

**U.O.C. PROCREAZIONE MEDICALMENTE ASSISTITA
OSPEDALE SANTA MARGHERITA DELLA FRATTA
CORTONA (AR)
DIRETTORE PROF. LUCA MENCAGLIA**

RETE PMA AZIENDA USL TOSCANA SUD EST

Il problema della infertilità e della sub-fertilità interessa oggi circa il 25% delle coppie desiderose di avere figli. Si definisce infertilità di coppia quella condizione di mancato concepimento dopo 12 mesi di rapporti mirati non protetti ed è considerata dall'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) una patologia, quindi a tutti gli effetti una malattia. Trascorso tale periodo è opportuno ricorrere alla valutazione delle cause di infertilità. Qualora si accerti un ostacolo riproduttivo in uno o in entrambi i componenti della coppia e nel caso in cui non sussistano altre soluzioni terapeutiche alla risoluzione del problema, si ricorre alle tecniche di Procreazione Medicalmente Assistita (PMA). Queste sono caratterizzate da un alto contenuto tecnologico e da una percentuale di successi che diminuisce in modo inversamente proporzionale all'età della donna. In particolare l'età della donna, con la diminuzione o esaurimento della riserva ovarica è di fatto una delle principali cause di infertilità e sub-fertilità al momento attuale. Di qui l'importanza non solo di una diagnosi precoce delle coppie infertili, ma anche di un progetto che abbia il valore aggiuntivo di permettere uno screening, sulla popolazione che lo richieda, della capacità riproduttiva con informazioni sulla strategia più opportuna per ottenere la gravidanza a seconda della situazione soggettiva o dove necessario l'applicazione di tecniche di preservazione della fertilità mediante crioconservazione di gameti (spermatozoi/ovociti) o di tessuto gonadico riproduttivo (tessuto testicolare o ovarico).

Il principale scopo del progetto "Rete PMA" è la presa in cura del paziente/coppia infertile da parte delle strutture del territorio e l'accompagnamento attraverso un percorso che si concluda con la gravidanza. Il progetto ha anche lo scopo di attivare una vera e propria prevenzione della infertilità, mediante una valutazione di giovani coppie e singoli soggetti per poter fornire indicazioni al fine di ottenere una gravidanza naturale. Il percorso di PMA è offerto a tutte le coppie infertili (con assenza di concepimento spontaneo dopo un anno di rapporti liberi) o per cui risulta consigliato intraprendere un percorso diagnostico/terapeutico di PMA. L'accesso è consentito fino al compimento dei 43 anni del partner femminile per le prestazioni omologhe e fino al compimento dei 45 anni per la fecondazione eterologa con donazione di ovociti e comunque nel rispetto della normativa vigente.

Riferimenti normativi

- [Legge italiana 40/2004](#) (regolamenta i requisiti necessari e tutte le metodiche per la coppia che decide di avere un figlio attraverso la procreazione medicalmente assistita) e S.M.I.
- [Sentenza della Consulta del 9 Aprile 2014](#) (illegittimità del divieto di fecondazione eterologa)
- [Sentenza Corte Costituzionale n.96/2015](#) (cancellato il divieto di accesso alle tecniche per le coppie fertili affette o portatrici di patologie genetiche)
- Decreto 1 luglio 2015 del Ministero della Salute pubblicato in G.U. n. 161 del 14/07/2015 [Linee guida contenenti l'indicazione delle procedure e delle tecniche di "procreazione medicalmente assistita"](#), linee guida vincolanti per tutte le strutture autorizzate in aggiornamento alla Legge 40/2004.
- [Delibera di Giunta Regionale Toscana n.1285/2000](#) e relativo [allegato](#) (definisce le modalità di accesso alle prestazioni fornite dai centri di PMA toscani [consulta elenco](#)).
- LR51/09 Norme in materia di qualità e sicurezza delle strutture sanitarie: procedure e requisiti autorizzativi di esercizio e sistemi di accreditamento .

La Rete PMA USL Toscana Sud-Est

La domanda per la infertilità si caratterizza per essere diffusa, talvolta complessa e sempre ad alto impatto emotivo. In questo senso il bisogno assistenziale chiede risposte che abbiano le seguenti caratteristiche:

1. Tempestività e omogeneità,
2. Elevata integrazione professionale,
3. Appropriatelyzza e qualità diffusa,
4. Percorsi assistenziali condivisi e caratterizzati dalla "presa in carico" e dalla continuità di cura,
5. Disponibilità all'eccellenza e all'innovazione.

