

# La conservazione del seme: è necessaria ?

*Dr. Bartolomeo Zaccagnino*  
*U.O. Urologia-Ospedale "Infermi", Rimini*  
*Direttore:Dott. E. Aiello*

# La conservazione del seme: è necessaria ?

**Incidenza di patologie oncologiche è strettamente correlata all'età e al sesso**

**Per i maschi il rischio entro i 40 aa è dell'1.4 % pari a 1 caso ogni 71 individui**

# La conservazione del seme: è necessaria ?

**Gli attuali regimi terapeutici permettono la guarigione o la sopravvivenza a lungo termine della maggioranza di questi pazienti**

**Spesso comportano un effetto gonadotossico che riduce considerevolmente le possibilità di concepimento spontaneo**

# La conservazione del seme: è necessaria ?

**Gli effetti dei trattamenti possono essere temporanei o permanenti**

**Il danno sulla funzione riproduttiva dipende da:**

- **Tipo trattamento chirurgico**
- **Tipo chemio/radio terapia**
- **Dosi cumulative di farmaco**
- **Patologia in atto**
- **Durata del trattamento**

# La conservazione del seme: è necessaria ?

**10 – 100 % dei pz. sottoposti a trattamenti antineoplastici si osserva una riduzione nella qualità del seme**

**15 – 40 % risulta sterile anche dopo molti anni dal termine della terapia**

Schrader , Reprod. Toxicol. 2001

# La conservazione del seme: è necessaria ?

Per questo motivo a tutti i pazienti dovrebbe essere offerta la possibilità di effettuare la crioconservazione del seme

Ad oggi questo obiettivo è piuttosto lontano , essendo stimato che **circa la metà dei pazienti** non viene indirizzata al deposito dei propri gameti né viene opportunamente informata sulle possibili conseguenze riguardo alla fertilità

# La conservazione del seme: è necessaria ?

**Le chemio/radioterapia hanno effetti sul DNA e causano anomalie strutturali e numeriche dei cromosomi**

**La frammentazione del DNA è considerata come parametro di qualità e capacità fecondante degli spermatozoi , essendo state evidenziate correlazioni dirette tra sub-fertilità ed elevati livelli di frammentazione del materiale genetico**

# La conservazione del seme: è necessaria ?

**E' verosimile che i trattamenti antineoplastici , oltre che causare anomalie cromosomiche, provochino un aumento di rotture nelle catene del DNA**

**Aspetto non del tutto chiarito essendo la frammentazione del DNA piuttosto diffusa nella popolazione generale ed essendo la presenza di cancro di per sé un fattore di rischio**

