

Cenni storici sul trattamento della sterilità e della infertilità

Alla maggior parte di noi appare tanto ovvio che la nascita di un bambino sia collegata con un evento biologico naturale così frequente come l'incontro di un gamete maschile con un gamete femminile all'interno del corpo di una donna che facciamo fatica ad accettare l'idea che questa "ovvietà" è stata ignota a tutti per secoli e secoli e che è solo dalla metà del XIX secolo che il mistero della generazione ha cominciato ad essere compreso. Prima di quel momento la conoscenza dei meccanismi della riproduzione era modestissima e molto diversa nelle differenti culture: esistevano società nelle quali la nascita di nuove creature era legata a un intervento degli dei e altre nelle quali il ruolo del seme maschile era in qualche misura intuito. Poteva accadere così che i seguaci di Zoroastro immaginassero che il seme del loro maestro sopravviveva nuotando nelle acque del lago nel quale il suo cadavere era stato abbandonato (in attesa che in quelle acque si bagnasse una vergine destinata a concepire il Redentore) e che nello stesso periodo storico i protagonisti della nascita di nuovi individui fossero considerati i venti del cosmo o gli spiriti degli antenati. Quelle che non erano tenute in gran conto erano invece le donne, che nella fertilità avevano lo stesso ruolo che ha un terreno di coltura per una colonia di microbi e che comunque erano ritenute responsabili di tutte le sterilità di coppia, destinate ad essere ripudiate una dopo l'altra dallo stesso marito deluso.

Dunque non erano bastate l'osservazione del comportamento degli animali e le molte sperimentazioni, né era stato sufficiente lo studio degli uomini castrati e delle donne vergini a scalfire il mistero. Acquisite le informazioni biologiche necessarie per comprendere il meccanismo della generazione, i medici si inoltrarono molto timidamente in un nuovo misterioso sentiero, quello che avrebbe dovuto portare alla comprensione dei meccanismi che portano alla perdita della capacità di procreare.

Agli inizi del novecento, la sterilità era ancora considerata un problema quasi esclusivamente femminile, dovuto prevalentemente all'impervietà del canale cervicale o a condizioni che oggi sappiamo essere assolutamente innocue, come la retroverso-flessione dell'utero. L'unico intervento utilizzato per favorire la fertilità agli inizi del 900 consisteva nell'inserire un tubetto traforato nel canale cervicale (lasciandolo in situ per 5-7 giorni) al duplice scopo di stimolare un presunto e immaginario centro uterino dell'ovulazione e di aprire agli spermatozoi una porta che si considerava semichiusa. Questo tubetto, che è visibile nel museo della medicina dell'Ospedale S.Orsola di Bologna, veniva ancora utilizzato in tempi recenti in un importante Ospedale pugliese (ma si tratta di strumenti che sono stati precedentemente benedetti da un sacerdote).

Fin quasi al 1930, il momento dell'ovulazione veniva collocato in tutta prossimità della mestruazione, poco prima o poco dopo. Nel 1958, quando ho incominciato i miei studi di ginecologia, non c'era alcuna possibilità di eseguire un dosaggio ormonale e per molti anni in reparto si potevano dosare gonadotropine, estrogeni totali e pregnandiolo solo nelle urine delle 24 ore, con un'approssimazione sulla quale preferisco sorvolare.

I test utili per diagnosticare una gravidanza iniziale si basavano sul riconoscimento della attività biologica della gonadotropina corionica nel rospo (Test di Galli Mainini) e nella coniglia (test di Friedmann). Ma per capire qualcosa di più sulle cause della sterilità e soprattutto per poter proporre qualche utile terapia erano necessari studi esaurienti sulla ipofisi (sulla sua funzionalità e sui suoi ormoni) e sulle gonadi (ancora una volta sulle loro attività funzionali e sugli ormoni che producevano) ed era necessario che la medicina potesse disporre di terapie basate sull'uso di una serie di sostanze delle quali si supponeva a malapena l'esistenza, come il GnRH, l'FSH, gli estrogeni, il progesterone e il testosterone. La sterilità meccanica, dal canto suo, si affidava a strumenti piuttosto fallaci (come l'isterosalpingografia) e non aveva soluzioni possibili, le soluzioni

sarebbero giunte solo con la messa a punto delle tecniche di laparoscopia diagnostica e operativa la cui utilità era comunque destinata a scomparire con l'arrivo delle fecondazioni extracorporee. Mi limiterò dunque in questa sede a riassumere la storia del progresso delle conoscenze nel settore di maggior rilevanza scientifica e pragmatica, quello della endocrinologia.

L'ipofisi era nota agli antichi e diverse teorie erano state proposte circa il suo ruolo. Tuttavia importanti scoperte utili per capire la sua reale funzione non furono fatte fino alla fine del XIX secolo, quando l'acromegalia fu descritta come risultato di tumori ipofisari. La prima descrizione nota di ipopituitarismo è stata fatta da Morris Simmonds che nel 1914 descrisse questa condizione in seguito a una autopsia. La maggior parte delle classiche cause di ipopituitarismo furono poi descritte nel XX secolo.

Fino al 1950, la diagnosi di malattia ipofisaria veniva formulata esclusivamente sulla base delle caratteristiche cliniche e dall'esame visivo del corpo e talvolta con l'ausilio della pneumoencefalografia e della tomografia a raggi X. Nondimeno, il settore della chirurgia ipofisaria si sviluppò durante questo periodo. Il fondamentale progresso nella diagnosi, è arrivato grazie alla scoperta del metodo del dosaggio radioimmunologico sviluppato da Rosalyn Yalow e da Solomon Berson alla fine del 1950. Ciò ha permesso la misurazione diretta degli ormoni ipofisari che, per via della loro bassa concentrazione nel sangue, era difficile misurare e che furono dapprima dosati con metodi biologici e poi con metodi chimici nelle urine delle 24 ore. I test di stimolazione furono sviluppati nel 1960 e nel 1970. L'imaging dell'ipofisi, e quindi la capacità di identificare eventuali tumori e altre cause strutturali, è migliorata decisamente grazie all'introduzione della tomografia computerizzata alla fine del 1970 e della risonanza magnetica nel 1980.