Principali obiettivi della rete sono:

- anticipare la diagnosi di infertilità e gestione consapevole della fertilità (prevenzione),
- adottare terapie efficaci nelle strutture adeguate (appropriatezza clinica e organizzativa),
- prendere in carico ed accompagnare nel percorso il paziente e la coppia già dal livello consultoriale,
- consentire la disponibilità all'eccellenza e alle innovazioni,
- garantire sinergie per il miglioramento della qualità e della quantità delle prestazioni.

Gli obiettivi sono perseguiti attraverso l'istituzione di un sistema pubblico riconosciuto e coordinato per la gestione della PMA omologa, eterologa, della preservazione della fertilità e della diagnosi genetica pre - impianto.

Al momento, nella Rete PMA della Azienda UsI Toscana Sud Est sono presenti 2 Centri PMA e sono coinvolti i seguenti Ambulatori/ Consultori:

1. PMA di primo, secondo e terzo livello a Cortona Ospedale Santa Margherita della Fratta.
2. PMA di primo livello all'Ospedale della Misericordia di Grosseto.
3. Ambulatorio presso il Consultorio di Arezzo
4. Ambulatorio presso l'Ospedale Santa Maria alla Gruccia di Montevarchi
5. Ambulatorio presso l'Ospedale del Casentino di Bibbiena
6. Ambulatorio presso il Consultorio della Val di Chiana
7. Ambulatorio presso il Consultorio della Valtiberina
8. Ambulatorio presso il Presidio Ospedaliero di Campostaggia
9. Ambulatorio presso il Consultorio Amiata Val d'Orcia
10. Ambulatorio presso il Presidio Ospedaliero di Nottola
11. Ambulatorio presso il Consultorio Val d'Elsa
12. Ambulatorio presso il Consultorio Pian d'Ovile
13. Ambulatorio presso il Consultorio di Orbetello
14. Ambulatorio presso il Consultorio di Follonica/Massa Marittima
15. Ambulatorio presso il Consultorio di Castel del Piano.
16. Ambulatorio presso il Consultorio di Grosseto

Il centro dell'Ospedale Santa Margherita della Fratta di Cortona è Centro di riferimento Aziendale. Per uniformare le prestazioni offerte su tutto il territorio aziendale, si istituiscono, all'interno dei consultori, ambulatori per una "fertilità consapevole", che garantiscano una adeguata copertura del territorio per assicurare ai cittadini informazione, screening sulla fertilità e sulla capacità riproduttiva.

Il progetto ha come fase finale la messa in rete del sistema in modo che siano definiti ed attivati percorsi che prevedano la presa in cura e la iniziale valutazione sul territorio con conseguente indirizzo delle coppie che necessitino di prestazioni di PMA ai Centri di riferimento di I°, II° o III° livello, a seconda delle esigenze e della localizzazione geografica.

Collateralmente saranno unificati e condivisi comuni protocolli diagnostici e linee guida sulle prestazioni da applicare con accesso alle liste di attesa e alle prenotazioni da parte di tutti gli operatori del sistema.

La Rete PMA adotta le metodiche dei sistemi di gestione di qualità quali manuali, procedure e protocolli, linee guida a garanzia dalla tracciabilità e miglioramento continuo della qualità e sicurezza delle attività svolte.

Gli operatori avranno anche l'opportunità di seguire le coppie negli eventuali percorsi terapeutici.

Particolare attenzione avranno tecniche come:

- la preservazione della fertilità in pazienti oncologici,
- la diagnosi genetica preimpianto (PGD - diagnosi genetica preimpianto / PGS - screening genetico preimpianto)
- la PMA eterologa

PRESERVAZIONE DELLA FERTILITA'

