

INFEZIONI DA HIV E CONCEPIMENTO ASSISTITO

Augusto E Semprini, MD

Esman Medical Consulting, Milan

TECNOLAB, Milan

University College of London

Chelsea & Westminster Hospital, London

Virus a trasmissione ematogena

- Alcuni virus trasmessi tramite sangue, sono contagiosi anche anche per via sessuale
- I virus dell'epatite B e C e HIV si trasmettono tramite sangue infetto, sperma e dalla madre al bambino
- Trasmissione sessuale e trasmissione materno-fetale sono fondamentali per il mantenimento del ciclo vitale del virus

EPIDEMIOLOGIA DEL VIRUS HIV

- **Nei nei paesi industrializzati il 70% delle infezioni da HIV deriva da tossicodipendenza iniettiva e trasfusione di sangue infetto ed il 30% da trasmissione sessuale e materno-fetale**
- **Nei paesi poveri trasmissione sessuale e materno-fetale sono invece responsabili di oltre il 90% delle infezioni**

TRASMISSIONE SESSUALE DEI VIRUS

- La trasmissione sessuale di un virus può avvenire per la sua presenza nello_sperma e nel secreto genitale femminile (trasmissione sessuale in senso stretto, come HIV e HBV)
- La trasmissione sessuale può avvenire tramite piccole lesioni delle mucose genitali con micro-trasfusione di sangue infetto (es: HCV)

COPPIE CON ... HIV

- **Maschio infetto con HIV & donna non infetta**
- **Donna con HIV & maschio non infetto**
- **Entrambi infetti con HIV
(stesso genotipo virale)**
- **Entrambi infetti con HIV
(genotipi virali differenti)**

**IL 70% DEGLI UOMINI CHE
HANNO ACQUISITO HIV PER
VIE EMATOGENA SONO
COINFETTATI DA HCV**

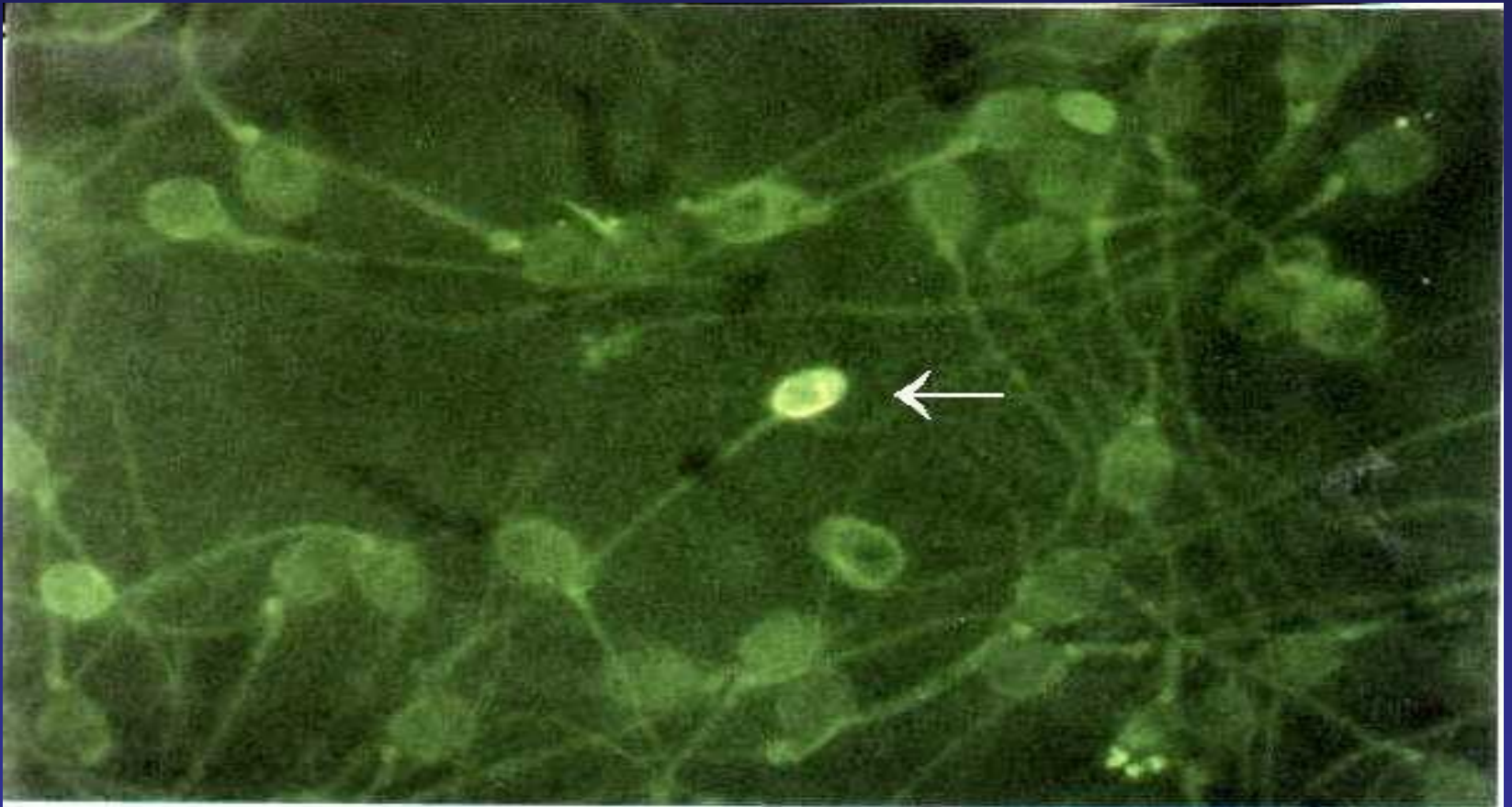
**Il desiderio di avere un figlio è
sentito dalla maggior parte delle
coppie con infezione da HIV**