La ricerca per produrre preparazioni a base di FSH estraendole dalle urine di donne in postmenopausa iniziò alla fine degli anni 40. All'inizio degli anni 60 si rese disponibile un estratto purificato di gonadotropina menopausale umana (hMG) e, nel 1962, si ottenne la prima gravidanza con questo prodotto.

Oltre all'FSH, l'hMG contiene quantità significative di attività LH-simile, oltre ad altre proteine. Nel tempo, l'hMG è stata continuamente migliorata in termini di purezza, fino ad ottenere prodotti contenenti soltanto FSH (1983). Benché questi prodotti fossero completamente privi di attività LH, essi contenevano circa il 5% di FSH ed il 95% di proteine diverse.

L'utilizzo dei processi biotecnologici che prevedevano l'uso della cromatografia per immuno-affinità con gli anticorpi monoclonali ha reso possibile nel 1983 l'introduzione del u-hFSH HP che contiene FSH in quantità superiori al 95%.

A una maggiore purezza e attività specifica della preparazione si associa una maggiore sicurezza, efficacia e costanza di attività anche come confronto tra i vari lotti, un notevole aumento del grado di attività specifica, un chiaro aumento del grado della purezza, l'eliminazione del rischio di infezioni e conseguentemente l'eliminazione di reazioni locali e di potenziali effetti collaterali.

Nel 1958 le gonadotropine venivano estratte dalle ghiandole dell'ipofisi di cadaveri (gonadotropina ipofisaria umana, HPG) e venivano utilizzate per l'induzione dell'ovulazione: questi trattamenti ebbero fine nel 1988 quando emerse il rischio di infezioni di Creutzfeldt-Jakob.

Più o meno nello stesso periodo in cui si rese disponibile l'HPG, un chimico italiano, il Prof. P. Donini, sviluppò una gonadotropina urinaria, l'hMG, utilizzando il caolino per assorbire le glicoproteine dall'urina. L'hMG prodotta aveva circa il 5% di proteine in grado di esplicare un'attività biologica a fronte del 95% di proteine

urinarie.

Negli anni '60 venne introdotta sul mercato l'hMG. Già nel 1973 si riconobbe che l'FSH e l'LH contenuti nell'hMG variavano tra le differenti preparazioni, al punto che in alcuni casi era necessario aggiungere hCG per aumentare l'attività LH-simile.

Con il passare degli anni, si rese sempre più evidente la necessità di avere un prodotto a base solo di FSH. Negli anni '80 la Serono ha introdotto sul mercato l'u-hFSH e alcuni anni dopo, nel 1993, fu reso disponibile un FSH urinario altamente purificato successivamente sostituito dall'FSH ricombinante che ha consentito l'eliminazione di proteine contaminanti.

L'associazione tra galattorrea e amenorrea si deve a Ippocrate (aforisma 38, sezione V: "se una donna ha latte, che non è associato con un neonato, i suoi cicli sono interrotti"), ma la sua intuizione venne del tutto ignorata al punto che la cosiddetta sindrome amenorrea-galattorrea prese il nome (e lo mantenne fino a 50 anni or sono) di sindrome di Chiari-Frommel. In effetti la prolattina era stata scoperta nel 1928 ma fino al 1970 era stata confusa con il GH e solo dopo la sua definitiva identificazione poté essere dosata nel sangue. Solo più tardi si capì che si trattava di un ormone che cresceva spontaneamente in risposta allo stress e che aveva una secrezione pulsatile e circadiana, e poté essere ridimensionata la diagnosi di iperprolattinemia.

I primi studi sulla biochimica degli steroidi sono molto vecchi (la formula del colesterolo è stata identificata nel 1888), ma a definire le strutture di estrogeni, androgeni e progesterone si arrivò soltanto tra il 1930 e il 1935. Nei primi anni del Novecento, Beard a Edinburgo e Prenant a Nancy erano arrivati alla conclusione che era la presenza del corpo luteo gravidico a impedire lo sviluppo dei follicoli ovarici nel corso delle gravidanze, e questa, se ci pensate, è la stessa ipotesi dalla quale poi è partito Pincus per la sua ricerca di un anticoncezionale ormonale.

Alcuni anni più tardi (nel 1916, a Vienna) Heiman e Stein riuscirono a impedire l'estro delle ratte utilizzando estratti lipidici di corpo luteo e nel 1919, a Innsbruck, Haberlandt rese temporaneamente sterili alcune coniglie impiantando loro, sottocute, frammenti di tessuto ovarico.

Tra il 1930 e il 1937 i misteri del progesterone vennero in gran parte rivelati. W. Allen, di Rochester, riuscì a preparare un estratto di corpo luteo che manteneva la gravidanza negli animali anche dopo la castrazione, il che significa che conteneva progesterone. Nel 1934 arrivarono, sia dalla Germania che dagli Stati Uniti, notizie sull'identificazione del principio attivo, che venne chiamato progesterone perché gli si attribuiva la capacità di prevenire l'aborto nei primi mesi di gravidanza. Una casa farmaceutica tedesca brevettò un metodo per estrarlo dalla bile, ma anche questa volta i costi erano eccessivi: un grammo dell'ormone costava più di 80 dollari, e in aggiunta l'assunzione orale ne inattivava la maggior parte.