Circa un quarto di tutte le patologie oncologiche si verifica durante l'età riproduttiva. Grazie al miglioramento delle tecniche diagnostiche e terapeutiche, molte di queste neoplasie sono potenzialmente guaribili. E' oggi possibile preservare la fertilità di questi giovani pazienti prima di affrontare le cure necessarie (chirurgia, chemioterapia, radioterapia), che in una percentuale che varia dal 40 al 60% possono compromettere parzialmente o totalmente la fertilità dei soggetti. Presso il Centro PMA S. Margherita di Cortona dell'Ospedale della Fratta è attivo il servizio di Preservazione della Fertilità, che offre un servizio di *counselling* per il curante (oncologo, chirurgo, internista, radioterapista, GOM) e per il paziente. Questo servizio ha lo scopo di illustrare cosa è possibile crioconservare per preservare la fertilità del soggetto; quali sono le modalità di raccolta, di conservazione e di utilizzo futuro. Il servizio di *counselling* è anche in grado di valutare le eventuali procedure di PMA da applicarsi in pazienti con un precedente oncologico nella loro storia clinica ed i rischi correlati. In questo ambito è possibile effettuare crioconservazione dei gameti maschili e femminili di tessuto ovarico e tessuto testicolare. Il Centro PMA S. Margherita di Cortona dell'Ospedale della Fratta è la sede di riferimento ove è possibile procedere alla crioconservazione di gameti, embrioni o tessuto gonadico per preservare la fertilità in ambito oncologico per 21 ospedali distribuiti sul territorio della Regione Toscana. Nello specifico, il Centro PMA S. Margherita di Cortona dell'Ospedale della Fratta fornisce mediante posta interna la tecnologia e le informazioni per la raccolta del materiale da criopreservare (tessuto ovarico o tessuto testicolare) se previsto un intervento chirurgico, nel presidio dove è stato programmato. E' a carico del Presidio dove si effettuerà l'intervento chirurgico l'organizzazione del trasporto mediante Agenzia per il trasporto di materiali biologici del prelievo alla Biobanca di Cortona nei tempi previsti (6-8 h) e con le modalità necessarie. Nel caso sia stata scelta la modalità prelievo di gameti (ovociti o spermatozoi) o di embrioni o non sia previsto un intervento chirurgico nel Presidio di provenienza, il Centro provvederà alla organizzazione nei tempi più brevi possibili per la raccolta del materiale necessario per la preservazione della fertilità direttamente presso la Biobanca di Cortona.

Crioconservazione del tessuto testicolare

La crioconservazione di biopsia testicolare è una metodica sperimentale che consiste nel congelamento di tessuti testicolare o cellule della linea germinale con un successivo reimpianto dopo il trattamento antitumorale. E' una tecnica che potrebbe essere proposta anche ai bambini prepubere, che non hanno ancora iniziato la produzione di spermatozoi, ovvero prima dell'inizio della spermatogenesi.: la loro produzione infatti inizia durante la pubertà (dopo i 15 anni) pertanto il congelamento del liquido seminale non è una strategia utilizzabile nei bambini pre-pubere. In questi pazienti è possibile eseguire e successivamente congelare una biopsia testicolare contenente cellule della linea germinale testicolare.

Le cellule germinali possono essere reintrodotti nel testicolo del paziente, una volta guarito dalla neoplasia, sperando in una ripresa della spermatogenesi spontanea.

Nel dettaglio la procedura per gli operatori è la seguente:

Procedura tessuto testicolare:

- La biopsia testicolare è una tecnica chirurgica che consiste nell'ottenimento di un campione di tessuto testicolare mediante un'incisione scrotale.
 - Il P.O. contatterà il Centro di PMA Santa Margherita di Cortona per comunicare la data dell'intervento e le modalità di trasporto.
 - Il Centro di PMA Santa Margherita di Cortona provvede a fornire, mediante il servizio di posta interna, un contenitore appropriato per il trasporto con all'interno supporti e soluzione di mantenimento e relative informazioni per la raccolta del materiale da criopreservare. Insieme a questo materiale viene inviato il consenso informato alla crioconservazione.
 - L'intervento chirurgico consiste in una piccola incisione di circa 1 cm alla radice del sacchetto del testicolo per prelevare piccoli campioni di tessuto testicolare.
- I frammenti di tessuto prelevati devono essere inseriti all'interno dei supporti forniti ed identificati con: Codice identificativo paziente e Data, specificando inoltre l'origine dei frammenti (testicolo destro o testicolo sinistro).

- La biopsia per l'esame istologico del testicolo deve essere inviata dal P.O. all'Anatomia Patologica per escludere presenza di cellule neoplastiche.