**MASCHIO INFETTO CON HIV
& COMPAGNA NON INFETTA**

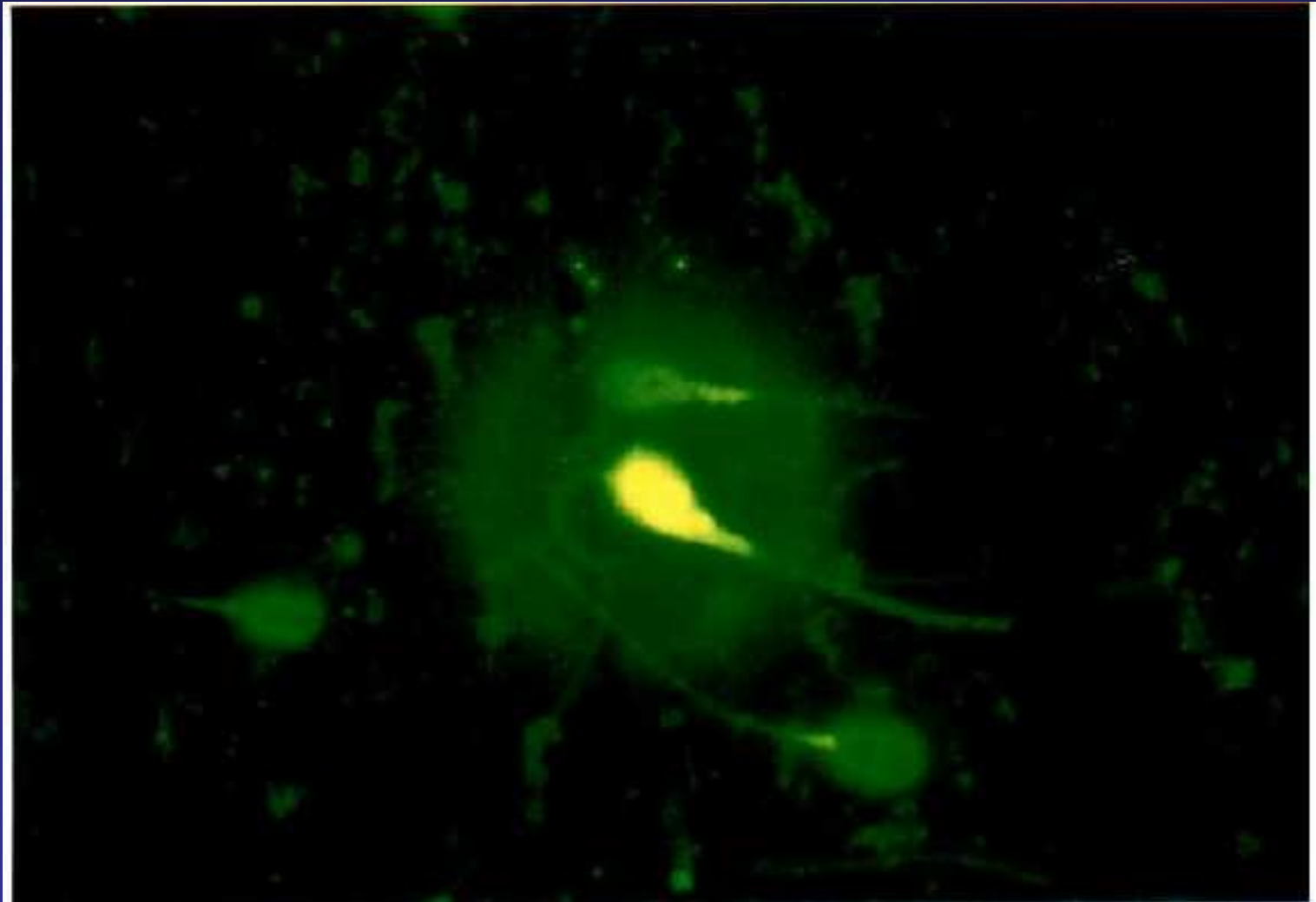
HIV NELLO SPERMA



IDENTIFICAZIONE DI DNA DEL VIRUS HIV NEGLI SPERMATOZOI DI UN MASCHIO CON INFEZIONE DA HIV-1



**IDENTIFICAZIONE DI DNA DEL VIRUS
HIV NEGLI SPERMATOZOI DI UN
MASCHIO SENZA INFEZIONE DA HIV-1**



HIV-1 RNA IN SEMEN AND BLOOD PLASMA

(LOWER DETECTION LIMIT 100 COPIES/ML)

Plasma (blood)	Whole Semen	Seminal Plasma	NSCs	Spermatozoa before migration	Final Spermatozoa fraction
N 50	N 48	N 46	N 38	N 38	N 46
21 (42%)	0	4 (8.7%)	1 (2.6%)	0	0

HIV-1 DNA IN SEMEN AND PBMC BY PCR ASSAY

(LOWER DETECTION LIMIT 50 COPIES/ML)

PBMC	Whole semen	NSCs	Spermatozoa before migration	Final spermatozoa fraction
n 50	n 49	n 48	n 46	n 40
50	0	7 (14.6%)	0	0

**IL CONCEPIMENTO ASSISTITO
NELLE COPPIE HIV-DISCORDANTI
E' STATO UN ARGOMENTO
MOLTO CONTROVERSO PER
OLTRE 15 ANNI !**



WHO SAID 'CAN'T'?

Someone is always
doing something
someone else said
was impossible

TRY TRYING

REMOVAL OF p18 IMMUNOREACTIVE CELLS FROM THE SEMEN HTLV-III/LAV SEROPOSITIVE MEN

Augusto E Semprini, A Vucetich, E Morandi, CL Parravicini, G Pardi and AE Beer. Colloque INSERM, Vol. 154, 1987, pp 462

A cytopsin preparation of washed spermatozoa, supernatant and the second fraction of the ejaculate were tested against a monoclonal anti-p18 antibody by immunoperoxidase technique. Washed sperm of seropositive and seronegative men were non-reactive, while many mononuclear cells and those in the second fraction of seropositive males were strongly reactive. Experiments are under way to test the possibility of safe intrauterine insemination with processed semen of HIV-positive men desiring a child.

