la *policistosi ovarica* o *sindrome di Stein-Leventhal* od *ovaio policistico*, (**PCO**) una patologia molto più complessa di quella originariamente descritta.

La PCOS, (derivante dall'inglese *PolyCystic Ovary Syndrome*) è un disordine endocrino che colpisce il 5-10 % della popolazione femminile. Questa sindrome, che si rintraccia in tutto il mondo, è il disordine ormonale più comune delle donne in età riproduttiva. Oltretutto è una delle cause principali di infertilità femminile. I sintomi e la gravità della malattia fluttuano molto tra le donne.

Della sindrome si utilizzano generalmente due definizioni:

- Nel 1990 il NIH (National Institutes of Health) e il NICHD (The Eunice Kennedy Shriver National Institute of Child) hanno elaborato i criteri diagnostici della sindrome: (1) iperandrogenismo (clinico o biochimico), (2) oligo-ovulazione, e (3) esclusione di altri disordini che causano ovaio policistico.

- Attualmente la diagnosi di PCOS viene posta in base ai criteri proposti nel 2003 dal Rotterdam ESHRE (*European Society of Human Reproduction and Embryology*) /ASRM (*American Society of Reproductive Medicine*) *PCOS Consensus Workshop Group* che definisce come PCOS la presenza di almeno due dei seguenti criteri:

1. oligomenorrea e/o anovulazione;
2. segni clinici e/o biochimici di iperandrogenismo;
3. ecostruttura policistica dell'ovaio;

in assenza di iperplasia surrenale congenita, sindrome di Cushing e tumori surrenalici o ovarici secernenti androgeni.

Nel caso tali criteri non siano soddisfatti totalmente si può parlare di un quadro *PCOS-like*.

La PCOS viene in questo modo definita come una patologia funzionale e non primariamente come un'alterazione anatomica dell'apparato genitale: l'ingrandimento delle ovaie e la loro presentazione cistica (cioè proprio ciò che indusse Stein e Leventhal a dare questo nome alla sindrome) non sono necessari per fare diagnosi.

Caratteristiche della PCOS

Alcuni sintomi e segni comuni della sindrome sono:

- **Alterazioni del ciclo mestruale**, per esempio *oligomenorrea* (ciclo di durata superiore a 28 giorni) e l'*amenorrea* (assenza di mestruazioni);
- **Infertilità femminile**, che si verifica nella maggior parte dei casi a causa dell'anovulazione cronica;
- **Alopecia androgenica**, ossia perdita dei capelli tipica del sesso maschile;
- **Acne**, pelle unta e dermatite seborroica;
- **Acanthosis nigricans**, ovvero la presenza di macchie scure sulla pelle;
- **Molluschi penduli** (fibromi molli);
- **Prolungati periodi di sindrome premestruale**, con sintomi come gonfiore addominale, sbalzi di umore, dolore alla zona pelvica, mal di schiena;
- **Dolore pelvico cronico**, possibilmente dovuto alla pressione delle ovaie gonfie, anche se la causa non è sicura.
- **Apnea nel sonno**;

- **Elevati livelli nel sangue di ormoni maschili** (androgeni), nello specifico testosterone, androstenedione e DHEAS (*Deidroepiandrosteronesolfato*: ormone androgenico di origine surrenalica), che causano irsutismo e talvolta mascolinizzazione;
- **Obesità centrale**, ossia obesità che si concentra nella metà inferiore del torace, dando al tronco la caratteristica forma a mela;
- **Cisti multiple nelle ovaie**, che ad un esame ecografico possono rassomigliare una collana di perle;
- **Ingrossamento delle ovaie a causa delle cisti** (le ovaie possono raggiungere dimensioni da 1.5 a 3 volte maggiori della norma);
- Superficie ovarica spessa, liscia, color perlaceo;
- Rapporto tra livelli di LH (ormone luteinizzante) e FSH (ormone stimolatore del follicolo) maggiore di 2.5, quando vengono misurati al terzo giorno del ciclo mestruale;
- **Bassi livelli di SHBG** (globulina che lega gli ormoni sessuali);
- **Iperinsulinemia.**

La **causa** non è stata identificata con chiarezza anche se sembra che tutto possa essere determinato da una alterata secrezione di due piccoli ormoni proteici secreti dall'Ipofisi: l'ormone Follicolo

Stimolante (FSH) e quello Luteinizzante (LH), molto importanti per il regolare funzionamento dell'ovaio.

Questi ormoni vengono prodotti e rilasciati nel sangue sotto il controllo di un complesso sistema neuro-endocrino che ha sede nelle aree più centrali del cervello. Nel sangue hanno un andamento pulsatile con una frequenza ben definita. E' proprio una frequenza pulsatile alterata unita anche ad una anomala concentrazione ematica dei due ormoni (LH superiore all'FSH) che sono ritenuti il momento determinante per l'insorgere della malattia. Un ruolo importante è stato più recentemente attribuito anche al frequente iperinsulinismo (aumentata secrezione di insulina) riscontrato in queste pazienti: l'eccessiva secrezione di insulina dopo ogni pasto disturberebbe il normale funzionamento dell'ovaio.

Le conseguenze a lungo termine della PCOS vanno ben al di là del solo apparato genitale e comprendono più elevati rischi di sviluppare patologie di tipo metabolico, cardiovascolare e neoplastico.

Le donne con PCOS, infatti, possono andare incontro con maggiore frequenza a:

- **obesità** con distribuzione del grasso di tipo androide;

- **JGT** (ridotta tolleranza al glucosio) e diabete mellito di tipo 2;
- **ipertensione** arteriosa e disfunzione vascolare endoteliale;
- **dislipidemia mista** con VLDL (very low density lipoprotein) e LDL (low density lipoprotein) elevate; HDL (high density lipoprotein) basse e trigliceridi elevati ;
- **aterosclerosi** delle coronarie e dei vasi periferici e cerebrali;
- **iperplasia** e **carcinoma dell'endometrio**; vi è un'iperstimolazione prolungata delle cellule endometriali da parte degli estrogeni, a causa del loro eccesso e della carenza di progesterone, che normalmente controbilancia tale azione proliferativa. Si può avere perciò un ispessimento del rivestimento uterino che, alla lunga, può sfociare nella neoplasia.

Obiettivi terapeutici nelle pazienti che desiderano una gravidanza

Oggi sappiamo che la PCOS rappresenta una sindrome dismetabolica molto complessa, caratterizzata da un'espressione fenotipica variabile, che coinvolge ipotalamo, ipofisi, le ovaie, il surrene, il tessuto adiposo periferico e il metabolismo insulinico.

