

Optimizing Human

e

And Embryo Freezing

13 giugno 2014



Crioconservazione spermatozoi

Caterina De Leo

U.O. Clinica Ostetrica e Ginecologica

Laboratorio Andrologia e Crioconservazione

IRCCS A.O.U. San Martino-IST Genova

PERCHE' SI CRIOCONSERVA

- Per prevenire la sterilità:
 - in pazienti che devono essere sottoposti a terapie con possibile effetto gonadotossico
 - in pazienti con progressivo deterioramento del liquido seminale
 - in pazienti che vanno incontro ad interventi chirurgici in cui possa essere lesa la funzione eiaculatoria

PERCHE' SI CRIOCONSERVA

- Pazienti che effettuano vasectomia
- Pazienti esposti a sostanze dannose per motivi professionali
- Pazienti che, per ragioni psicologiche o logistiche, hanno difficoltà a raccogliere nel giorno della fecondazione assistita

PERCHE' SI CRIOCONSERVA

- Pazienti paraplegici in cui il recupero avviene tramite elettrostimolazione o somministrazione di farmaci specifici
- Pazienti che necessitano di recupero chirurgico degli spermatozoi

COSA SI CONSERVA

- Liquido seminale
- Prelievi bioptici testicolari
 - PESA (aspirazione percutanea da epididimo)
 - TESA (aspirazione da testicolo)
 - TESE
 - Micro-TESE

- In quest'ultimo caso, un profilo ormonale precedente l'intervento può dare utili indicazioni sulla probabilità di successo del recupero (dosaggio FSH e inibina B)

REQUISITI PER L'ACCESSO ALLA BANCA

- *Età*: non ci sono limiti, ma un'età molto giovane o avanzata rappresenta un fattore sfavorevole rispetto alla qualità della crioconservazione
- *Terapia non ancora avviata*:
 - non si effettua crioconservazione se la terapia ha già avuto inizio

- PROPORRE LA
CRIOCONSERVAZIONE
DEL LIQUIDO SEMINALE?

- **Adeguate informazione dei clinici**

Se possibile prima di un eventuale intervento

Se possibile prima di terapie di qualsiasi tipo

- **Compliance del paziente**

Paziente minorenni

REQUISITI PER L'ACCESSO ALLA BANCA

Sierologia - Markers infettivologici:

- Epatite B: anticorpi anti-HBsAg e anti-core
- Epatite C: anticorpi anti-HCV
- HIV: anticorpi anti-HIV
- Citomegalovirus: IgM e IgG
- VDRL-TPHA

Non si può conservare in assenza di indagine sierologica: si può fare eccezione in urgenza e solo in possesso di una banca di transizione

REQUISITI PER L'ACCESSO ALLA BANCA

...in presenza di positività di uno dei primi tre markers non è possibile crioconservare liquido seminale o prelievi bioptici, a meno di non possedere banche dedicate per ciascun tipo di marker. Per positività alle IgM per CMV bisogna attendere, se possibile, la loro negativizzazione

- Alcuni giorni di astinenza come per lo spermioγραμμα: non ci sono limiti in caso di urgenza
- Raccolta per masturbazione da effettuarsi presso il Centro per motivi legali: sono previste eccezioni per pazienti paraplegici, cateterizzati o degenti
- Contenitore sempre contrassegnato con nome, cognome e data di nascita
- Se possibile, più raccolte

ASPETTI FORMALI

- Accertamento dell'identità del paziente (fotocopia del documento di identità): se il paziente è minorenne, sono necessari anche firma e documento dei genitori o di chi esercita la potestà genitoriale
- Consenso informato
- Dichiarazione di manleva
- Copia degli esami infettivologici

ASPETTI FORMALI

Fascicolo personalizzato

- dati personali e anamnestici, consenso informato, dichiarazioni di manleva, copia del documento di identità e degli esami sierologici
- riassunto delle raccolte con la valutazione qualitativa del singolo campione e numero di paillettes/vials ricavati
- tracciabilità dei materiali impiegati
- localizzazione di ogni singolo dispositivo nel contenitore banca

Inserimento nel database

ASPETTI FORMALI

Il paziente deve effettuare annualmente la richiesta di prosecuzione del deposito

