

Crioconservazione del seme: quando proporlo nel paziente non oncologico?

Introduzione

La crioconservazione degli spermatozoi ad oggi rimane l'unico metodo valido in grado di preservare la fertilità maschile (1). Questa tecnica prevede il congelamento in azoto liquido delle cellule a -196 C° ed ha principalmente due finalità fondamentali:

1. Preservare la fertilità in soggetti giovani con severa oligozoospermia o in previsione di trattamenti che potrebbero interferire con il sistema riproduttivo (preservazione a lungo termine).
2. Preservare i gameti per successive tecniche di fecondazione assistita, in pazienti con importanti alterazioni della qualità del liquido seminale e successivo miglioramento post-terapico (preservazione a breve /medio termine).

Negli ultimi anni le conoscenze di criobiologia sono straordinariamente aumentate a tal punto che oggi è possibile crioconservare anche in soggetti azoospermici(2) mediante prelievo di spermatozoi epididimari, intratesticolari o da urine alcalinizzate.

Perche' crioconservare

Fino a qualche anno fa la crioconservazione preventiva riguardava quasi esclusivamente i soggetti oncologici. Negli ultimi anni, con l'introduzione delle linee guida dell'Organizzazione Mondiale della Sanità (WHO 2010) e grazie allo sviluppo di nuove tecniche di fecondazione in vitro, si è optato per offrire questa opportunità anche a soggetti con importanti alterazioni seminali per il trattamento dell'infertilità (3).

Possono ricorrere alla crioconservazione pertanto anche altre categorie di pazienti come riportato nell'elenco sottostante.

Chi dovrebbe crioconservare

- Pazienti candidati a chirurgia addominale in grado di ledere la funzione eiaculatoria
- Pazienti candidati a trapianto d'organo
- Pazienti con patologie autoimmuni (immunosoppressori), renali gravi, malattie infiammatorie intestinali (IBD).
- Pazienti con severa alterazione dei parametri seminali (grave OAT)
- Soggetti con aneiaculazione per lesioni midollari
- Soggetti con eiaculazione retrograda (Es. pazienti con patologie neurologiche o con neuropatia diabetica)
- Soggetti con disfunzione erettile grave
- Soggetti con patologie psicogene e/o in trattamento con psicofarmaci in grado di alterare la fisiologia dell'eiaculato.
- Pazienti candidati a PMA con difficoltà/impossibilità a raccogliere il seme
- Giovani affetti da Sindromi Genetiche a rischio riproduttivo in età adulta (ad es. Sdr. Klinefelter, Sdr. Kartagener, Mutazioni del gene CFTR, microdelezioni cromosoma Y regioni AZF B e AZF C ecc.)
- Soggetti candidati a TESA/PESA per azoospermia sia ostruttiva che secretoria
- Pazienti con patologie genetiche associate a testicolopatia primaria
- Soggetti con rischio lavorativo (Radiologi, Militari impegnati in teatri operativi, Operatori di centrali nucleari, Operatori radar ecc)

Quando crioconservare

Pazienti candidati a trattamenti in grado di indurre aneiaculazione

In caso di malattie autoimmuni e terapie correlate, è importante, intervenire a scopo preventivo e indirizzare questi pazienti alla crioconservazione prima di qualsiasi trattamento.

Condizioni che possono impedire la raccolta del liquido seminale

In presenza di patologie come per esempio eiaculazione retrograda, disfunzione erettile grave o aneiaculazione, i pazienti dovrebbero ricorrere alla crioconservazione degli spermatozoi prima di procedere alle tecniche di PMA.

Condizioni che possono alterare progressivamente la funzione testicolare

Alcune patologie, come per esempio, testicolopatie primarie o particolari malattie genetiche come Sdr. Klinefelter, Sdr. Kartagener, Mutazioni del gene CFTR, microdelezioni cromosoma Y regioni AZF-B e AZF-C si associano frequentemente a un peggioramento della spermatogenesi. E' necessario perciò crioconservare

quanto prima al fine di preservare la fertilità. Nel Klinefelter, nonostante non esistano dati definitivi circa l'età in cui eseguire la crioconservazione (4) sebbene alcune evidenze suggeriscano di eseguire l'intervento, in caso di azoospermia, tra i 15 e i 35 anni (5).