Queste alterazioni, contribuiscono a creare uno squilibrio generalmente associato ai tre segni caratteristici: oligo-ovulazione, irsutismo ed infertilità.

Inoltre, con una certa frequenza, può essere presente aumento ponderale o obesità.

Si tratta, quindi, di una patologia dalle importanti implicazioni per la salute della donna, sia dal punto di vista della sua capacità riproduttiva, sia del suo stato metabolico.

Nelle pazienti desiderose di una gravidanza sicuramente uno dei principali obiettivi è quello di ristabilire il peso corporeo; l'attività fisica ed il calo di peso hanno un significativo impatto non solo sul quadro metabolico, ma anche sulla funzione ovarica e sul ripristino della fertilità nelle pazienti sovrappeso. Le donne sovrappeso infatti risultano avere una risposta peggiore alle terapie di induzione dell'ovulazione, e nelle tecniche di fecondazione assistita (*fertilization in vitro embryo transfer*,

FIVET; *intra cytoplasmic sperm injection*, ICSI) hanno una minor percentuale di gravidanze e un'aumentata frequenza di aborti spontanei.

Pertanto va ribadito che il cambiamento dello stile di vita resta una misura terapeutica essenziale, soprattutto nella pazienti sovrappeso, che spesso tende ad essere sottostimata.

Nella gestione della paziente con PCOS è possibile e a volte necessario attuare terapie complesse combinando molecole di vario tipo; a tal proposito recenti studi hanno incentrato la loro attenzione sull'importanza del liquido follicolare, in particolare l'alta concentrazione in esso di composti come il mioinositolo essenziale per una buona maturazione dell'ovocita.

Sfortunatamente più del 60 % dei cicli di fecondazione in vitro non da luogo a gravidanza e la qualità dell'ovocita è la principale causa di fecondazioni fallite nelle tecniche di riproduzione assistita. In effetti le tecniche di riproduzione assistita oggi puntano la loro attenzione ad ottenere un'alta qualità piuttosto che un numero elevato di ovociti ed embrioni.

L'inositolo

Una molecola promettente per l'ovaio policistico

L'inositolo è un poliolo carbociclico presente in natura sotto molteplici forma chimiche (isomeri), tra le quali spicca per il suo ruolo biologico di prim'ordine il mioinositolo (cis-1,2,3,5-trans-4,6-cicloesanesolo).

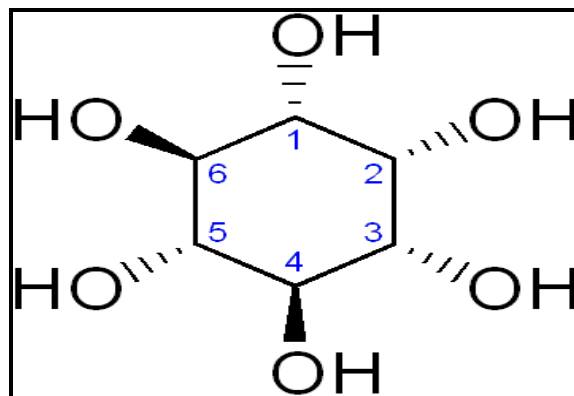


Figura 4: inositolo

In passato è stato chiamato vitamina B7, ad oggi questa definizione è stata considerata da molti autori impropria perchè, mentre le vitamine per definizione devono essere assunte con la dieta in quanto non sintetizzabili dall'organismo umano (nutrienti essenziali), è stato dimostrato recentemente che l'inositolo sembra che possa essere prodotto autonomamente dal corpo umano a partire dal glucosio.

Le principali fonti alimentari sono rappresentate dalla *crusca*, dai *cereali integrali*, dal *germe del grano*, dal *lievito di birra*, dagli *agrumi*, dalle *carni* in genere ed in modo particolare dal fegato.

Quest'ultimo rappresenta l'organo chiave per la sua sintesi endogena. Una volta prodotto, l'inositolo entra nelle cellule, dov'è in gran parte trasformato in fosfatidilinositolo.

Le azioni biologiche di questa sostanza sono molteplici e per certi versi ancora da chiarire; in particolare esso :

- regola il metabolismo degli zuccheri;
- funge da supporto nella costituzione delle pareti cellulari;
- regola alcune funzioni correlate alla trasmissione dei segnali cellulari (esempio la concentrazione intracellulare di calcio ed il potenziale di membrana);
- modula i segnali del sistema nervoso per regolare i livelli di serotonina;
- riduce i livelli circolanti di colesterolo nel sangue;
- regola alcuni meccanismi di espressione genica.

Scoperte recenti ne hanno decretato l'efficacia come supplemento soprattutto in altri ambiti, primo fra tutti la terapia dell'ovaio policistico.

Importanza dell'inositolo nella qualità e maturazione ovocitaria

Molte donne non sanno di soffrire di ovaio policistico finché non cercano una gravidanza, ma senza successo, e si rivolgono quindi al ginecologo, che effettua la diagnosi principalmente sulla base delle evidenze dell'ecografia, oppure sulla base della presenza di uno o più dei sintomi maggiormente caratteristici:

- Ciclo irregolare e spesso anovulatorio,
- Eccessiva crescita di peli sul viso,
- Acne,
- Disturbi legati al metabolismo degli zuccheri, che coinvolgono principalmente l'insulina.

Come già evidenziato dagli studi di Stein e Leventhal, l'ovaio in pazienti con PCOS può presentare caratteristiche peculiari, quali l'aumento delle sue dimensioni, l'ispessimento della capsula e presenza di cisti follicolari multiple ricoperte da stroma abbondante.

I follicoli generalmente crescono fino a raggiungere il diametro di 6-8 mm; a questo punto dovrebbe aver luogo la selezione del follicolo dominante, mentre qui assistiamo al blocco della crescita follicolare.

Un meccanismo proposto suggerisce che questo avviene a causa di una prematura sintesi da parte delle cellule follicolari della granulosa, di recettori per LH e quindi un aumento della sensibilità del follicolo a questo ormone ad uno stadio molto precoce dello sviluppo; questa sintesi precoce sarebbe indotta dall'insulina.

LH, che in condizioni fisiologiche è il principale regolatore di androgeni da parte della teca ovarica, nella PCOS tende ad essere prodotto in quantità maggiori, soprattutto per l'ampiezza, ma anche della frequenza dei picchi secretori con il risultato dell'iperproduzione di androgeni.