Contemporaneamente alle ricerche sul progesterone, si sviluppò una serie di studi intesi a definire la funzione degli estrogeni, di quali non si conosceva ancora completamente la formula di struttura. Fu finalmente isolato l'estrone e dopo pochi anni Doisy dimostrò che il principale estrogeno ovarico era il 17 β estradiolo. Le prime sperimentazioni cliniche eseguite con estrogeni e progesterone si rivelarono però un totale fallimento: questi steroidi avevano, infatti, una formula di struttura che non resisteva alle aggressioni chimiche dello stomaco e a quelle enzimatiche del fegato.

Per primo fu risolto il problema degli estrogeni. Nel 1937 H.H. Introffen sintetizzò l'etinilestradiolo, una molecola molto simile all'estradiolo che ne conserva tutte le proprietà biologiche ma possiede una potenza estrogenica molto maggiore, non costa molto e può essere assunta per bocca. Questa molecola è presente oggi in tutte le

pillole anticoncezionali estro-progestiniche. Per quanto riguarda l'uso clinico degli estrogeni (una questione che, come ho detto, ha un importante risvolto economico) il problema fu risolto estraendo una miscela di questi steroidi – estrone solfato, equilina, equilenina, 17α estradiolo – dalle urine delle cavalle gravide.

Quando, agli inizi della seconda guerra mondiale, il testosterone cominciò ad essere estratto più facilmente, H.H. Introfien trovò modo di ottenere la sintesi degli estrogeni aromatizzando l'anello A dell'ormone maschile, riproducendo in laboratorio quello che accade in natura (la sintesi dell'estradiolo dal testosterone e quella dell'estrone dall'androstendione).

Restava da risolvere il problema del progesterone, che veniva ancora sintetizzato con procedimenti eccessivamente costosi e veniva in gran parte inattivato dai succhi gastrici e dagli enzimi epatici. Questo problema fu risolto da Russell Marker, un chimico di grande intelligenza, ma dal carattere un po' bislacco, che tra il 1930 e il 1940 aveva condotto una serie di interessanti ricerche sulle sapogenine, composti di origine vegetale che hanno una struttura abbastanza simile a quella degli steroidi. In particolare Marker si dedicò allo studio della diosgenina, una sostanza che ha lo stesso nucleo centrale del colesterolo con una differente catena laterale. Ne trovò una grande quantità in alcune piante che crescono allo stato selvatico in Messico (la cabeza de negro e la mala mujer) e riuscì a mettere a punto un processo molto semplice e poco costoso che trasformava la diosgenina in progesterone.

Restava il problema dell'assunzione orale, comoda, ma assolutamente inadatta al progesterone. La soluzione fu trovata tenendo conto di alcune osservazioni quasi casuali: la prima riguardava il fatto che la rimozione del carbonio 19 dalla molecola del progesterone ne aumentava notevolmente l'attività biologica specifica; la seconda, che l'inserimento di un gruppo etinilico in posizione 17 consentiva all'ormone di restare attivo anche se preso per bocca. Fu uno studente messicano che preparava la sua tesi di laurea nei laboratori della Syntex a sintetizzare il $19\text{nor}17\alpha$ etiniltestosterone conosciuto con il nome di noretindrone o noretisterone, il primo progestinico prodotto in laboratorio.

Ma per capire qualcosa di più sulla sterilità femminile, gli ormoni prodotti dall'ovaio dovevano essere dosati e questo fu un problema che tardò ad essere risolto: per moltissimi anni ci si dovette limitare a dosare i metaboliti ormonali nelle urine delle 24 ore e solo la possibilità di utilizzare i metodi radioimmunologici riuscì a cambiare radicalmente il problema.

Il primo anticorpo per dosare il 17β estradiolo nel sangue l'ho portato in Italia dall'Inghilterra nel 1970: lo avevo avuto da Ian Sommerville e faceva parte del batch che Thorneycraft aveva ottenuto, negli Stati Uniti, da una pecora immunizzata. Il metodo fu messo a punto, con la consueta bravura, da Gianfranco Bolelli, e per molti anni organizzammo nel nostro laboratorio corsi per i tecnici italiani, con la partecipazione dei miei colleghi del Chelsea Hospital for Women di Londra.

La fertilizzazione extra corporea

Che cosa possa sollecitare la scienza a impegnarsi nella ricerca di una tecnica che consenta la fertilizzazione extra-corporea di un uovo non è completamente chiaro. Alcune ragioni sono certamente da mettere in relazione con la curiosità dei biologi di capire i meccanismi che regolano il concepimento e le prime fasi di sviluppo del pre-embrione, o con quelle dei medici di studiare le cause che determinano un numero così impressionante di aborti preclinici.

Per le altre, la storia della medicina ci aiuta di meno ed è difficile capire quali siano le applicazioni possibili della FIVET che gli scienziati avevano intuito prima ancora che la tecnica fosse disponibile e quali invece sono

emerse strada facendo, via via che la stessa tecnica riusciva a far luce sui nodi che potevano essere sciolti.

Credo che ci siano molti ricercatori che, oggi, stanno cercando soluzioni al problema dell'ectogenesi, a come cioè far sviluppare completamente (cioè dallo stato pre-embrionale alla capacità di vita autonoma) il prodotto di un concepimento fuori dal grembo materno. Mi chiedo se le indicazioni che attualmente si possono intravedere nell'ectogenesi, al di fuori di ogni giudizio morale, sono le stesse che la eventuale applicazione della tecnica ci consentirebbe di intravedere. Oggi pensiamo soprattutto alla possibilità di aiutare quelle donne che, per motivi genitali o per malattie generali, non possono avere un figlio. E domani?