AMOUNT OF HIV-1 IN SPERM FRACTION AFTER SPERM PROCESSING TECHNIQUES

(normal semen spiked with 10^6 pg as by Abbot HIV-Ag ELISA)

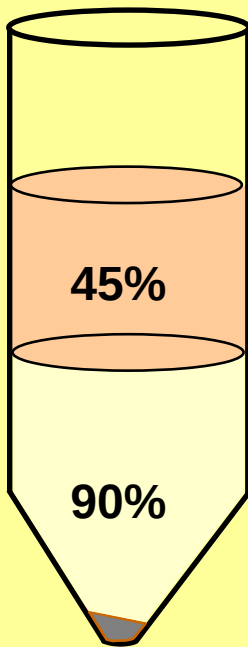
Anderson and Semprini, Fertil Steril 1993, abstract

TECHNIQUE	AMOUNT	REDUCTION
Simple cell wash	80 pg	10.000-fold
Gradient centrifugation	Undetectable	>100.000-fold
Swim-up	Undetectable	>100.000-fold

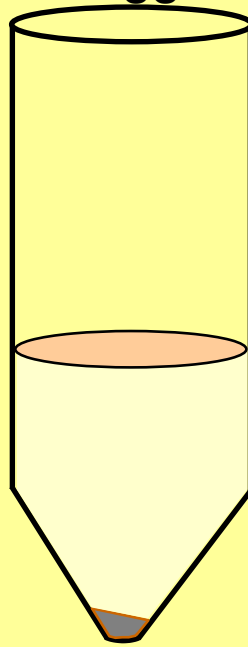
LAVAGGIO SEMINALE

Semprini et al. The Lancet, 27 November 1992

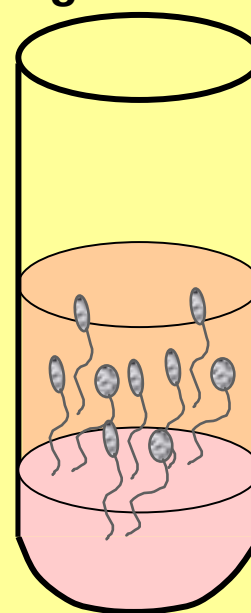
Gradiente



Lavaggio



Migrazione



1/8
Test per HIV RNA

DILUIZIONE FINALE: 4×10^6

INSEMINATION OF HIV-NEGATIVE WOMEN WITH PROCESSED SEMEN OF HIV-POSITIVE PARTNERS

85 HIV-discordant couples were screened for fertility; 29 women were found suitable for a timed insemination course with the processed semen of their HIV-positive partner. None of the inseminated women seroconverted and 17 pregnancies were achieved in 15 women. All 10 infants born to these mothers remain HIV seronegative. The eldest child is now three years old, healthy and uninfected.


(Semprini et al. - Lancet 1992; 340: 1317-19)



Caricature by Tom "huf" Hofstedt

IL METODO DI PREPARAZIONE SEMINALE ADATTO A RIDURRE IL CONTENUTO DI HIV DNA E HIV RNA DELL'EIACULATO

- **Diluire l'eiaculato in un liquido nutriente**
- **Filtrarlo mediante centrifugazione su di una soluzione molto densa per eliminare i globuli bianchi seminali**
- **Gli spermatozoi spinti sul fondo della provetta vengono lavati per eliminare la soluzione di filtrazione**
- **Gli spermatozoi vengono ricoperti con un liquido nutriente ed incubati per un ora**
- **Quelli con miglior motilità nuotano verso la superficie e possono essere facilmente raccolti per aspirazione**
- **Una frazione di questi spermatozoi viene analizzata per escludere contaminazione con HIV**



**OLÀ fa il bucato
bianco... bianchissimo!**

grande successo
PALMOLIVE

OLA

fa il bucato
bianco...
bianchissimo

astuccio medio L. 150
per 50 litri d'acqua
astuccio grande L. 290
per 100 litri d'acqua

OLÀ lava più pulito di qualsiasi sapone

MA E' SICURO ?