Pertanto nelle donne che vogliono andare incontro a gravidanza, gli obiettivi fondamentali sono quelli di indurre l'ovulazione, di determinare la maturazione follicolare, ovocitaria puntando ad un aumento della qualità degli ovociti stessi.

Fino a pochi anni fa il trattamento classico prevedeva la somministrazione della pillola anticoncezionale per qualche mese per ristabilire una situazione ottimale a livello delle ovaie, dopodichè si tentavano rapporti mirati eventualmente coadiuvati da farmaci.

Più recentemente è diventato al contrario molto più comune il consiglio dell'uso regolare di integratori a base di inositolo,

scelta che garantisce una buona efficacia e soprattutto la totale assenza di effetti collaterali.

Diversi studi hanno ormai dimostrato l'efficacia dell'inositolo nel trattamento della sindrome dell'ovaio policistico ed in particolare di molti disturbi ad esso associati :

- promuove una corretta ovulazione e quindi regolarizza il ciclo mestruale;
- migliora l'utilizzo del glucosio circolante (glicemia);
- riduce la quantità di ormoni maschili circolanti (riduce quindi l'eccessiva crescita di peli);
- migliora la pressione sanguigna;
- migliora i livelli circolanti dei trigliceridi.

Osservando gli effetti ed i benefici si evidenzia chiaramente che l'effetto dell'inositolo è diretto ad una regolarizzazione ed ottimizzazione di diversi sistemi metabolici ed ormonali.

Il mioinositolo svolge un ruolo importante nei processi cellulari ed in particolare: morfogenesi e citogenesi cellulare, sintesi dei lipidi, nella struttura delle membrane cellulari e nella crescita cellulare. È stato dimostrato che è il precursore dei fosfoinosidi ed è pertanto alla base del sistema di traduzione del

fosfatidilinositolo noto per essere coinvolto nella regolazione di diverse funzioni cellulari.

In particolare a livello dell'ovocita questo è responsabile della traduzione del messaggio attraverso la membrana plasmatica, mediante secondi messaggeri (es. l'inositolo 1,4,5-P₃: IP₃) che modulano il calcio intracellulare durante:

- maturazione dell'ovocita: nel momento in cui avviene la fecondazione, la cellula uovo si “attiva”, cioè riprende il processo meiotico. Una conseguenza di questo fenomeno è un aumento di circa 10 volte del calcio libero citoplasmatico;
- fecondazione: consente l'esocitosi dei granuli corticali che determina la liberazione di un pool di enzimi in grado di modificare la zona pellucida impedendo l'ulteriore legame di spermatozoi (*blocco lento alla polispermia*);
- fasi iniziali dello sviluppo embrionale: all'inizio della segmentazione i blastomeri sono tondeggianti e sono tenuti dentro la zona pellucida in maniera molto lassa, per cui i punti di contatto sono abbastanza limitati. Quando si raggiunge lo stadio di 8 blastomeri avvengono le prime significative variazioni nella morfologia e le cellule si

ammassano tra di loro. Successivamente i blastomeri si appiattiscono e si addossano gli uni agli altri, aumentando le superfici di contatto, per cui i confini cellulari diventano indistinti, e nel contempo si formano giunzioni intracellulari specializzate. Questo fenomeno si chiama di *compattazione* ed è calcio-dipendente.

Il ruolo biologico dell'inositolo comprende una specifica attività di controllo del metabolismo dei grassi e degli zuccheri e delle funzionalità cellulari del sistema nervoso. Nei casi di insulino-resistenza o di diabete di tipo II, l'inositolo contribuisce a migliorare il quadro clinico complessivo. In questo contesto l'inositolo può quindi risultare utile per prevenire e correggere i meccanismi fisiopatologici alla base delle alterazioni metaboliche e riproduttive connesse alla sindrome dell'ovaio policistico.

L'insulina gioca un ruolo fondamentale nel controllo endocrino e paracrino delle ovaie (stimolando la proliferazione cellulare). È oramai dimostrato che più del 70% delle pazienti con PCOS presentino insulinoresistenza.

Questo difetto metabolico è riferibile ad una ridotta funzionalità del recettore insulinico dovuta alla iperfosforilazione dei residui serinici del recettore stesso da parte di una serina-treonina chinasi.

Tale iperfosforilazione fa sì che quando l'insulina si lega al recettore questo "recepisce" meno fortemente la presenza del suo ligando endogeno con il risultato di una attenuazione del segnale endocrino dell'ormone e l'instaurarsi della condizione di insulinoresistenza.

Lo stesso meccanismo, agendo a livello del citocromo P450c17 (enzima coinvolto nella biosintesi degli ormoni steroidei), induce iperandrogenismo ovarico e surrenalico; infatti, l'iperfosforilazione della serina nella molecola dell'enzima (P450c-17) stimola significativamente l'attività steroidogenetica sia a livello ovarico sia a livello surrenalico causando un aumento della produzione di androgeni.

È stato infatti dimostrato che il trattamento con mioinositolo in pazienti affette da PCOS riduce l'insulino-resistenza garantendo il ripristino dell'ovulazione, e riducendo il rischio di iperstimolazione ovarica. Inoltre concentrazioni elevate di mioinositolo nel fluido follicolare umano sono state descritte

come marcatori di buona qualità ovocitaria. L'integrazione con mioinositolo nelle pazienti che si sottopongono a cicli IFV è anche positivamente correlata alla maturità ovocitaria ed alla progressione meiotica. Inoltre è stato dimostrato che nelle pazienti con PCOS il trattamento con mioinositolo riduce il numero di vescicole germinali, di ovociti degenerati al prelievo ovocitario e garantisce una buona qualità negli embrioni sviluppati dopo l'inseminazione.

Tecniche di Procreazione Medicalmente Assistita

Si definiscono come tecniche di PMA tutte quelle procedure che, agendo direttamente sugli spermatozoi (gamete maschile), gli ovociti (gamete femminile) o gli embrioni, consentono di superare alcuni ostacoli alla fecondazione naturale per un progetto finalizzato a realizzare una gravidanza.

Le tecniche di PMA sono attualmente rappresentate da una vasta gamma di opzioni terapeutiche a diverso grado di invasività, sia tecnica che psicologica sulla coppia. Tali tecniche vengono classificate in I, II, e III livello sulla base della loro complessità e del grado di invasività.