In ogni caso l'idea della fecondazione extra-corporea era nella mente di alcuni scienziati molto prima che il progresso scientifico lo rendesse possibile. Ne parlavano nei congressi; ne scrivevano nei libri, fino ad ispirare scrittori come Huxley: ma la ricerca scientifica risponde a una logica rigorosissima e in questo caso, erano necessarie fondamenta molto solide, alle quali dovevano contribuire endocrinologi, fisiologi, embriologi, persino chirurghi.

Il lavoro degli endocrinologi necessario per costruire le basi della PMA l'ho già descritto, perché riguarda la sintesi o l'estrazione delle gonadotropine e il loro impiego nell'induzione dell'ovulazione. I fisiologi hanno applicato queste acquisizioni allo studio sperimentale dei meccanismi dell'ovulazione e hanno messo a punto le tecniche necessarie per mantenere in vita oociti e pre-embrioni "in vitro". Anche loro avevano dovuto attendere specifiche acquisizioni da parte della ricerca scientifica. S.L. Schenk, un fisiologo tedesco, aveva tentato di fecondare in vitro oociti di coniglio e di cavia, applicando le stesse tecniche che gli erano state utili nello studio della fecondazione delle stelle marine e dei ricci di mare: ma era il 1880, più di vent'anni prima della scoperta della soluzione fisiologica di F.S. Locke, e l'importanza della concentrazione ionica non la conosceva nessuno. Bisognava dunque attendere.

Mentre si sviluppavano gli studi dei fisiologi sul sistema ipotalamo-ipofisi-ovaio, continuavano a crescere le conoscenze sull'embriologia, una materia di studio alla quale scienziati italiani del passato, come Spallanzani e Malpighi, avevano dato importanti contributi e il cui progresso veniva continuamente sollecitato dalle nuove conoscenze nel campo della genetica.

Le prime esperienze di fecondazione in vitro furono naturalmente eseguite su animali come il coniglio, la cavia e la scimmia e il nome dei ricercatori che si occupavano di questi studi sono rimasti nella storia della medicina: Hubrecht, Selenka, Corner, Hartmann. Nel 1891, ben oltre un secolo fa, Walther Heape eseguì il primo trasferimento di embrioni nella coniglia. I suoi studi non avevano alcun riferimento pratico, perché erano rivolti a valutare l'importanza dell'ambiente materno e dell'eredità genetica in determinate caratteristiche, ma l'importanza del suo esperimento fu immediatamente compresa: quelle madri non respingevano un pre-embrione che era loro estraneo, il trasferimento era possibile e poteva essere tentato anche nell'uomo.

Nel 1933 pre-embrioni di coniglio furono coltivati in vitro per alcuni giorni da W. H. Lewis e P.W. Gregory, - fino allo stadio di blastocisti - e tutte le prime fasi di sviluppo dell'uovo fecondato furono descritte. In quello stesso periodo cominciò a occuparsi del problema uno scienziato diventato in seguito famoso per i suoi studi sull'anticoncezione ormonale, Gregory Pincus, che nel 1930 lavorava nella scuola di agricoltura dell'Università di Cambridge. Pincus applicò le conoscenze acquisite sugli oociti di coniglio anche all'uomo e cercò di scoprire

quali fossero i tempi di maturazione di un uovo in vitro, dalla diacinesi alla metafase. Le sue prime conclusioni (12-15 ore, un tempo che applicò a tutte le uova di mammifero) furono responsabili di una lunga serie di insuccessi, perché non tenevano conto del fatto che questi tempi sono diversi nelle differenti specie e nelle nostre sono di circa 37 ore.

Nel 1934 Pincus pubblicò, con E.V. Enzmann, un articolo che riguardava un esperimento molto particolare, fatto nelle coniglie, i cui risultati furono erroneamente interpretati ma che, alla luce delle conoscenze attuali, è di particolare interesse. Pincus aveva coltivato in vitro oociti e spermatozoi per un breve periodo di tempo e poi aveva trasferito tutto nelle tube di una coniglia ospite, una sorta di madre surrogata. Erano nati conigli con le caratteristiche della madre genetica, e Pincus pensò di aver avuto successo in una fecondazione in vitro: in realtà la sua tecnica di laboratorio non gli consentiva alcun risultato in quel campo e quello che invece era successo era che gli oociti erano stati fecondati nelle tube, un primo esempio sperimentale di GIFT (Gamete Intra-fallopian Transfer).

Durante la prima guerra mondiale, ritornato a Boston, Gregory Pincus collaborò con un giovane ginecologo destinato a diventare famoso per i suoi studi sulla fertilità femminile, John Rock. Insieme diedero vita ad alcuni progetti di ricerca, alcuni dei quali relativi ad oociti umani, Rock continuò poi da solo e con la collaborazione di una ricercatrice, Miriam Menkam.

Rock era un chirurgo e aveva facilmente accesso agli oociti umani. Cercò di fertilizzarne in vitro 138, ma la sua tecnica era inadeguata e la sua classificazione della maturità delle cellule era grossolana. E' quindi molto probabile che i tre casi di iniziale divisione cellulare osservati da Rock, fossero solo frammentazioni. Comunque Rock considerò il problema insolubile e lo abbandonò: tutto questo nel più assoluto disinteresse generale, sulle esperienze di Rock (regolarmente pubblicate su giornali scientifici internazionali) non ci furono né discussioni sociologiche né diatribe morali. Comunque il problema della fecondazione in vitro di oociti di mammifero fu risolto negli anni '50, prima da Charles Thibault in Francia, e poi da M.C. Chang negli Stati Uniti. Thibault, nel 1954, ottenne la fecondazione in vitro di uova di coniglia, ma si accontentò di osservare la comparsa dei due pronuclei e l'espulsione del secondo globulo polare. Chang, che lavorava alla Fondazione Worcester, che era stata da poco istituita da Pincus, continuò invece l'esperienza e trasferì i pre-embrioni in coniglie di razza diversa, ottenendo la nascita di conigli della razza originaria. Pubblicò questo risultato nel 1959, dando rilievo soprattutto al successo della fecondazione in vitro, senza rendersi conto che il risultato rilevante era quello relativo al trasferimento in utero, che completava le informazioni che era necessario acquisire: la base teorica della FIVET c'era ed era possibile cominciare a pensare alla sua applicazione clinica.