# La conservazione del seme: è necessaria ?

**Pazienti oncologici presentano ridotti livelli di integrità del DNA anche prima dei trattamenti**

**Effetto reversibile**

**Livelli di frammentazione sovrapponibili dopo 11.7 aa**

Thomson , Lancet 2002

# Principali effetti degli agenti antitumorali sulla fertilità maschile

**Elevato**

**Rx-Terapia ( 2.5 Gy sul testicolo )**

- **Ciclofosfamide**
- **Ifosfamide**
- **Cisplatino**

**Basso**

**Vincristina  
Bleomicina  
Metotrexate**

**Medio**

**Carboplatino  
Doxorubicina  
Vinblastina  
BEP**

# La conservazione del seme: è necessaria ?

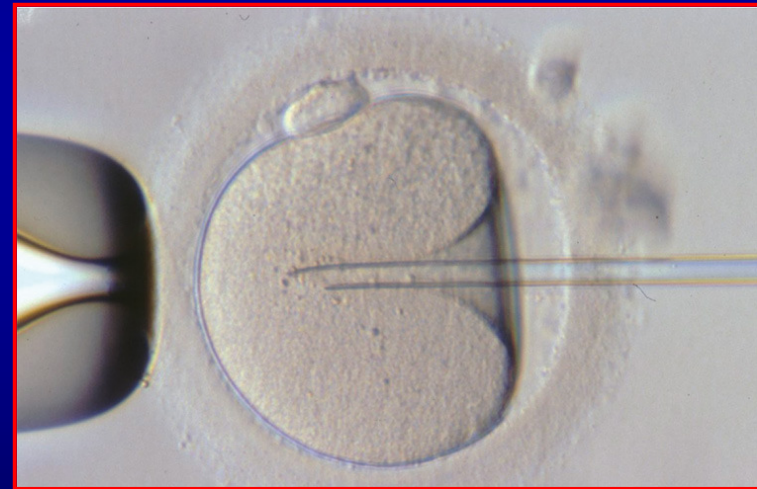
**I trattamenti antineoplastici ( chemio/radio/chirurgia ) possono provocare effetti negativi sulla funzione sessuale anche causando disfunzione erettile o impedendo la normale eiaculazione**

**La chirurgia si è evoluta per preservare per quanto possibile la fertilità adottando tecniche di dissezione linfonodali che preservano le fibre simpatiche permettendo l'eiaculazione anterograda nella gran parte dei pazienti**

**Negli ultimi anni si sono quindi sviluppate tecniche di crioconservazione di gameti e tessuti mirate al mantenimento della fertilità di giovani donne e uomini che devono sottoporsi a chemio/radioterapia, tutto questo è stato possibile grazie ad un contemporaneo sviluppo delle tecniche di fecondazione assistita.**

**OBIETTIVO:** Preservare la capacità riproduttiva

**TECNICA:** Crioconservazione di gameti/tessuti associata a procedure di fecondazione assistita



# NORMATIVE

I processi di gestione, manipolazione e conservazione dei campioni biologici sono normati in Italia da:

- 1) Linee Guida contenenti le indicazioni delle procedure e delle tecniche di procreazione medicalmente assistita (*Legge 19 febbraio 2004, n. 40*)
- 2) Direttiva europea *2004/23/CE* sulla “definizione di norme di qualità e di sicurezza per la donazione, l’approvvigionamento, il controllo, la lavorazione, la conservazione, lo stoccaggio e la distribuzione di tessuti e cellule umani” e successiva Direttiva europea *2006/86/CE*
- 3) Revised guidelines for good practice in IVF laboratories  
M. Cristina Magli, Etienne Van den Abbeel, Kersti Lundin, Dominique Royere, Josiane Van der Elst, Luca Gianaroli for Committee of the Special Interest Group on Embryology (*Human Reproduction 2008 23(6):1253-1262*)

# COSA E' POSSIBILE CRIOCONSERVARE IN ITALIA?



# CRIOBIOLOGIA

**PRINCIPIO BASE:** i processi biologici che garantiscono la vita sono temperatura dipendenti: l'attività di molti enzimi che catalizzano reazioni metaboliche è rallentata alle basse temperature

**PROBLEMA:** la quantità di acqua all'interno delle cellule è elevata quindi per limitare la formazione di ghiaccio e di danni alla cellula si ricorre all'utilizzo di *crioprotettori*

CRIOPROTETTORI NON PERMEANTI	CRIOPROTETTORI PERMEANTI
DMSO	Saccarosio
PROH	Glucosio
EG	
Glicerolo	

# CRIOCONSERVAZIONE LIQUIDO SEMINALE

## ASPETTI PRATICI:

- 3 depositi prima della terapia  
(Rousseaux S. et al. 1993; Foresta C. et al. 2000)
- conservazione del campione in paillettes  
protezione MECCANICA e BIOLOGICA



Banca temporanea

HIV, HCV,  
HbsAg,  
VDRL-TPHA

negativi

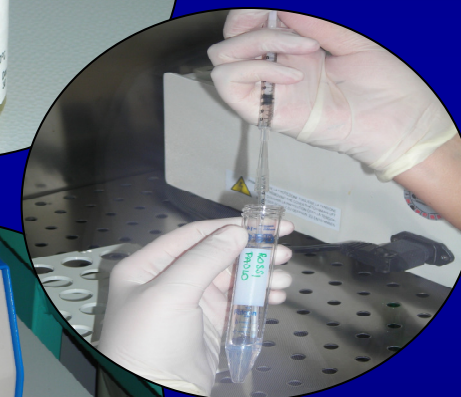


Banca definitiva

# CRIOCONSERVAZIONE LIQUIDO SEMINALE

## ASPETTI PRATICI:

- esame a fresco del liquido seminale  
(volume, concentrazione, motilità, forme normali...)
- diluizione 1:1 con crioprotettore
- 10 min a 37°C
- caricamento paillettes
- termosaldatura
- 20 min in vapori d'azoto (-80°C)
- stoccaggio in azoto liquido (-196°C)