Essendo le pazienti con PCOS affette da anovulazione cronica ed infertilità, le tecniche di procreazione medicalmente assistita utilizzate per ovviare a questi problemi sono rappresentate o dalla FIVET (*Fertilizzazione In Vitro con Embryo Transfer*) o dalla ICSI (*Iniezione Intracitoplasmatica dello Spermatozoo*).

FIVET

Con questa tecnica di Procreazione Medico-Assistita (PMA), la fecondazione della cellula uovo avviene all'esterno del corpo, in laboratorio, dove in particolari capsule gli spermatozoi opportunamente trattati vengono messi a contatto con gli oociti.

L'embrione che si sviluppa viene poi trasferito nell'utero della paziente. La procedura può essere così riassunta:

1. *Induzione farmacologica dell'ovulazione*

Vengono somministrati alla paziente dei farmaci (per via intramuscolare o sottocutanea) che permettono lo sviluppo di più follicoli e quindi più oociti a differenza dell'unica cellula uovo che viene prodotta in un ciclo spontaneo. A questi farmaci ne vengono aggiunti, a seconda del singolo caso o dell'età della paziente, altri che permettono di controllare il momento dell'ovulazione impedendo che i follicoli maturino e scoppino prima del previsto. La risposta alla terapia è molto soggettiva e viene controllata mediante ecografie eseguite per via vaginale in linea di massima a giorni alterni e/o prelievi ematici.

2. *Prelievo degli oociti*

Prima dell'intervento la paziente viene premedicata con analgesici e sedativi. Il prelievo degli oociti viene eseguito ambulatorialmente, tramite puntura dei follicoli per via vaginale sotto controllo ecografico: sulla stessa sonda utilizzata per il monitoraggio si applica un ago, la cui traccia viene seguita sullo schermo in modo da raggiungere ed aspirare tutti i follicoli sviluppatasi.

Il liquido follicolare prelevato viene poi immediatamente consegnato al biologo che lo esamina in laboratorio per valutare la presenza delle cellule uovo.



Figura 5: prelievo oociti

3. *Inseminazione e fecondazione*

Dopo aver esaminato il liquido follicolare e recuperato gli oociti, il biologo li deposita in particolari terreni di coltura in attesa di valutarne il grado di maturità e di inseminarli. Il liquido seminale nel frattempo viene opportunamente trattato ed un numero adeguato di spermatozoi "capacitati" viene deposto nella stessa capsula contenente l'oocita. Più o meno 48 - 72 ore dopo il prelievo degli oociti l'embrione a 4 - 8 cellule è pronto per essere trasferito nell'utero della paziente.

4. *Trasferimento dell'embrione*

La procedura del trasferimento dell'embrione è molto semplice, ambulatoriale, senza necessità di effettuare sedazione o analgesia. Uno o più embrioni (non più di tre) vengono aspirati in

un sottile catetere che attraverso il canale cervicale viene posizionato molto delicatamente nell'utero della paziente. Premendo molto lentamente lo stantuffo della siringa alla quale è collegato il catetere, gli embrioni vengono rilasciati sul fondo dell'utero.

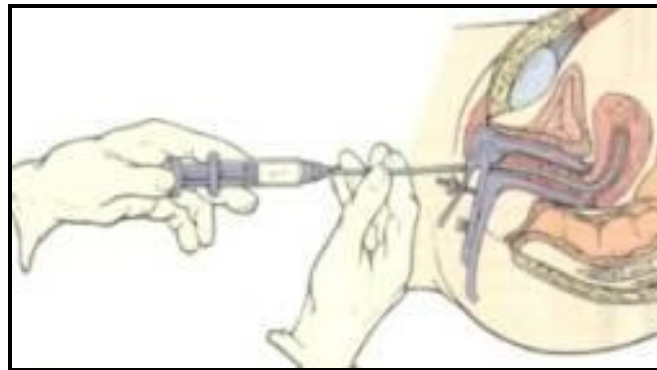


Figura 6: trasferimento embrione

ICSI

Le prime fasi sono sovrapponibili a quelle realizzate per la FIVET; la differenza fondamentale sta nel fatto che in questa tecnica è l'operatore che inietta lo spermatozoo all'interno della cellula uovo.

La ICSI si realizza tramite un microscopio invertito al quale sono stati adattati dei micromanipolatori che permettono di muovere dei microcapillari finissimi con cui possiamo aspirare o rilasciare piccolissime quantità di liquido e con questo, spermatozoi.

La microiniezione si realizza con delle pipette speciali che hanno la dimensione e l'orientazione adeguata per prendere gli

spermatozoi uno alla volta ed iniettarli all'interno dell'ovulo, senza danneggiarlo.

Nella piastra sopra cui si va ad effettuare la microiniezione vengono collocate delle microgocce per gli ovociti ed altre per gli spermatozoi. Quelle degli spermatozoi corrispondono ad una soluzione piú densa che rallenta il movimento degli stessi, facilitando cosí la loro manipolazione. Gli ovociti, sprovvisti del cumulo e della corona radiata, vengono collocati a loro volta nelle microgocce del loro mezzo specifico.

Dalle microgocce dove sono situati, si sceglie uno spermatozoo che sia morfologicamente normale e trattabile e viene immobilizzato. L'immobilizzazione si ottiene toccando la coda dello spermatozoo con la micropipetta. Ciò produce una modificazione nella membrana simile a quella che ha luogo nella reazione acrosomica, e che pertanto gli permette di fecondare. In seguito, lo spermatozoo viene aspirato e microiniettato all'interno dell'ovocito. Le membrane dell'ovocito sono molto elastiche, per cui una volta iniettato, si aspira per assicurarsi che la membrana si sia rotta e che lo spermatozoo sia rimasto collocato all'interno del citoplasma.

Una volta microiniettati tutti gli ovociti, vengono accuratamente lavati, passandoli per mezzi di coltura basati sul fluido tubarico

(HTF), affinché scompaia la sostanza tampone (HEPES) del mezzo d' ICSI. Verranno quindi incubati durante circa 15-20 ore, fino a che si verifichi se, per ogni ovocito microiniettato, é avvenuta una fecondazione normale o meno.

SCOPO DEL LAVORO

Lo studio condotto nella presente tesi si basa sulla valutazione ed analisi della qualità ovocitaria di pazienti arrivati al Centro per tecniche di PMA con diagnosi di PCOS (Sindrome da *Policistosi ovarica*).