Dopo le ricerche di Pincus e per un certo periodo di tempo, a tenere il campo fu soprattutto la ricerca sperimentale degli embriologi. Le scoperte furono numerose e utili. In un pre-embrione di topo a due cellule fu distrutto un blastomero senza conseguenze nell'accrescimento. Ebbero successo tentativi di modificare l'assetto cromosomico. Furono formate chimere con la fusione di due cellule. Vennero verificati molti aspetti del metabolismo dei pre-embrioni e si ottennero cellule staminali dalle blastocisti di coniglio. Fu possibile stabilire il sesso studiando l'assetto genetico di una cellula di blastocisti di topo. Ma l'esperimento più interessante passò in pratica sotto silenzio: trasferendo una cellula embrionale più matura all'interno di un embrione più giovane si ottenevano due linee di crescita cellulare: la cellula più matura faceva il feto, le più giovani gli costruivano la placenta. C'era di che ragionare, e non solo per le possibili applicazioni cliniche.

Era comunque arrivato il tempo giusto per la sperimentazione sull'uomo, un tema che attrasse l'attenzione, quasi nello stesso momento, di ricercatori inglesi ed australiani.

Il nome del ricercatore inglese era Robert Edwards, un genetista interessato prevalentemente a problemi di immunologia, che era riuscito ad ottenere una fecondazione in vitro nel topo.

Edwards lavorava nell'Università di Cambridge, che non aveva una facoltà di medicina, per cui le sue possibilità di accesso ad oociti umani erano in pratica inesistenti. E' forse per questo che nel 1965 si recò come borsista a Baltimora, presso il John's Hopkins Hospital, in un'epoca in cui i ginecologi eseguivano un grande numero di resezioni cuneiformi dell'ovaio. Non va dimenticato che nello stesso ospedale, in quel tempo, lavoravano Howard Jones e sua moglie Georgeanna, i pionieri della FIVET negli Stati Uniti.

Edwards ebbe così modo di lavorare con tutti gli oociti umani di cui aveva bisogno e di verificare una sua teoria, secondo la quale gli insuccessi di Rock e di altri erano dovuti al fatto che non consideravano la necessità di "capacitare" gli spermatozoi, mettendoli in contatto coi i tessuti dei genitali femminili, una recente scoperta di Chang. In realtà, la capacitazione degli spermatozoi si determina casualmente nelle manipolazioni di laboratorio, e a questo punto Edwards non aveva ancora tutte le informazioni necessarie sui tempi di maturazione degli oociti, informazioni che con pazienza riuscì a raccogliere al suo ritorno in Inghilterra.

Mentre Edwards lavorava in laboratorio, la chirurgia aveva consegnato ai ginecologi una tecnica che si rivelò utilissima per arrivare al successo della fecondazione in vitro, la laparoscopia. Edwards lesse un articolo scritto da P.C. Steptoe che descriveva la tecnica, e gli propose una collaborazione, che ebbe inizio nel 1968. Edwards ha scritto la storia di quei dieci anni, dall'inizio della loro comunione di lavoro alla nascita della prima bambina, anni di fatica e di delusioni, di critiche e di speranze. Il primo segnale di un successo imminente fu la presenza di alcuni brevi periodi di positività registrati con un nuovo e più sensibile metodo di dosaggio della β HCG, l'ormone della gravidanza. Fu Edwards a inventare il nome di "gravidanza biochimica" che oggi tutti utilizzano per indicare gli impianti embrionari di breve durata. Tre anni di lavoro furono probabilmente sprecati per la scelta di un progestinico che avrebbe dovuto proteggere le eventuali gravidanze e che, al contrario, funzionava come abortigeno. Poi una prima speranza più concreta, la positività dei segnali di gravidanza che si protraevano nel tempo, ma si trattava di un impianto tubarico, un'altra delusione.

E infine, Lesley Brown, una ragazza alla quale erano state asportate le tube: un ciclo naturale, un solo oocita inseminato in vitro, un embrione trasferito allo stadio di 8 cellule e infine, nell'agosto del 1978, la nascita di una bambina, Louise Brown. Lo stesso Edwards riferisce di altre 3 gravidanze ottenute sempre con cicli naturali: uno dei feti aveva un'anomalia genetica, un secondo fu abortito spontaneamente poco dopo un'amniocentesi, della fine del terzo non so niente. Il successo era comunque stato acquisito e Edwards e Steptoe dovevano cercare un nuovo luogo di lavoro, Steptoe avendo dovuto lasciare il vecchio Oldem and District General Hospital per limiti di età: la scelta cadde su Bourn Hall, una vecchia magione vicino a Cambridge che però doveva essere ristrutturata e poté aprire solo nel settembre del 1980. Scrive Edwards, con qualche malizia, che questo intervallo di tempo in cui furono costretti dagli eventi a interrompere il lavoro diede al resto del mondo il tempo di raggiungerli. Anche il riferimento a questo "resto del mondo" è assolutamente degno dell'uomo, che scriveva testualmente: "Alex Lopata delivered an IVF baby in Australia

and one or two others were born elsewhere" (un paio di bambini sono nati da qualche altra parte).