Il paziente può effettuare il ritiro parziale o completo del proprio deposito oppure richiederne l'eliminazione

Per ognuno di questi step sono necessari la presenza del paziente, la presentazione del documento di identità e un consenso scritto

ASPETTI FORMALI

- La crioconservazione ha una durata temporale definita (per esempio, un anno). Al termine di tale periodo, in mancanza di una richiesta esplicita per il rinnovo, il Centro è autorizzato ad eliminare il campione
- Poiché le paillettes possono essere ritirate solo dal proprietario dei gameti, eventuali richieste post-mortem non possono essere evase ed il campione crioconservato sarà eliminato alla scadenza prevista sul consenso

ASPETTI TECNICI

- Terreno crioprotettivo
 - Congelamento rapido
 - Congelamento lento
- Attrezzature criogeniche (in stanza adeguatamente attrezzata)

ASPETTI TECNICI

- Dispositivi per la conservazione
 - Paillettes termosaldabili ad alta sicurezza, con marcatura indelebile o etichettatura con codice a barre, da riempire mediante appositi raccordi (volume 0,2-0,5 ml)
 - Vials
 - Microgocce in capsule di Petri
 - Cryoloop
 - Pipette da ICSI

ASPETTI TECNICI

- Sorveglianza computerizzata del livello di azoto (allarme remoto)
- Disinfezione periodica dei contenitori
- Check semestrale dei depositi
- Contenitori criogenici di trasporto

ASPETTI TECNICI

- Modalità di trattamento delle biopsie testicolari:
 - Valutazione microscopica a fresco in sala durante l'intervento
 - Frazionamento sterile dei frammenti bioptici mediante vetrini portaoggetto
 - Incubazione a 37°C in terreno Sperm Medium o altro adeguato a sostenere la vitalità degli spermatozoi
 - Separazione del sovranatante dalla frazione cellulare
 - Lavaggio, valutazione numerica approssimativa e crioconservazione, eventualmente prova di vitalità

TESSUTO TESTICOLARE IN SOGGETTI PREPUBERI

- Slow freezing: scarso recupero e mancata differenziazione
- Vittrificazione: recupero e differenziazione degli spermatogoni

BANCA DEL SEME

IRCCS A.O.U. SAN MARTINO- IST

- Laboratorio di Andrologia e Crioconservazione

DINOGLMI, Università di Genova

Direttore: prof. Pierluigi Venturini

Caterina De Leo, Angela Di Vinci

Enzo Boccignone, Camilla Rizzo

- Fisiopatologia della Riproduzione Umana

Responsabile: dott.ssa Paola Anserini

BANCA DEL SEME IRCCS A.O.U. SAN MARTINO- IST

- Centro Cellule Staminali e Terapia Cellulare
—
IRCCS A.O.U. San Martino-IST
 - Biologa: dott.ssa Silvia Luchetti
 - Tecnico: Alberto Serio

DIAMO I NUMERI

- Depositi ottobre 2004 – maggio 2014
(numero pazienti)

576

- Congelamenti effettuati

949

- Numero di paillettes

circa 5000

DIAMO I NUMERI

Principali patologie per cui si conserva

Criptospermia - Linfoma H/NH - K testicolare

K colon, K prostatico, Leucemie, K encefalo,
K polmonare, K rinofaringe, K timo, K tiroide,
Seminomi, Sarcomi, SLA, Artrite psoriasica,
un caso di Klinefelter

Azoospermie ostruttive/secretive

DIAMO I NUMERI

42 BIOPSIE TESTICOLARI:

TESE (38) microTESE (4)

Clinica Urologica, Università di Genova

Direttore: prof. Giorgio Carmignani

dott. Marco Di Pierro

26 biopsie utilizzate per fecondazione assistita (a fresco e dopo crioconservazione):

9 gravidanze evolutive, 7 a termine, 11 nati

BIOPSIE TESTICOLARI

- Azoospermia ostruttiva 15
- Azoospermia secretiva 9
- Criptospermia 6

DIAMO I NUMERI

Percentuale di utilizzo del seme
crioconservato

In letteratura: 2,6 – 13,9%

Nostri dati 8,4%

Dipende dall'età dei pazienti e dal motivo
della crioconservazione

GRAZIE