L'obiettivo è stato quello di valutare la qualità ovocitaria su un campione di pazienti, con PCOS, affette da anovulazione cronica ed infertilità che l'anno precedente si sono sottoposte a tecnica di PMA, con esito negativo, senza aver assunto alcun integratore. Prima di sottoporsi al II ciclo di PMA sono state trattate con 2 g di Myo – inositolo, 200 mcg di acido folico e 3 mg di melatonina al giorno per 6 mesi.

Studi scientifici hanno dimostrato che l'inositolo, grazie alla sua capacità di aumentare la sensibilità all'insulina, ha effetti benefici sull'ovulazione e sulla diminuita produzione di androgeni in donne con sindrome dell'ovaio policistico. In particolare il *mioinositolo*, un isomero dell'inositolo, è stato osservato essere correlato positivamente con la maturità ovocitaria, importante non soltanto ai fini della fecondazione, ma soprattutto in pazienti affette da PCOS in cui si assiste ad un precoce blocco della crescita follicolare.

È stato inoltre osservato che la quantità del mioinositolo nel liquido follicolare è presente maggiormente negli ovociti maturi rispetto agli ovociti immaturi, indicando questa molecola come un marker di buona qualità ovocitaria.

Durante lo studio: luglio 2011 – luglio 2012, abbiamo valutato l'effetto della terapia con mioinositolo sui parametri ovocitari presi in considerazione ai fini della classificazione degli ovociti prima dell'inseminazione con tecniche PMA ed in particolar modo per quanto riguarda la maturità nucleare e le caratteristiche citoplasmatiche.

A tale fine abbiamo seguito nell'arco dell'anno 6 donne, comparando la qualità ovocitaria del I ciclo di PMA con la qualità ovocitaria del II ciclo di PMA dopo trattamento con mioinositolo per 6 mesi.

MATERIALI E METODI

Dal momento in cui la paziente accede al Centro, effettua tutte le procedure inerenti al ricovero in Day Surgery ed è accompagnata dal personale infermieristico in camera dove il medico di reparto effettua i preliminari per l'accesso in sala operatoria. Successivamente la paziente è trasferita nel blocco operatorio all'interno della sala di pre-anestesia.

Prima dell'inizio del Pick-up l'embriologo ricontrolla le analisi infettivologiche della coppia (*HIV - Hep C - HBs-Ag - VDRL neg*) in trattamento e solo dopo dà il via al pick-up.

Si prepara per ogni paziente una provetta con tappo bianco da 15 ml con terreno HEPES (*acido 4-2-idrossietil-1-piperazinil-etansolfonico*) per il pick-up ovocitario e delle provette vuote in funzione del numero dei follicoli e si posizionano in termoblock a più 37° C.

Tutti i contenitori utilizzati per le varie fasi del trattamento del campione seminale e degli ovociti sono sterili e monouso e recano scritto sul bordo, o sul fondo, i dati identificativi della coppia.

ASPIRAZIONE DEI FOLLICOLI

Prima che il ginecologo proceda con il prelievo, l'embriologo controlla l'identità della paziente, che nel frattempo è stata fatta distendere sul lettino in posizione ginecologica, e la corrispondenza con la modulistica preparata in laboratorio, verifica inoltre il dosaggio di HCG prescritto alla paziente e l'ora di esecuzione della somministrazione.

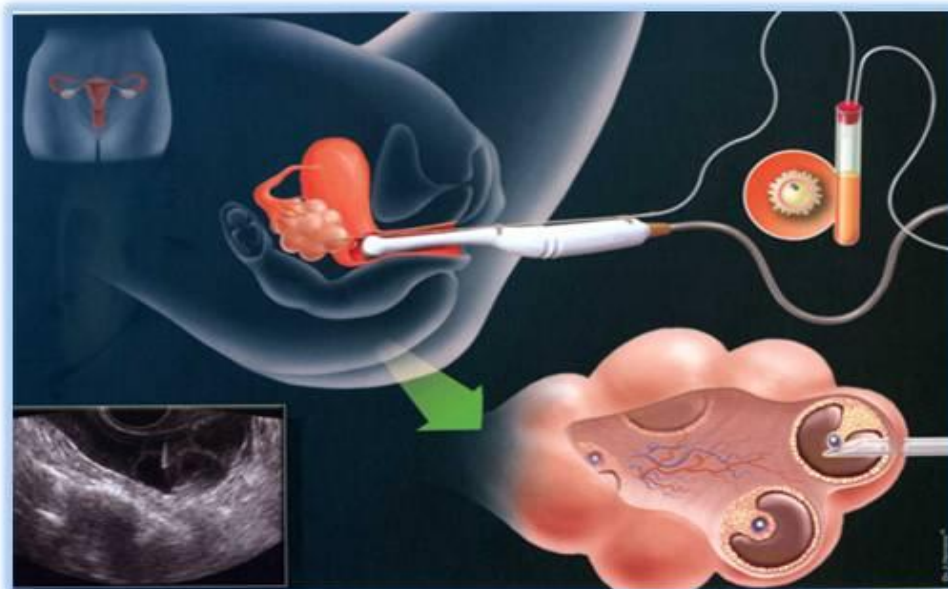


Figura 7: prelievo liquido follicolare

Il prelievo del liquido follicolare è effettuato mediante un ago a singolo lume ecoguidato al quale è applicata una pressione negativa (-80/ -100 millibar) regolata da una pompa di aspirazione.

Procedura

La paziente viene fatta accomodare sul lettino operatorio e viene sottoposta, da parte del ginecologo, ad un'ultima ecografia di

controllo. Successivamente il ginecologo inserisce uno speculum ed opera la detersione della vagina, con tamponcini imbevuti di soluzione fisiologica, terminata questa fase rimuove lo speculum e procede all'intervento.

Il fluido follicolare, contenente gli ovociti, è raccolto nelle provette a tappo bianco sterili da 15 ml che vengono poste, man mano, nel termoblock a più 37° C.

Terminato il prelievo si procede ad un ultimo risciacquo con terreno di coltura dell'ago per recuperare eventuali ovociti rimasti all'interno del tubo di connessione alla provetta. A questo punto l'embriologo trasferisce il termoblock con le provette in laboratorio e procede al recupero degli ovociti.

Le provette contenenti gli ovociti vengono svuotate in piastre Falcon grandi poste su piano riscaldato all'interno della cappa sterile a flusso laminare orizzontale e il liquido viene controllato allo stereomicroscopio per la ricerca degli ovociti. Gli ovociti vengono trasferiti nella piastra di raccolta (contenete circa 5 ml di terreno di coltura HEPES) mediante pipetta Pasteur.