Condizioni ambientali a rischio per la fertilità

Alcune condizioni di esposizione lavorativa o ambientale si associano a un elevato rischio per la fertilità. Ultimamente questo aspetto è stato sempre più valutato nell'ambito dell'infertilità maschile e la crioconservazione andrebbe eseguita a scopo preventivo prima dell'esposizione.

Come crioconservare

Gli spermatozoi vengono preservati mediante congelamento a -196°C in azoto liquido, perciò la crioconservazione non ha limiti temporali.

Poiché il raffreddamento provoca alterazioni del metabolismo cellulare con forti ripercussioni sulle sue capacità fertilizzanti (6); è importante utilizzare durante la crioconservazione sostanze crioprotettive apposite chiamate crioprotettori, che impediscono la formazione di cristalli di ghiaccio nella cellula proteggendola da danni del congelamento.

Esistono tre tecniche diverse di congelamento per il gamete maschile e tutte danno risultati soddisfacenti in termini di motilità e vitalità dopo scongelamento:

1. Metodo rapido
2. Metodo lento
3. Metodo lento con strumentazione automatizzata

La crioconservazione viene solitamente effettuata da liquido seminale tuttavia nei casi di aneiaculazione o azoospermia gli spermatozoi possono essere recuperati e crioconservati da urine alcalinizzate, epididimo o testicolo mediante agoaspirato o tecnica chirurgica. La crioconservazione prevede l'utilizzo di appositi dispositivi come paillettes o capsule di Petri dove si possono congelare anche numeri molto piccoli di cellule (7).

Conclusione

Grazie a queste metodiche tutti i pazienti che si sottopongono alla preservazione della fertilità possono ricorrere, in futuro, a tecniche di fecondazione assistita (IUI, FIVET, ICSI, IMSI) compatibili con la qualità delle cellule al momento dello scongelamento.

Autori: Andrea Garolla (PD)

Commissione Linee Guida SIAMS: Elisa Giannetta (Roma), Sandro La Vignera (Catania), Sara Marchiani (Firenze)

Bibliografia

1. Bunge RG, Keettel WC, Sherman JK. Clinical use of frozen semen; report of four cases. *Fertil Steril*. 1954; 5(6): 520-529.
2. Garg T, LaRosa C, Strawn E, Robb P, Sandlow JL. Outcomes after testicular aspiration and testicular tissue cryopreservation for obstructive azoospermia and ejaculatory dysfunction. *J Urol* 2008; 180: 2577-2580
3. WHO. Laboratory Manual for the Examination of Human Semen and Sperm-Cervical Mucus Interaction. Cambridge: *Cambridge University Press*, 1999.
4. Corona G, Pizzocaro A, Lanfranco F, Garolla A, Pelliccione F, Vignozzi L, Ferlin A, Foresta C, Jannini EA, Maggi M, Lenzi A, Pasquali D, Francavilla S and On behalf of the Klinefelter Italia N Group (KING). Sperm recovery and ICSI outcomes in Klinefelter syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Human Reproduction Update*, 2017; 23: 265-275.
5. Rogol AD, Skakkebaek NE. Sperm retrieval in adolescent males with Klinefelter syndrome: medical and ethical issues. *Translational Pediatrics* 2016; 5: 104-106.
6. O'Connell M, McClure N, Lewis SE. The effects of cryopreservation on sperm morphology, motility and mitochondrial function. *Hum Reprod* 2002; 17(3): 704-709.
7. Borges E jr, Rossi LM, Locambo de Freitas CV, Guilherme P, Bonetti TC, Iaconelli A, Pasqualotto FF. Fertilization and pregnancy outcome after intracytoplasmic injection with fresh or cryopreserved ejaculated spermatozoa. *Fertil Steril* 2007; 87(2): 316-320.