# Tasso di utilizzo del liquido seminale

**Varia dal 3.6 % al 11.8 %**

**Aumenta con il passare del tempo**

**Mediamente dopo 4 anni dal deposito**

**Età media 34 aa**

**18 % dei pazienti richiede di eliminarlo**

# Tasso di utilizzo del liquido seminale

**I pazienti affetti da neoplasia testicolare ricorrono al materiale crioconservato con frequenza minore rispetto ai soggetti affetti da neoplasie non testicolari ( 3.2 % vs 6.9 % )**

**La spermatogenesi è più compromessa nei casi di neoplasia testicolare e i soggetti trattati hanno elevate probabilità di sopravvivenza a lungo termine**

# Tasso di utilizzo del liquido seminale

**Queste caratteristiche rendono tali pazienti candidati ideali al programma di crioconservazione**

**Le conseguenze psicologiche dell'orchietomia potrebbero rappresentare un motivo di abbandono del desiderio procreativo**

**In questi pazienti , dopo la remissione , la spermatogenesi sia ripristinata nella maggior parte dei casi**

# Tasso di utilizzo del liquido seminale

- **Non interessati ad avere prole**
- **Non conoscono o hanno scarsa fiducia nelle tecniche di fecondazione assistita**
- **Rischio di ricorrenza della patologia**
- **Timore di trasmettere la patologia**
- **Decesso**

# **Efficacia del liquido seminale crioconservato**

**Difficile trarre conclusioni sull'efficacia delle tecniche di PMA condotte con spermatozoi congelati rispetto a tecniche " a fresco "**

**Probabilità di successo intorno al 25-30%**

**ICSI la miglior tecnica**

# Futuro Riproduttivo

**Talvolta il deposito del liquido seminale non è possibile :**

- **Azoospermie**
- **Prepuberi**

**E' stato stimato che entro il 2010 un adulto ogni 250 sarà sopravvissuto ad una patologia neoplastica dell'età adolescenziale**

Questa previsione fornisce una indicazione sulla estrema numerosità di soggetti che potrebbero beneficiare di un programma di preservazione della fertilità prima dello sviluppo puberale

# Futuro Riproduttivo

## Crioconservazione di tessuto testicolare

**Il tessuto può essere trapiantato per intero**

**Isolamento delle cellule staminali germinali**

# Conclusioni

- **La preservazione della fertilità rientra tra gli obiettivi dei clinici**
- **L'ottimizzazione dei regimi terapeutici e lo sviluppo di protocolli sempre meno gonadotossici rappresentano di per sé una strategia per preservare la fertilità**
- **Ad oggi possiamo dire che l'unica tecnica consolidata riguardo al congelamento di gameti è quella per il liquido seminale che nel corso di tre decenni ha permesso la nascita di molti bambini , sebbene il tasso di utilizzo dei gameti crioconservati sia piuttosto ridotto**

# CONCLUSIONI

- **Pratica semplice ed economica**
- **Per gli azoospermici tentativo di recupero microchirurgico degli spermatozoi**
- **Crioconservazione di cellule staminali**

# CONCLUSIONI

**E' necessario che gli operatori del settore oncologico prendano coscienza dell'importanza di questi argomenti e che rendano partecipi i pazienti dei rischi legati al loro futuro riproduttivo attuando strategie preventive tutte le volte che sia possibile**

**Questa sensibilità offre, tra l'altro , un supporto psicologico fondamentale al soggetto che deve intraprendere un difficile percorso terapeutico**