Alla fine del prelievo gli ovociti vengono trasferiti nella piastra a 4 pozzetti contenenti ognuno 500 µl di terreno di coltura ricoperto di olio e posizionati in incubatore per circa un'ora.

La prima classificazione della qualità ovocitaria viene effettuata tramite l'osservazione allo stereomicroscopio con ingrandimenti 6X e 40X per valutare i liquidi follicolari.

I criteri per la valutazione sono:

- Cellule della granulosa (CG): presenza distribuzione, colore, diametro, spazi intercellulari;
- Cumulo ooforo (CO): presenza, caratteristiche della matrice cellulare, grado di dispersione e distribuzione delle sue cellule;
- Cellule della corona radiata (CR): presenza, grado di espansione, disposizione a raggiera;
- Citoplasma dell'oocita (ooplasma): forma, dimensione, regolarità, colore, granularità.

È un criterio semplice e veloce ma insufficiente per definire correttamente la maturità ovocitaria perché non è possibile valutare la maturità nucleare data la risoluzione del microscopio e la presenza delle cellule della corona radiata.

Dopo la raccolta ovocitaria, al ritrovamento di almeno un ovocita, si procede facendo produrre al partner maschile un campione di liquido seminale.

DECORONIZZAZIONE OVOCITARIA

La maggior parte delle pazienti con PCOS viene sottoposta ad ICSI. Al fine di potere realizzare questa tecnica è necessario che gli ovociti vengano denudati della cellule follicolari (cumolo ooforo – corona radiata). Questo per permettere all'operatore di individuare il punto di entrata dell'ago in modo tale da non alterare strutture importanti per la successiva divisione dell'ovocita.

Tutto il lavoro di decoronizzazione viene effettuato allo viene effettuato allo stereomicroscopio, sotto cappa, su piano riscaldato.

Prima di effettuare la decoronizzazione ovocitaria si prepara una piastra falcon, per ogni paziente, con n° 3 microgocce di terreno di coltura Fert (o meno in base al numero di ovociti da trattare) più una microgoccia di lavaggio (FERT), ricoperte da olio minerale e la si pone nell'incubatore

Si prepara una piastra nunc piccola con una goccia di hyaluronidase (enzima presente all'interno dell'acrosoma del gamete maschile che va a scindere le cellule del cumulo ooforo tenute vicine da una matrice intracellulare ricca in acido ialuronico) e tre gocce di terreno di coltura HEPES, il tutto ricoperto da olio minerale.

Si prende la piastra a 4 pozzetti, con gli ovociti della paziente, dall'incubatore, si pone allo stereomicroscopio, si prelevano gli ovociti e si pongono nella goccia n° 2 della piastra di decoronizzazione. Si spostano gli ovociti nella goccia con la hyaluronidase e si spipettano dolcemente (una decina di volte) fino all'eliminazione del cumulo, se il cumulo è molto resistente si può agire con delle siringhe da insulina con ago per sfaldarlo; gli ovociti vengono poi passati tutti assieme nel I pozzetto di lavaggio e, subito dopo, nel secondo e terzo pozzetto per allontanare il più possibile ogni traccia di enzima dagli ovociti. Spipettando ripetutamente, si ottiene la rimozione delle cellule della corona radiata e della granulosa, e gli ovociti, così denudati, vengono trasferiti nel III pozzetto di lavaggio.

A decoronizzazione effettuata, gli ovociti vengono classificati all'invertoscopio, e i migliori, in numero di tre massimo, trasferiti, uno per goccia, nella piastra falcon preparata in precedenza e posti nell'incubatore.

La morfologia dell'ovocita viene valutata secondo specifici parametri:

- Complesso cumulo – oocita: può essere non buono o buono (cumulo espanso più corona radiata). Nel primo

caso verrà data una valutazione di grado zero, nel secondo caso verrà associato grado uno;

- Zona pellucida: annotare anomalie in colore e/o spessore;
- Spazio perivitellino: annotare anomalie riguardanti presenza di inclusioni e/o eccessiva larghezza dello spazio;
- Globulo polare: presenza, assenza o dimensioni abnormi (in questo caso l'oocita non verrà fecondato perché la presenza di un globulo polare di grandi dimensioni è stata associata allo sviluppo di aneuploidie);
- Citoplasma: omogeneo, granulosità da raggruppamento di organelli, accumulo cisterne nel reticolo endoplasmatico (SER);
- Vacuoli: l'oocita è ritenuto buono per la fecondazione se gli eventuali vacuoli presenti hanno dimensioni di 5 – 10 μm , non buono se questi presentano una dimensione superiore ai 14 μm . In tal caso è stata osservata insufficienza nella fecondazione.

Gold standard ovocitario

1. Struttura sferica
2. Zona pellucida uniforme
3. Citoplasma uniforme
4. Globulo polare regolare
5. Assenza di inclusioni

RISULTATI

Durante il periodo dello svolgimento della presente tesi abbiamo studiato 6 coppie di pazienti afferiti al Centro inviati da colleghi con indicazioni FIVET.

Le donne sono state sottoposte a prelievo ovocitario e successivamente si è provveduto a valutarne le caratteristiche degli ovociti secondo i criteri di classificazione stabiliti dall' *“Istanbul consensus workshop on embryo assessment”*.

Dopo fallimento durante il primo ciclo di PMA, le donne sono state sottoposte a trattamento con terapia a base di 2 g di Myo – inositol, 200 mcg di acido folico, 3 mg di melatonina e ne è stata rivalutata la qualità ovocitaria in occasione di successivo ciclo FIVET.

Dopo trattamento abbiamo osservato che:

- 4 donne hanno presentato un miglioramento nella qualità ovocitaria. In particolare è stato riscontrato un aumento degli ovociti in metafase II (*MII*), un diminuzione del numero di vescicole germinali (*GV*) ed una migliore qualità citoplasmatica in termini di una ridotta presenza di granulosità e vacuoli;
- 1 donna ha presentato un lieve miglioramento della qualità ovocitaria dopo trattamento con una riduzione del numero

delle vescicole germinali (GV) e pertanto un miglioramento della maturità nucleare;

- 1 donna ha presentato prima e dopo trattamento un quadro ovocitario pressochè sovrapponibile.

