

Fecondazione assistita:

sperimentata una nuova tecnica per la selezione degli spermatozoi

Dott. Lodovico Parmegiani
 Direttore Laboratorio Embriologia
 Centri Medici GynePro - Bologna

In Italia la legge sulla fecondazione artificiale umana, la legge 40 introdotta nel 2004, era una delle leggi più restrittive nel panorama mondiale, ponendo un limite sul numero degli ovociti da inseminare. Tale limite è stato eliminato grazie alle modifiche alla legge derivanti dalla sentenza della corte costituzionale n. 151 del 2009. La sentenza permette ora all'equipe medica ed embriologica di scegliere il numero di ovociti da inseminare più adeguato alle esigenze della singola Paziente favorendo così l'impiego di alcune tecniche ancillari molto importanti come la coltura a blastocisti (trasferimento degli embrioni dopo coltura prolungata in vitro) o la diagnosi genetica preimpianto (analisi genetica dell'embrione). In base alla legge 40 del 2004 in Italia è consentita l'esecuzione della



Nel processo di fecondazione fisiologica l'Acido ialuronico costituisce una barriera formidabile che solo gli spermatozoi che hanno completato il processo maturativo sono in grado di penetrare

fecondazione in vitro omologa: gli ovociti della partner femminile vengono recuperati chirurgicamente, dopo una terapia farmacologica e vengono inseminati in vitro con gli spermatozoi del partner maschile. Gli eventuali embrioni formati dopo alcuni giorni di coltura vengono poi

trasferiti in utero mediante una semplice procedura (transfer embrionario).

La fecondazione in vitro degli ovociti si esegue entro poche ore dal prelievo ecoguidato degli ovociti. Si possono utilizzare due tecniche: Fecondazione in Vitro (FIV) tradizionale, o



La Physiologic ICSI permette di avere gli alti tassi di fecondazione tipici della ICSI associati ai meccanismi di selezione spermatica della fecondazione fisiologica

L'inseminazione Intracitoplasmatica (Intracytoplasmic sperm injection-ICSI).

Nella Fecondazione in Vitro si permette agli spermatozoi di fertilizzare l'ovocita spontaneamente in vitro. Gli spermatozoi devono superare una barriera costituita dalle cellule del cumulo ooforo che circondano l'ovocita: lo spermatozoo che ha migliori capacità natatorie, e che riesce a degradare l'Acido ialuronico che circonda le cellule del cumulo, raggiunge l'ovocita e lo feconda.

Con l'Iniezione Intracitoplasmatica degli Spermatozoi (ICSI), si inietta

uno spermatozoo in ciascun ovocita attraverso un sottilissimo ago, sotto visione microscopica. Questa tecnica si usa quando il numero e/o la motilità degli spermatozoi siano ridotti e sempre quando gli spermatozoi sono estratti direttamente dal testicolo. La ICSI è consigliata anche quando si hanno a disposizione pochi ovociti da inseminare in quanto garantisce alte percentuali di fecondazione (circa l'80% degli ovociti inseminati si feconda), per tale motivo è particolarmente indicata in caso di inseminazione selettiva di pochi ovociti.

La qualità dei gameti da impiegare nelle tecniche di fecondazione in vitro risulta pertanto fondamentale ai fini del risultato finale.

La selezione dello spermatozoo ideale da inseminare permette di ottimizzare i risultati della ICSI ed evitare la trasmissione di anomalie genetiche. La qualità dello spermatozoo microiniettato mediante Iniezione Intracitoplasmatica (ICSI) nell'ovocita è determinante nei processi di fertilizzazione e divisione embrionaria e nella trasmissione di eventuali anomalie genetiche o cromosomiche. Alcune anomalie della struttura cromatinica spermatica, come ad esempio la decondensazione e la frammentazione, sono associate all'incapacità di ottenere una gravidanza (sia mediante concepimento spontaneo che dopo Fecondazione in Vitro) o con l'alta incidenza di aborti precoci.

La tecnica di inseminazione in vitro più diffusa nei centri di Procreazione Medicalmente Assistita di tutto il mondo è denominata ICSI (Intracytoplasmic Sperm Injection) e consiste nell'iniezione dello spermatozoo direttamente nell'ovocita (la cellula riproduttiva femminile).

L'introduzione della ICSI nel 1993 ha rappresentato un grande passo avanti nel trattamento dell'infertilità maschile. Fino a quel momento gli uomini che avevano pochi spermatozoi o con una ridotta motilità avevano scarse possibilità di diventare padri con la tecnica di Fecondazione in Vitro tradizionale (FIVET).

Con la ICSI tuttavia il miracolo della riproduzione veniva consegnato nelle mani dell'Embriologo che operava la microiniezione, bypassando le barriere selettive che nel meccanismo di selezione fisiologica sono attorno all'ovocita umano.