In realtà gli australiani avevano cominciato a lavorare con impegno sulla fecondazione in vitro fin dal 1970. Si erano formati due gruppi, entrambi a Melbourne: il primo, presso la Monash University, sotto la direzione di Carl Wood e con la collaborazione di due importanti fisiologi, Alex Lopata e Alan Trounson. Il secondo gruppo era invece guidato da Ian Johnston e aveva sede nell'Università di Melbourne: a questo gruppo si appoggiò dopo qualche tempo Lopata e questa fu forse la ragione del successo, la nascita di una bambina nel giugno del 1980.

Dal 1980 in poi i successi nel campo della fecondazione in vitro cominciarono ad arrivare in numero sempre crescente, e con loro nuove proposte tecniche. Nel 1981 Alan Trounson e Carl Wood annunciarono la prima gravidanza ottenuta in cicli stimolati con clomifene e gonadotropine e dopo trasferimento di due o tre embrioni. In tutto il mondo si aprirono centri di fecondazione assistita: i due Jones a Norfolk, Jean Cohen a Parigi, Wilfred Feichtinger a Vienna, Klaus Dietrich a Bonn, Lars Hamberger in Svezia, Van Sterteghem a Bruxelles e infine Ettore Cittadini in Italia. I successi arrivavano, ormai si potevano fare previsioni statistiche, anche se c'era molta differenza nei numeri: qualcuno diceva il 6%, qualcuno diceva il 10%. Era dunque il momento di ragionare, confrontarsi, scegliere. Ma il rumore delle critiche era troppo alto.

Lasciamo stare i colleghi dissenzienti che ne dissero di tutti i colori, compreso il fatto che Edwards e Steptoe si erano inventati di sana pianta il loro primo successo. E trascuriamo anche di considerare quel po' di stampa pettegola e maligna che c'è un po' dappertutto (un giornale di Norfolk pagò ai due Jones, come risarcimento per averli diffamati, una cifra che non fu mai rivelata e che servì poi per la costruzione dell'Istituto di ricerca che porta il loro nome). Parliamo delle preoccupazioni vere, serie e argomentate, dei teologi e dei politici che assistevano sconcertati a una rapida e inattesa transizione verso nuove norme di concepimento. Come Maurizio Mori ed io abbiamo cercato di spiegare in un nostro recente libro (La legge sulla procreazione medicalmente assistita – Paradigmi a confronto – Gruppo Editoriale Il Saggiatore S.p.A., Milano 2005), in realtà si era tutti di fronte a un conflitto di paradigmi e la resistenza di chi sosteneva il vecchio era probabilmente più motivata e più forte dell'entusiasmo dei pochi che speravano nel nuovo.

Il fatto che queste tecniche consentissero a coppie che non avrebbero altrimenti potuto concepire di avere finalmente il figlio desiderato, non venne granchè considerato, della FIVET si prendevano in esame soprattutto la violazione della natura, il rischio che veniva fatto correre a un gran numero di embrioni e le possibili implicazioni eugenetiche. Poi, via via che il tempo passava e che venivano proposte nuove possibili applicazioni delle tecniche, le condanne crebbero e l'ostilità aumentò. Critiche molto importanti e severe furono pronunciate da teologi come Paul Ramsey e da moralisti come Leon Kass; vincitori di premi Nobel come James Watson e Max Perutz usarono la loro autorità scientifica per criticare le tecniche e furono purtroppo molto ascoltati, nessuno avendo avuto il coraggio di sottolineare l'assoluta incompetenza di questi scienziati in questo specifico settore.

In questo quadro di grande confusione il Rapporto Warnock, pubblicato nell'estate del 1984, ebbe un ruolo importante sia per il chiarimento teorico operato, sia per la proposta pratica avanzata, consistente in una sorta di compromesso tra le posizioni dei critici e quelle degli entusiasti. Le nuove tecniche erano accolte con favore, ma con alcune limitazioni e con l'impegno di sottoporle a un controllo sociale rigoroso. In questo modo l'opinione pubblica veniva rassicurata dalla presenza di una costante vigilanza sulle ricerche scientifiche

Le tappe della ricerca medico-scientifica relativa al trattamento della sterilità