CARATTERISTICHE PRESE IN ESAME PER LA

CLASSIFICAZIONE OVOCITARIA

Maturità nucleare	Citoplasma	Globulo polare	Zona pellucida	Spazio perivitellino	Cumulo ooforo
Metafase I	Omogeneo	Presente	Chiara	Inclusioni presenti	Espanso
Metafase II	Granuloso	Assente	Scura	Eccessiva ampiezza	Contratto
Vescicola germinale	Cisterne RE	Abnorme	Aumentata		
Degenerato	Vacuoli > 14 μm				
	Vacuoli < 10 μm				

Tabella 1: caratteristiche ovocitarie

Primo ciclo FIVET in assenza di trattamento

I Ciclo		Maturità Nucleare				Citoplasma					Globulo Polare			Zona Pellucida			Spaz Perivitellino		Cumulo Ooforo	
Paz.	Ov	M II	MI	GV	DEG	Omo	Gran	Cist	V > 14	V < 10	Pres	Ass	Ab	Chiara	Scura	Aum	Inclus Pres	Ecces Amp	Espanso	Contratto
A - 1	30	16	0	11	3	15	1	0	0	0	16	0	0	16	0	11	3	2	16	0
A - 2	10	4	2	1	3	0	1	1	2	0	4	0	0	4	0	3	1	1	4	0
A - 3	11	5	3	0	3	2	3	0	1	0	5	0	1	4	1	2	1	0	4	0
A - 4	9	3	1	3	2	1	1	0	1	0	3	0	0	3	0	0	0	1	3	0
A - 5	18	11	0	6	1	8	3	0	3	0	11	0	0	9	3	3	0	0	11	0
A - 6	16	11	3	1	1	8	3	0	3	0	11	0	0	11	0	0	0	0	11	0

Tabella 2: primo ciclo

Secondo ciclo FIVET in presenza di trattamento

II Ciclo		Maturità Nucleare				Citoplasma					Globulo Polare			Zona Pellucida			Spaz Perivitellino		Cumulo Ooforo	
Paz.	Ov	M II	MI	GV	DEG	Omo	Gran	Cist	V > 14	V < 10	Pres	Ass	Ab	Chiara	Scura	Aum	Inclus Pres	Ecces Amp	Espanso	Contratto
A - 1	14	9	0	4	1	9	0	0	0	0	9	0	0	9	0	1	3	3	9	0
A - 2	4	4	0	0	0	3	1	1	0	0	4	0	0	4	0	1	1	1	4	0
A - 3	14	13	1	0	0	7	6	0	0	2	13	1	0	13	0	1	2	6	13	0
A - 4	4	4	0	0	0	3	1	0	1	0	4	0	0	4	0	0	0	0	4	0
A - 5	12	10	1	1	0	9	1	0	1	0	10	0	0	10	0	0	0	0	10	0
A - 6	14	10	2	2	0	9	1	0	1	0	10	0	0	10	0	0	0	0	10	0

Tabella 3: secondo ciclo

DISCUSSIONI

Il numero delle pazienti incluse nel presente lavoro è di sei.

Tutte hanno un'età compresa tra i 25 ed i 40 anni e presentano una diagnosi di PCOS con almeno due dei seguenti parametri:

- ovaio micropolicistico;
- inversione FSH/LH;
- acne;
- obesità;
- diabete;
- alterazione del ciclo mestruale;
- infertilità da anovulazione cronica.

Di ciascuna delle pazienti è stata osservata la qualità ovocitaria in precedente e successivo ciclo FIVET in cui le donne sono state sottoposte a trattamento con Myo – inositol.

Dall'elaborazione dei dati ottenuti si evince che in 4 pazienti c'è stato un miglioramento della qualità ovocitaria dopo terapia ed in particolare:

- nella paziente n° 1 è stato osservato un miglioramento nella maturità nucleare con un rapporto MI : MII di 16 : 30 nel primo ciclo e di 9 : 14 nel secondo ciclo con un incremento della percentuale dal 53 % del primo ciclo al 64 % del secondo ciclo.

I Ciclo		Maturità Nucleare				Citoplasma				
Paz.	Ov	M II	MI	GV	DEG	Omo	Gran	Cist	V > 14	V < 10
A - 1	30	16	0	11	3	15	1	0	0	0
II Ciclo		Maturità Nucleare				Citoplasma				
Paz.	Ov	M II	MI	GV	DEG	Omo	Gran	Cist	V > 14	V < 10
A - 1	14	9	0	4	1	9	0	0	0	0

Tabella 4: maturità nucleare

- nella paziente n° 2 è stato osservato un miglioramento nella qualità del citoplasma che risultava non omogeneo con presenza di granulazioni e vacuoli nel primo ciclo e con aumento dell'omogeneità nel secondo ciclo dopo trattamento.

I Ciclo		Maturità Nucleare				Citoplasma				
Paz.	Ov	M II	MI	GV	DEG	Omo	Gran	Cist	V > 14	V < 10
A - 2	10	4	2	1	3	0	1	1	2	0
II Ciclo		Maturità Nucleare				Citoplasma				
Paz.	Ov	M II	MI	GV	DEG	Omo	Gran	Cist	V > 14	V < 10
A - 2	4	4	0	0	0	3	1	1	0	0

Tabella 5: maturità citoplasmatica

- nella paziente n° 3 è stata osservata una diminuzione del numero degli ovociti degenerati nel secondo ciclo rispetto al precedente in assenza di trattamento.

I Ciclo		Maturità Nucleare				Citoplasma				
Paz.	Ov	M II	MI	GV	DEG	Omo	Gran	Cist	V > 14	V < 10
A - 3	11	5	3	0	3	2	3	0	1	0
II Ciclo		Maturità Nucleare				Citoplasma				
Paz.	Ov	M II	MI	GV	DEG	Omo	Gran	Cist	V > 14	V < 10
A - 3	14	13	1	0	0	7	6	0	0	2

Tabella 6: maturità ovocitaria

- nella paziente n° 4 è stata osservata una riduzione del numero di vescicole germinali (GV) con un rapporto di 3 : 9 nel primo ciclo e di 0 : 4 nel secondo.