Un recente studio del nostro team di Bologna ha dimostrato che la qualità degli embrioni che possono essere prodotti dopo la ICSI viene significativamente migliorata se lo spermatozoo selezionato per l'iniezione era in grado di legarsi all'Acido ialuronico, una molecola ubiquitaria presente nella matrice extracellulare delle cellule che rivestono l'ovocita.

Nel processo di fecondazione fisiologica l'Acido ialuronico costituisce una barriera formidabile che solo gli spermatozoi che hanno completato il processo maturativo sono in grado di penetrare.

I risultati di questa ricerca sono stati pubblicati su una delle riviste più prestigiose di Procreazione Assistita (Fertility and Sterility, organo della Società Americana di Medicina della Riproduzione: American Society of Reproductive Medicine - ASRM) la notizia è stata ripresa e pubblicata su alcu-

CENTRI MEDICI GYNEPRO

I centri Medici **GynePro** sono centri medici scientifici per la salute della coppia.

Nei centri **GynePro** si studiano e si eseguono prestazioni mediche relative ad ogni fase della vita riproduttiva femminile e maschile.

Una specifica unità di **GynePro** (GynePro Educational) si occupa della promozione e dell'organizzazione di eventi scientifici, culturali ed educativi quali congressi nazionali ed internazionali, convegni e corsi.

www.gynepro.it

ni giornali divulgativo-scientifici americani.

Questo il commento del Prof. Marco Filicori, Direttore Scientifico dei Centri Medici GynePro: "In poche parole il nostro metodo riguarda la possibilità di scegliere gli spermatozoi da inseminare per una ICSI tra quelli che aderiscono all'Acido ialuronico (che solitamente è presente attorno all'uovo durante la fecondazione fisiologica). In natura solo gli spermatozoi che sono in grado di legarsi e degradare l'Acido ialuronico sono

La IMSI trova indicazione nel trattamento di coppie che presentano poliabortività o ripetuti fallimenti dopo trattamenti ICSI tradizionali

in grado di fecondare gli ovociti, ma con una inseminazione ICSI questo tipo di selezione viene bypassato. Da qui il razionale della nostra "Physiologic ICSI" che prevede l'inseminazione degli spermatozoi scelti tra quelli che si legano ad un particolare terreno di coltura a base di Acido ialuronico. Questi spermatozoi sono quelli che hanno completato tutti i processi maturativi e hanno una bassissima probabilità di avere anomalie cromosomiche e cromatiniche".

Il Direttore Medico dei Centri GynePro, la Dottoressa Graciela Estela Cognigni afferma: "Nei nostri Centri di Medicina della Riproduzione GynePro pratichiamo la ICSI fisiologica da oltre 4 anni. La Physiologic ICSI garantisce gli alti tassi di fecondazione della ICSI ma permette al tempo stesso di mantenere le barriere selettive fisiologiche della FIVET tradizionale. ●



COME INTERVENIRE CON L'ACIDO IALURONICO

L'Acido ialuronico è normalmente presente attorno all'ovocita e ricopre fisiologicamente il ruolo di selettore degli spermatozoi, per questo motivo la ICSI eseguita con spermatozoi selezionati con Acido ialuronico (Physiologic ICSI) rappresenta una variante fisiologica e naturale della ICSI tradizionale. Gli spermatozoi che si legano all'Acido ialuronico presentano un indice molto ridotto di alterazioni cromosomiche. La Physiologic ICSI permette di avere gli alti tassi di fecondazione tipici della ICSI associati ai meccanismi di selezione spermatica della fecondazione fisiologica, riducendo così il rischio di inseminazione di spermatozoi con anomalie cromosomiche o alterazioni della struttura cromatinica.

Alcune recenti tecnologie di microscopia hanno permesso di osservare una correlazione tra integrità cromatinica e "l'ultramorfologia" degli spermatozoi. Un'osservazione in tempo-reale a più di 6.300 ingrandimenti permette di individuare e selezionare gli spermatozoi che presentano un contenuto cromatinico integro. Tale tipo di selezione richiede un sofisticato dispositivo di amplificazione di immagine applicato al sistema di micromanipolazione per la ICSI. L'esecuzione della selezione spermatica a più di 6.000 ingrandimenti associata alla microiniezione viene definita Intracytoplasmic Morphologically Selected sperm Injection (IMSI), al fine di distinguere questa nuova procedura di inseminazione dalla ICSI tradizionale. La IMSI trova indicazione nel trattamento di coppie che presentano poliabortività, ripetuti fallimenti dopo trattamenti ICSI tradizionali o un alto indice di frammentazione del DNA spermatico.

Gli studi pubblicati dal gruppo bolognese del GynePro hanno dimostrato che l'esecuzione di tale tecnica può essere velocizzata se accoppiata alla selezione spermatica con Acido ialuronico: Physiologic IMSI.