- 1878 Primo tentativo di fecondazione in vitro con gameti di mammiferi (Schenk);
- 1884 Primo tentativo d'inseminazione intrauterina con sperma di donatore (Pancoast);
- 1920-1930 Vengono scoperti i principali ormoni della fertilità: Fsh, Lh e β Hcg;
- 1926 Zondek e Smith scoprono il controllo ipofisario delle gonadi;
- 1930-1940 Viene dimostrato che, nel normale ciclo ovarico, la crescita follicolare e l'ovulazione vengono indotte dall'azione comune esercitata da Lh e da Fsh: teoria delle «due cellule, due gonadotropine». Si ipotizza l'uso delle gonadotropine per la cura della sterilità e di una serie di disturbi endocrini;
- 1947 A Roma, presso l'Istituto farmacologico Serono, si esegue la prima purificazione della β Hcg estratta da urina umana;
- 1949 Nello stesso Istituto, Donini e Montezemolo iniziano la purificazione della gonadotropina umana della menopausa (Hmg);
- 1953 numerosi sperimentatori ottengono ovulazione e spermatogenesi nel ratto usando Hmg;
- 1956 Sintesi del citrato di clomifene, un antiestrogeno utile nelle anovulatorietà funzionali;
- 1958 Gemzell ottiene una ovulazione usando gonadotropine estratte direttamente dall'ipofisi umana. La prima gravidanza nella donna è ottenuta dallo stesso ricercatore due anni più tardi;
- 1962 Viene data notizia della prima gravidanza ottenuta con l'impiego dell' Hmg in un caso di amenorrea ipotalamica (Lunenfeld);
- 1965 Primi dati sulla fertilizzazione di oociti umani in vitro (Edwards);
- 1973 Prime due gravidanze ottenute da embrioni prodotti in vitro e interrotte spontaneamente dopo poche settimane (D.De Kretzer e coll., gruppo di Melbourne).
- 1978 In una lettera a «Lancet» Steptoe e Edwards annunciano la nascita della prima bambina concepita in vitro;
- 1980 Prima gravidanza ottenuta in un caso di iperandrogenismo anovulatorio usando Fsh purificato estratto dalle urine di donne in menopausa (Flamigni);
- 1982 Annuncio della prima gravidanza ottenuta con embrioni congelati (Trounson);
- 1983 Prima gravidanza dopo donazione di oociti (Lutyen). Alcuni anni dopo iniziano le ovodonazioni a donne ultraquarantenni (Sauer);
- 1984 Asch ottiene la prima gravidanza a seguito di trasferimento intratubarico per celioscopio di gameti (Gift);
- 1984 Prima gravidanza da oociti congelati (Chen);
- 1988 Prima gravidanza ottenuta dopo aspirazione di spermatozoi dall'epididimo (Silber). Successivamente, e soprattutto dopo l'introduzione delle tecniche di microiniezione, vengono proposte numerose varianti;
- 1988 Prima gravidanza dopo trasferimento del seme sotto la zona pellucida (Suzi) (Ng);
- 1990 Viene proposto, da Cohen, lo hatching assistito. Nello stesso anno Handyside pubblica i primi risultati relativi a gravidanze ottenute dopo diagnosi genetica preimpianto;
- 1992 Prima gravidanza ottenuta con iniezione di singoli spermatozoi nel citoplasma di oociti umani (Icsi) (Palermo);
- 1996 Prima gravidanza ottenuta utilizzando spermatidi nella iniezione intracitoplasmatica di gameti maschili in oociti umani (Tesarik). Nello stesso anno è riportata la prima di una serie di gravidanze ottenute da oociti congelati sottoposti a Icsi ;
- 1996 Nel luglio nasce Dolly, primo successo della clonazione;
- 1999 Prima gravidanza ottenuta da un oocita vitrificato (Gianaroli).

1999 Primi trapianti ovarici di tessuto crioconservato (K.Oktaç)

2001 Viene descritto un miglioramento della ICSI chiamato IMSI (intracytoplasmic morphologically selected spermatozoa) (B.Bartoov e A.Berkovitz)

2004 Viene approvata in Italia la legge 40 che impone una serie di divieti e di norme a favore della protezione dell'embrione

2009-2015 La Corte Costituzionale italiana dichiara illegittime le norme più restrittive della legge 40.

LE DEFINIZIONI

Esiste un problema generale in medicina che riguarda le definizioni e chi ha il diritto di proporle, considerato soprattutto il fatto che la medicina non si basa sulle verità ma sui consensi, che sono sempre destinati a cambiare. Il problema riguarda sia la trascinazione di significati diversi da attribuire a termini simili, sia la pretesa di Istituzioni non scientifiche di imporre le proprie proposte

In tutto il mondo, la sterilità viene definita come l'incapacità di una coppia di concepire dopo aver trascorso un certo periodo di tempo avendo rapporti sessuali con una frequenza considerata normale e senza usare alcun tipo di precauzione anticoncezionale. In questa definizione vedo già un certo numero di problemi.

Anzitutto, la terminologia usata non è universale. In Italia, la parola sterilità indica l'incapacità di iniziare una gravidanza o di farla iniziare alla compagna. Si usa invece il termine "infertilità" per indicare la incapacità di avere figli vivi e in grado di sopravvivere.

Ed ecco di seguito alcune definizioni. Infertilità: condizione della donna che è in grado di concepire, ma non di dar seguito al processo di sviluppo dell'embrione. Non si deve confondere con la sterilità, maschile o femminile (Enciclopedia della Medicina, nuova edizione aggiornata. Istituto Geografico De Agostini editore, Novara, 1995). E ancora: è necessario distinguere la vera sterilità, caratterizzata dalla mancanza di concepimento, dalla infertilità, che nella donna è contrassegnata dall'impossibilità di condurre una gravidanza a termine o fino all'epoca della vitalità del feto (E. Moracci, E. Martella, N. Ragucci, D. Berlingiere, ostetricia e ginecologia, Idelson, Napoli, 1986, Vol. II, pg 1024); "La sterilità viene distinta in molti Paesi Europei dalla infertilità conseguenza di un difetto dell'annidamento o dello sviluppo dell'embrione per cui la donna è incapace di prorogare la gravidanza fino a un'epoca di vitalità del feto (aborto ricorrente)" (G. Pescetto, C. De Cecco, D. Pecorari, N. Ragni, Ginecologia e Ostetricia, Società Editrice Universo, Roma, 2001, Vol. 1, pg 334).

Il termine infertilità, dunque, indica generalmente l'abortività sistematica che ha molto spesso cause genetiche o infettive. La confusione nasce dal fatto che in inglese la parola per indicare "sterilità" è "infertility", il che naturalmente ci crea qualche difficoltà, abituati come siamo a utilizzare la lingua scientifica anglosassone.

Il secondo problema riguarda la mancanza, nella definizione che ho riportato, della durata di

questo periodo di tempo e della giusta frequenza di rapporti: sono problemi importanti, ma su di essi non dovrebbe essere difficile trovare un accordo.

Il terzo problema riguarda il significato " prognostico" delle parole che usiamo.