- Il trasporto dei campioni deve avvenire a 4°C in ghiaccio non secco, nei tempi previsti (6-8 h). Il servizio di trasporto deve essere organizzato dal Presidio Ospedaliero dove verrà effettuato l'intervento chirurgico mediante Agenzia per il trasporto di materiali biologici.
- Il Centro di PMA Santa Margherita di Cortona procederà alla crioconservazione dei campioni e allo stoccaggio nella Biobanca.
- Il centro di PMA Santa Margherita di Cortona provvederà ad inviare al paziente una relazione in cui verranno date tutte le informazioni relative al tessuto crioconservato, incluso il responso dell'esame istologico.

Crioconservazione del tessuto ovarico

La crioconservazione del tessuto ovarico umano, rappresenta una delle strategie più ambiziose della Medicina della Riproduzione, nel tentativo di preservare la fertilità in donne con patologie prevalentemente oncologiche i cui trattamenti chirurgici o terapie farmacologiche, possono aver fatto perdere irrimediabilmente la funzionalità ovarica.

Non è necessaria alcuna stimolazione ovarica e il prelievo può essere eseguito in qualsiasi fase del ciclo. Alla paziente viene prelevato parte di un ovaio per via laparoscopica, il tessuto così ottenuto viene trattato dai Biologi esperti in tecniche di Fecondazione in Vitro e crioconservato in appositi contenitori di azoto liquido.

La crioconservazione con il successivo reimpianto di tessuto ovarico, inoltre, permette di ripristinare sia la funzione riproduttiva sia la funzionalità endocrina; garantendo un miglioramento della qualità della vita, nelle pazienti adulte, evitando la menopausa precoce e nelle pazienti pre-puberi consentendo un normale sviluppo fisiologico.

Questa tecnica rimane sperimentale, anche se sono state descritte gravidanze dopo reimpianto chirurgico di tessuto ovarico e sono in corso ulteriori ricerche per valutare la possibilità di espandere e fare maturare in vitro i follicoli conservati.

La crioconservazione di tessuto ovarico è indicata per pazienti affette da malattie di natura neoplastica e non, quali:

- Neoplasie del sistema emopoietico: linfoma di Hodgkin e non Hodgkin, leucemia mieloblastica e linfoblastica acuta.
- Malattie extra-pelviche: osteosarcoma, sarcoma di Ewing, carcinoma tiroideo, renale e mammario, neuroblastoma, tumore dell'intestino.
- Malattie pelviche: neoplasie non ginecologiche come il sarcoma pelvico, sarcoblastoma, rabdomiosarcoma, tumore sacrale, neoplasie retto-sigmoidali.
- Tumori maligni ginecologici: carcinoma precoce vaginale, vulvare e della cervice.
- Malattie infiammatorie: morbo di Chron, lupus eritematoso, artrite reumatoide.
- Anomalie cromosomiche: associate alla scarsa presenza di follicoli ovarici (es. Sindrome di Turner)
- Endometriosi severe.

Per sottoporsi alla procedura le pazienti devono

- a) avere una buona prognosi rispetto alla guarigione dalla malattia di base,
- b) non riportare danni irreversibili all'utero,
- c) ricevere l'approvazione dei medici oncologi che la seguono.

Nel dettaglio la procedura per gli operatori è la seguente:

Procedura tessuto ovarico:

- I frammenti ovarici si possono prelevare agevolmente durante un intervento laparoscopico o laparotomico, in anestesia. La biopsia di corticale ovarica può essere programmata in qualsiasi fase del ciclo mestruale.
- Il P.O. contatterà il Centro di PMA Santa Margherita di Cortona per comunicare la data dell'intervento e le modalità di trasporto.
- Il Centro di PMA Santa Margherita di Cortona provvede a fornire, mediante il servizio di posta interna, un contenitore appropriato per il trasporto con all'interno supporti e soluzione di mantenimento e relative informazioni per la raccolta del materiale da criopreservare. Insieme a questo materiale viene inviato il consenso informato alla crioconservazione.

- Durante la biopsia devono essere recuperati un minimo di 3 frammenti ovarici cubici di almeno 8 mm di lato.

- La biopsia per l'esame istologico dell'ovaio deve essere inviata dal P.O. all'Anatomia Patologica per escludere presenza di cellule neoplastiche e per valutare la conta follicolare.