CREAThE

CENTRES FOR REPRODUCTIVE
ASSISTANCE TECHNIQUES IN
hiv-INFECTED INDIVIDUALS IN
EUROPE

CREAThE - una rete di 13 centri in 11 paesi

al 31 Dicembre 2002

	Couples	Cycles	Pregn.	Misc.	Lvbrth	Ongoing
Fresh sperm	1373	3693	524	79	427	59
Frozen sperm	142	397	62	13	47	7
IVF/ICSI	254	361	117	17	42	27
ET crio	16	18	2	0	0	2
TOTAL	1785	4469	705	109	516	95

Natural conception in HIV-negative women with HIV-infected partners

L Mandelbrot, I Heard, E Henrion-Geant, R Henrion (Lancet 1997; 349: 850)

We followed 104 consecutive pregnancies in 92 HIV-negative women with HIV-positive partners. Couples were advised to pinpoint ovulation in order to reduce possible exposure. *Seroconversion was observed in two women at 7 months of pregnancy and in two others post partum.* Some authors advocate intrauterine insemination with semen from the HIV-infected males, but the risk of this must be measured against the *low background risk of natural conception.* Stringent standard of safety must be required before inseminating potentially infected semen.

ABSENCE OF HEPATITIS C VIRUS AND DETECTION OF HEPATITIS G VIRUS/GB VIRUS C RNA SEQUENCES IN THE SEMEN OF INFECTED MEN

AE Semprini, T Persico, V Thiers, M Oneta, R Tuveri, P Serafini, A Boschini, S Giuntelli, G Pardi and C Brechot. J Infect Dis 1998; 177(4): 848-54

Serum and semen from 90 anti-HCV-positive drug users were tested (27 infected with HIV) for HCV and HGV/GBV-C RNAs by polymerase chain reaction (PCR) assay, hybridisation, and Sequence analysis. Semen was processed into round cells, seminal plasma and spermatozoa.

Fifty-six patients were HCV-viraemic, but HCV-RNA was not identify in their seminal fractions. However, PCR inhibitors were found in the semen of 34 of these men. Twenty-eight patients had HGV/GBV-C RNA in their blood and for 24 of them, ejaculates were available for analysis. HGV/GBV-C RNA was found in the seminal plasma of 6 of 12 samples free from PCR inhibitors.

These results agree with the low risk of sexual transfer of HCV and provide preliminary evidence for the presence of HGV/GBV-C in semen.

Determinazione degli acidi nucleici virali nello sperma

VIRAL NUCLEIC ACID	NON-SPERMATOZOA CELLS	SEMINAL PLASMA	SPERMATOZOA
HCV-RNA	NO	NO/YES	NO
HGV-RNA	NO	YES	NO
HIV-RNA	YES	YES	NO
HIV-DNA	YES	NO	NO
TTV-DNA	YES	NO	NO

E' DIFFICILE

AVERE UN FIGLIO

IN QUESTO MODO?

RIPRODUZIONE IN VIVO ED IN VITRO

- Nella riproduzione in vivo il seme viene depresso in vagina durante rapporti sessuali penetrativi o mediante inseminazione artificiale
- Nella riproduzione in vitro, gli ovociti femminili vengono aspirati dall'ovaio sotto controllo ecografico e posti in provetta con gli spermatozoi

Nelle coppie con infezione da HIV la fertilizzazione assistita può avere due finalità

- **PROTEGGERE IL PARTNER NON INFETTO**
- **SUPERARE UN PROBLEMA DI FERTILITA'**

ESAMI PER LA DONNA

- **Tampone cervicale per Chlamydia e Mycoplasma**
- **Papt test**
- **Valutazione della pervietà tubarica**
- **Ricerca anticorpi anti-HIV**
- **HBsAg, anti-HBs, anti-HBc, anti -HCV**
- **VDRL-TPHA**
- **LH, FSH, TSH, PRL in fase mestruale**
- **Progesterone e PRL al 22mo e 24mo giorno**
- **Anticorpi IgG ed IgM anti-CMV**

ESAMI PER L'UOMO

- Tampone uretrale per batteri, Chlamydia e Mycoplasma
- Spermioγραμμα e spermio coltura
- Concentrazione di HIV RNA nel sangue
- HBsAg, anti-HBs, anti-HBc, anti-HCV
- Concentrazione HCV RNA nel sangue
- VDRL-TPHA
- Prolattina, LH, FSH, TSH, Testosterone
- Anticorpi IgG ed IgM anti-CMV



Barilla 1977

Barilla

vera pasta all'uovo

con cinque uova per chilogrammo

QUALE TECNICA NELLE COPPIE HIV-DISCORDANTI ?