Il concetto di sterilità è solo raramente assoluto, molto più spesso ha valore relativo. Certamente una donna operata di asportazione dell'utero e delle ovaie è sterile, visto che bisognerà aspettare progressi - al momento imprevedibili - della biologia per poter costruire oociti a partire dalle sue cellule somatiche, con il metodo della aploidizzazione (e poi naturalmente ricorrere a una madre surrogata); la stessa cosa si può dire per un uomo al quale sono stati tolti i testicoli. Ma in un gran numero di casi, il concetto è solo relativo. Una donna senza le salpingi può avere un figlio con la fecondazione assistita; un uomo azoospermico può conservare un piccolo numero di nemaspermi nel testicolo e diventare padre con una particolare tecnica di fecondazione assistita. E ancora: un uomo senza testicoli e una donna senza ovaia possono aver crioconservato i propri gameti e sono pertanto potenzialmente fertili.

Se poi, per stabilire l'esistenza della condizione di "coppia sterile" ci basiamo solo sul numero di cicli mestruali nei quali è stata cercata una gravidanza (cosa che facciamo d'abitudine nel caso di sterilità sine causa) dobbiamo accettare il fatto che una certa percentuale di queste coppie, prova e riprova, un figlio riesce ad averlo spontaneamente. E' dunque evidente che abbiamo commesso l'errore di considerare insieme, in prima approssimazione, coppie realmente sterili e coppie semplicemente poco fertili. Un concetto anche questo relativo, perché non tiene conto dell'età della donna. Ecco comunque una nuova parola che dobbiamo potere e sapere utilizzare nel nostro lavoro: ipofertilità.

Nel luglio del 2004 su Fertility and Sterility è apparso un articolo di J. D. F. Habbema nel quale il problema della terminologia viene esaminato criticamente, partendo proprio dalla valutazione dell'uso improprio del termine "infertility", che anche in inglese sembra avere differenti significati. Dopo aver criticato anche la definizione alternativa, "ipofertilità o subfertilità", l'autore conclude proponendo di combinare valutazioni descrittive, diagnostiche e prognostiche, per ogni coppia, fino ad arrivare ad una sorta di classificazione in "gradi", da 0 (60% di probabilità di concepire spontaneamente) a 4 (nessuna probabilità). Sono assolutamente convinto che questa proposta non ci farebbe fare un passo avanti, ma creerebbe solo ulteriore confusione: è sufficiente pensare a quanto, nella valutazione clinica e prognostica, continuo i protocolli d'indagine, così differenti da non poter essere spesso confrontati tra loro. Vi basti sapere che se un protocollo include una isterosalpingografia per valutare la fertilità meccanica femminile, le sterilità idiopatiche (cioè da cause ignote) saranno circa il 20%; se invece comprende una celioscopia, la stessa percentuale non salirà al di sopra del 9% .

L'articolo di Habbema non è comunque passato inosservato e la stessa rivista, nell'aprile del 2005, ha pubblicato cinque diversi interventi sull'argomento, scritti da medici preoccupati dalla confusione terminologica che si va creando e dalla cattiva accettazione, da parte delle coppie, di termini che implicano un giudizio prognostico negativo. L'articolo più interessante mi è sembrato quello di Ulla Larsen che ha esaminato sei differenti definizioni di "infertilità" e ha dato la sua approvazione a quelle che concordano con la raccomandazione della WHO (si parla di sterilità dopo 24 mesi di inutili tentativi di avere un figlio). Anche Human Reproduction ha pubblicato articoli su questo tema. Nel fascicolo di maggio 2005, C. Gnoth ha esaminato soprattutto il concetto di sterilità e ha riportato le probabilità che hanno le coppie di concepire

spontaneamente dopo periodi di varia durata nei quali la ricerca di un figlio non ha avuto successo (ma in realtà si tratta dei dati pubblicati da Habbema nella stessa rivista un anno prima). Riporto i dati in sintesi: delle coppie che non hanno ancora avuto una gravidanza dopo 6 cicli, la metà concepirà entro i successivi 6; se i cicli sono stati 12, la metà delle coppie concepirà entro un anno; se sono stati 24, le gravidanze saranno solo occasionali e sporadiche.

L' ipofertilità

Ho discusso più volte di questo tema con i miei collaboratori e ho elaborato un modo di spiegare il concetto di ipofertilità alle coppie. Dico loro: se una coppia fertile vuole sapere in quanto tempo inizierà una gravidanza chiedo loro tre dati (età di lei, durata dei cicli, frequenza dei rapporti) con i quali sono in grado di costruire una curva di Gauss che risponde in termini di probabilità statistica alla loro domanda. La curva di Gauss è una specie di figura – fatta vagamente a mo' di campana - che rappresenta il modo in cui si presentano tutti i dati biologici: esprime la distribuzione dell'altezza di una popolazione o quella dei valori normali della glicemia. Il punto più alto della curva ci dice appunto qual è la "norma" di quel dato biologico. Nel nostro caso questo numero ci indica in quale ciclo mestruale si concentra il maggior numero di successi, mentre la fine della curva precisa il termine entro il quale tutte le coppie fertili – con le caratteristiche che ho indicato – iniziano una gravidanza. Questo termine può essere di 3 cicli mestruali in coppie giovanissime e di 12 e più in quelle che giovani non lo sono.

Questa valutazione non è più possibile nei casi di subfertilità, che si possono in qualche modo assimilare ai casi di sterilità idiopatica (due anni di ricerca di un figlio senza successo; tutti gli esami negativi). Debbo cioè concludere che in questi casi le gravidanze possono arrivare, ma in modo fortuito e non prevedibile, casuale. Del resto questi successi inattesi, forse per la loro forte risonanza affettiva, sono noti a tutti. Accade frequentemente dopo aver avuto esperienze più o meno fortunate di fecondazione assistita; accade quando la coppia ha ormai rinunciato ad avere figlio proprio, dopo averne adottato uno, o dopo una terapia priva di efficacia, o persino dopo aver consultato uno stregone. Nessuna di queste cure, naturalmente, è responsabile di quella gravidanza che doveva, molto semplicemente, capitare proprio in quel periodo.