- I restanti frammenti di tessuto ovarico prelevati devono essere inseriti all'interno dei supporti forniti ed identificati con: Codice identificativo paziente e data, specificando inoltre l'origine dei frammenti (Ovaio destro o Ovaio sinistro).

- Il trasporto dei campioni deve avvenire a 4°C in ghiaccio non secco, nei tempi previsti (6-8 h). Il servizio di trasporto deve essere organizzato dal Presidio Ospedaliero dove verrà effettuato l'intervento chirurgico mediante Agenzia per il trasporto di materiali biologici.

- Il Centro di PMA Santa Margherita di Cortona procederà alla crioconservazione dei campioni e allo stoccaggio nella Biobanca.

- Il Centro di PMA Santa Margherita di Cortona provvederà ad inviare alla paziente una relazione in cui verranno date tutte le informazioni relative al tessuto crioconservato, incluso il responso dell'esame istologico.

Come precedentemente esposto, la crioconservazione dei gameti può essere effettuata anche per condizioni non oncologiche e tra queste è possibile includere la crioconservazione per Social Freezing, ovvero la preservazione della fertilità per motivi sociali (mancanza di un partner stabile o di una sicurezza economica, prospettiva di carriera, etc.). La crioconservazione ovocitaria può essere richiesta da donne che desiderano ritardare il progetto di genitorialità. Infatti, all'aumentare dell'età diminuisce la riserva ovarica e peggiora la qualità ovocitaria, rendendo il concepimento più difficile. Effettuando il congelamento, queste donne possono crioconservare un determinato quantitativo di cellule riproduttive per poi farne uso qualora ne avessero bisogno.

Nell'ambito della Rete PMA è possibile effettuare il Social Freezing, che attualmente è a carico della paziente, ed il Centro di PMA Santa Margherita di Cortona è la sede di riferimento.

Si consiglia di realizzare la preservazione della fertilità quando la riserva ovarica è adeguata, generalmente fino ai 35-37 anni.

DIAGNOSI GENETICA PREIMPIANTO

La Diagnosi Genetica Preimpianto (PGD) è una procedura che consente di identificare la presenza di patologie genetiche o di alterazioni cromosomiche di tipo numerico o strutturali in fasi precoci di sviluppo di embrioni, prodotti con tecniche di procreazione medicalmente assistita (PMA), da coppie a elevato rischio riproduttivo, prima del loro impianto in utero. La combinazione delle tecniche di riproduzione assistita con le più avanzate tecniche di genetica molecolare offre nuove possibilità per le coppie a rischio per malattie monogeniche o anomalie cromosomiche.

Numerosi provvedimenti dal 2007 al 2015 hanno confermato la legittimità alla diagnosi preimpianto. La Regione Toscana, nell'ambito delle proprie politiche sanitarie, ha sempre dimostrato una particolare attenzione al tema della PMA. La diagnosi preimpianto, infatti, è una voce inserita nella recente delibera DG n° 304 del 31/03/2017.

Come da documento "Direttiva sull'espletamento della attività di diagnosi genetica preimpianto (PGD)" (allegato C della DGR n.837 del 06-10-2014), l'applicazione della diagnosi preimpianto è rivolta in particolare ai seguenti gruppi di pazienti sottoposti a PMA:

- Coppie portatrici di **malattie monogeniche**, in cui la PGD permette di verificare lo stato dell'embrione in merito alla specifica patologia;
- Pazienti portatori di **anomalie cromosomiche bilanciate**, in cui la PGD permette di individuare alterazioni cromosomiche strutturali sbilanciate nell'embrione;
- Pazienti portatori di un **mosaico cromosomico**.

Lo sviluppo delle conoscenze scientifiche che ha condotto all'identificazione di nuovi geni coinvolti nell'insorgenza di malattie ereditarie, unitamente all'avanzamento delle tecnologie, ha notevolmente esteso il campo di applicazione della PGD. In linea generale, la PGD può essere applicata per tutte le patologie genetiche, a trasmissione autosomica dominante, recessiva o X-legata, per le quali sia stato identificato il gene responsabile. Oggi, i Centri qualificati che effettuano diagnosi preimpianto sono in grado di sviluppare protocolli diagnostici per qualsiasi patologia genetica.