I Ciclo		Maturità Nucleare				Citoplasma				
Paz.	Ov	M II	MI	GV	DEG	Omo	Gran	Cist	V > 14	V < 10
A - 4	9	3	1	3	2	1	1	0	1	0
II Ciclo		Maturità Nucleare				Citoplasma				
Paz.	Ov	M II	MI	GV	DEG	Omo	Gran	Cist	V > 14	V < 10
A - 4	4	4	0	0	0	3	1	0	1	2

- nelle ultime due pazienti è stato osservato: in una un lieve miglioramento con riduzione del numero delle vescicole germinali dopo trattamento, nell'altra anche dopo trattamento non si è assistito ad un sostanziale miglioramento.

I Ciclo		Maturità Nucleare				Citoplasma				
Paz.	Ov	M II	MI	GV	DEG	Omo	Gran	Cist	V > 14	V < 10
A - 5	18	11	0	6	1	8	3	0	3	0
II Ciclo		Maturità Nucleare				Citoplasma				
Paz.	Ov	M II	MI	GV	DEG	Omo	Gran	Cist	V > 14	V < 10
A - 5	12	10	1	1	0	9	1	0	1	0

Tabella 7: maturità ovocitaria

I Ciclo		Maturità Nucleare				Citoplasma				
Paz.	Ov	M II	MI	GV	DEG	Omo	Gran	Cist	V > 14	V < 10
A - 6	16	11	3	1	1	8	3	0	3	0
IICiclo		Maturità Nucleare				Citoplasma				
Paz.	Ov	M II	MI	GV	DEG	Omo	Gran	Cist	V > 14	V < 10
A - 6	14	10	2	2	0	9	1	0	1	0

Tabella 8: maturità nucleare

Notiamo come in questo ultimo caso la maturità nucleare (*M II*) sia rimasta quasi la stessa tra primo e secondo ciclo con un rapporto 11 : 16 nel primo e 10 : 14 nel secondo.

CONCLUSIONI

Dall'esame dei seguenti dati si evince che nei pazienti osservati prima e dopo trattamento c'è un netto miglioramento a seguito della terapia.

In particolare si è osservato un aumento della qualità ovocitaria importante sia ai fini della fecondazione, ma anche per l'incremento del numero di embrioni di buona qualità ottenuti, che influiscono positivamente sulle possibilità di impianto. Delle sei pazienti trattate con mio-inositolo 2 hanno ottenuto la gravidanza.

I risultati ottenuti non possono essere sostenuti da una validazione statistica, in quanto il numero di pazienti osservati è insufficiente, ciò deriva sia dal breve periodo di tempo in cui è stata svolta l'osservazione, sia dalla piccola percentuale di pazienti con PCOS rispetto agli infertili in generale, inoltre pochi sono i casi in cui una donna si sottopone nell'arco di un anno a due cicli di PMA e molte donne non sono state inserite nello studio per scarsa *compliance alla terapia*.

Nonostante ciò questo può servire come base per studi futuri ai fini di migliorare la qualità della terapia e aumentare pertanto la possibilità di gravidanza.

BIBLIOGRAFIA

Ambrosi G. et al., *Anatomia dell'uomo*, Edi – Ermes, Milano, 2008

Dossier Medicina News, *L'infertilità è la mancanza di concepimento dopo 12 mesi di rapporti liberi non protetti*, pubblicato nel sito www.dossiermedicina.it

Flamini C., *La procreazione assistita*, Bologna, il Mulino, 2006.

Gilbert S.F., *Biologia dello sviluppo*, Bologna, 1996.

Hrometz SL, Gates VA, *Review of available infertility treatments*, Drugs today, 2009.

Rosa M., *Trattato di Anatomia Patologica Clinica*, Piccin, Padova, 1986.

Rhoades R., Pflanzner R., *Fisiologia generale e Umana*, Piccin, Padova, 2004.

Rosati P., Colombo R., *La cellula*, Edi – Ermes, Milano, 1999.

Scaravelli G., *Infertilità maschile e femminile*, Istituto Superiore di Sanità: Registro Nazionale Procreazione Medicalmente Assistita.

Scaravelli G., *Che cos'è l'infertilità*, Istituto Superiore di Sanità: Registro Nazionale Procreazione Medicalmente Assistita.

Di Prospero F., *Epidemiologia dell'infertilità*, Modulo organizzato di Endocrinologia Clinica Civitanova Marche, pubblicato nel sito www.salutedonna.it, 2007.

Informa healthcare, *Effect of a supplementation with myo-inositol plus melatonin on oocyte quality in women who failed to conceive in previous in vitro fertilization cycles for poor oocytes quality: a prospective, longitudinal, cohort study*, Vittorio Unfer, Emanuela Raffone, Piero Rizzo & Silvia Buffo, Novembre 2011.

Human Reproduction, *The Istanbul consensus workshop on embryo assessment*, January 2011.

Pubmed, *Effects of myo-inositol supplementation on oocyte's quality in PCOS patients: a double blind trial*, Ciotta L., Stracquadanio M., Pagano I., Carbonaro A., Palumbo M., Gulino F., Maggio 2011.

Istat, *20 anni di economia e società: l'Italia tra la crisi del 1992 e le attuali difficoltà*, 2011.

SIMG (Società Italiana di Medicina Generale), *La sindrome dell'ovaio policistico*, Dicembre 2009.

The New England Journal of Medicine, *Policistic Ovary Syndrome*, Davide A., Ehrmann, M.D., Marzo 2005. (5-10 % delle donne).

Fertil Steril, *Rotterdam ESHRE/ASRM-Sponsored PCOS Consensus Workshop Group. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome*, 2004.

Royal College of Obstetricians and Gynaecologists, *Longterm consequences of polycystic ovary syndrome*, London: RCOG 2003.

Pubmed, *Myo-inositol in patients with polycystic ovary syndrome: a novel method for ovulation induction*, Papaleo E, Unfer V, Baillargeon JP, De Santis L, Fusi F, Brigante C., Dicembre 2007.

Stein I, Leventhal M., *Amenorrhea associated with bilateral polycystic ovaries*, Am J Obstet Gynecol 1935.

Fauser BC., *Observations in favour of normal early follicle development and disturbed dominant follicle development and disturbed dominant follicle selection in polycystic ovary syndrome*, Gynecol Endocrinol 1994.

Burghen GA, Givens JR, Kitabachi AE., *Correlation of hyperandrogenism with hyperinsulinism in polycystic ovarian disease*, J Clin Endocrinol Metab 1980.

PubMed, *Effects of d-chiro-inositol in lean women with the polycystic ovary syndrome.*Iuorno MJ, Jakubowicz DJ, Baillargeon JP, Dillon P, Gunn RD, Allan G, Nestler JE.,
Novembre 2002.