INSEMINAZIONE INTRAUTERINA SU OVULAZIONE SPONTANEA

- Assenza di fattori di infertilità
- La donna ha meno di 35 anni
- Normale profilo ormonale ovulatorio
- Più di un milione di spermatozoi dopo lavaggio

INSEMINAZIONE INTRAUTERINA SU INDUZIONE DI MATURAZIONE FOLLICOLARE MULTIPLA

- Indicazione clinica all'uso di farmaci ovulatori
 - La donna ha più di 35 anni
 - tre inseminazioni senza concepimento
- Più di un milione di spermatozoi dopo lavaggio

QUALE TECNICA NELLE COPPIE HIV-DISCORDANTI ?

FERTILIZZAZIONE IN VITRO

- Presenza di danno tubarico od endometriosi
- Più di un milione di spermatozoi dopo lavaggio
 - Ripetute inseminazioni senza gravidanza

INIEZIONE INTRA-CITOPLASMATICA DI DEGLI SPERMATOZOI (ICSI)

- Meno di mezzo milione di spermatozoi dopo lavaggio
 - Severa riduzione della motilità degli spermatozoi
 - Immobilità degli spermatozoi

SCELTE CLINICHE

- Le inseminazioni con seme lavato su ovulazione spontanea non richiedono frequenti monitoraggi ovarici ecografici e non aumentano la gemellarità, ma il tasso di gravidanze per ciclo è del 10%
- Le inseminazioni con seme lavato su ovulazione multipla richiedono invece frequenti monitoraggi ecografici, l'uso di farmaci costosi e comportano un possibilità di gemellarità del 20%, con un tasso di gravidanze del 15% per ciclo.

SCELTE CLINICHE

- Lavaggio seminale e fecondazione in vitro richiedono monitoraggio intensivo e farmaci costosi, recupero di ovociti con sedazione anestesiológica ed hanno elevati costi di laboratorio. Il tasso di gravidanze è del 25-40% per ciclo, con una probabilità di gemellarità del 20-30%.
- Lavaggio seminale ed ICSI comportano identiche caratteristiche della FIVET con maggiori costi di laboratorio, con un tasso di gravidanze per ciclo del 30-60% ed una possibilità di gemellarità del 20-30%.

PROBLEMI PER LE COPPIE HIV-DISCORDANTI CHE RICHIEDONO ASSISTENZA RIPRODUTTIVA

- CONSULENZA CONTRASTANTE DA DIFFERENTI MEDICI**
- ANSIETA' PER LA POSSIBILITA' DI INFEZIONE**
- DIFFICOLTA' A COMPLETARE GLI ESAMI PRE-TRATTAMENTO (COSTI, CONFIDENTIALITY, LOGISTICA)**
- DIFFICOLTA' A RAGGIUNGERE IL CENTRO DI ASSISTENZA**
- LISTA DI ATTESA MOLTO LUNGHE CHE PORTANO A TENTATIVI SPONTANEI DI CONCEPIMENTO**
- POSSIBILITA' DI INTERRUZIONE DEI CICLI PER SCARSA RISPOSTA OVARICA O PROBLEMI TECNICI DI PREPARAZIONE E VERIFICA DEL LAVAGGIO SEMINALE**

***L'attesa di vita di una
persona con infezione da
HIV in terapia
antiretrovirale supera i 30
anni dal momento
dell'infezione***

Vogliamo riempire di

anni

la loro vita

o

riempire di vita i loro

anni ?

***Come specialista in
medicina riproduttiva
posso avere una sola
risposta...***

Riempiamoli di vita