Le due tecniche principali impiegate per l'effettuazione della PGD sono:

- analisi di array-CGH
- analisi di Next Generation Sequencing (NGS).

Ad oggi, l'utilizzo delle tecniche di NGS che si spingono fino al sequenziamento dell'intero esoma, stanno aprendo nuove prospettive nell'esecuzione della PGD, consentendo un notevole incremento delle informazioni genetiche indagabili su ciascun embrione.

La Diagnosi Genetica Preimpianto (PGD) si esegue in seguito ad un ciclo di fecondazione in vitro

(ICSI), attraverso una biopsia embrionale.

Il materiale su cui viene eseguito l'esame genetico è rappresentato da più cellule prelevate al quinto/sesto giorno di coltura in vitro (trofoectoderma). Tale stadio dello sviluppo embrionale garantisce una maggiore affidabilità dell'analisi genetica, una riduzione significativa del rischio di mosaicismo (ovvero la presenza di linee cellulari con cariotipo differente nello stesso embrione), nonché minor rischio compromissione dello sviluppo embrionale a seguito della biopsia. Le cellule prelevate mediante l'impiego di un micromanipolatore vengono riposte in delle provette analitiche ed inviate al centro di genetica molecolare che effettuerà l'analisi. Sulle cellule prelevate dalla biopsia viene eseguita un'indagine genetica, grazie alla quale potranno essere identificati gli embrioni non affetti dalla patologia in esame. Gli embrioni biopsizzati vengono crioconservati in attesa del risultato del test genetico. Successivamente, dopo analisi genetica e colloquio interdisciplinare con la coppia, si procede alla programmazione del trasferimento degli embrioni risultati sani o portatori e quindi allo scongelamento degli stessi.

Si allega il Decreto PGD varato dalla Regione Toscana relativo alla "Modalità di attuazione dell'attività di Diagnosi Genetica Pre-Implanto (PGD)" per i centri pubblici di tale regione.

ETEROLOGA

La Rete PMA nel Centro di Cortona esegue oltre tutte le tecniche di PMA autologhe, la fecondazione eterologa. In Italia è possibile ricorrere a questo tipo di mprocedura in seguito alla sentenza n.162/2014 della Corte Costituzionale che ha sancito l'illegittimità del divieto della fecondazione eterologa previsto dalla legge n.40/2004. Il fondamento della fecondazione eterologa è la donazione dei gameti, un'azione di alto valore sociale e morale.

L'indicazione a ricorrere ad un percorso di PMA eterologa si pone in caso di impossibilità di reperire gameti da parte di uno dei due partner (es. azoospermia, menopausa precoce, riserva ovarica eccessivamente ridotta, etc.) e quindi è necessario ricorrere a gameti derivanti da soggetti esterni alla coppia.

La modalità di donazione del seme può avvenire tramite donazioni spontanee di donatori "puri" o mediante donazione "a specchio" (il partner della coppia che riceve ovociti dona il seme). La donazione di ovociti avviene per modalità egg sharing (condivisione di ovociti). La donatrice è una donna che si sottopone a un ciclo di stimolazione ovarica in quanto essa stessa ricorre a un percorso di PMA per ottenere una gravidanza e dona ovociti sovrannumerari.

Presso il Centro di Cortona Santa Margherita è possibile ricorrere alla fecondazione eterologa nel rispetto delle normative vigenti, di cui si allega una copia.

(D.L. n°16/2010, D.L. n°85/2012, DGRT n° 650/2014 e DGRT n°837/2014).

In conclusione, la volontà aziendale è che tutti i vari punti eroganti della rete consultoriale, siano in grado di fornire precise informazioni sui percorsi e avviare direttamente gli utenti alla prestazione richiesta in modo rapido ed efficace. La Rete PMA ha il vantaggio di poter offrire pari opportunità a tutta la popolazione, uniformità di prestazioni e di servizi di qualità all'avanguardia ed al passo con le tecnologie e la ricerca scientifica.

Inoltre la possibilità di lavorare in rete permette:

- di ridurre al minimo indispensabile gli spostamenti degli utenti su un territorio estremamente vasto come quello della nuova Azienda UsI Toscana Sud est,
- di razionalizzare le risorse umane e tecnologiche con conseguente risparmio economico, riduzione delle fughe e potere attrattivo dalle altre Regioni.