

Tutela della fertilità di coppia: "ri"parliamone
Comacchio - Palazzo Bellini
18 ottobre 2019

TUMORE E PRESERVAZIONE DELLA FERTILITA': A CHE PUNTO SIAMO

Francesco Capodanno
Centro di Fisiopatologia della Riproduzione Umana
Ospedale del Delta di Lagosanto
AUSL di Ferrara

Una relazione ... di parte



Il cancro di per sé può compromettere la fertilità?

E' difficile dare una risposta univoca

- Quante pazienti fertili cercano una gravidanza dopo il cancro?
- Quanti pazienti eseguono uno spermogramma prima della diagnosi di cancro e dopo le terapie?
- E' impossibile eliminare il fattore "gonadotossicità" delle terapie
- Fattore età per la valutazione della fertilità femminile

**Cancro e fertilità femminile:
cosa suggerisce la Letteratura**

Per definire il ruolo del cancro sulla fertilità femminile, si dovrebbero considerare pazienti oncologiche, in età riproduttiva e fertili

Il parametro più utilizzato è la risposta ovarica durante la preservazione della fertilità
(valutazione indiretta di funzionalità ovarica)

La maggior parte dei dati riguardano pazienti affette da cancro mammario o neoplasie ematologiche

Autori	Gonadotropine (UI) media±DS		Durata stimolazione media±DS		Ovociti recuperati media±DS		Ovociti MII recuperati media±DS	
	Indicazione oncologica*	Indicazione non oncologica	Indicazione oncologica*	Indicazione non oncologica	Indicazione oncologica*	Indicazione non oncologica	Indicazione oncologica*	Indicazione non oncologica
Pat, 1998	2250±225	2932±438	-	-	13,0±3,0	13,0±1,0	8,7	10,0
Okday, 2006	1317±578	2382±1062	11,7±2,3	12,2±1,5	12,4±7,0	11,1±5,5	8,7±4,8	9,7±5,1
Knopman, 2009	3507±1012	3306±1164	-	-	14,9±9,0	12,0±7,0	-	-
Klock, 2010	-	-	10,0±1,4	9,9±1,0	10,0±6,4	13,9±7,6	-	-
Quintero, 2010	4174±1276	3416±1209	10,5±2,4	9,0±1,4	11,5±8,3	13,0±5,7	9,6±8,8	9,7±5,4
Michaan, 2010	2250±1541	2544±921	10,4±4,8	-	8,8±6,0	8,8±6,6	-	-
Robertson, 2011	4184±1791	3487±1763	11,0±2,0	11,0±2,0	12,0±8,0	14,0±9,0	9,0±6,0	11,0±7,0
Totale	3031±1726	3387±1763	10,9±2,2	10,9±2,0	11,7±7,5	13,5±8,4	9,0±6,5	10,8±6,7

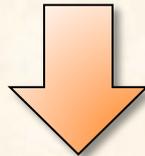
* Prevalentemente cancro mammario

Le pazienti oncologiche mostrano una risposta ovarica ridotta rispetto ai controlli

La meta analisi di Friedler ha alcuni fattori confondenti

- ✓ Studi con protocolli di stimolazione diversi
- ✓ Impiego di inibitori delle aromatasi? Quali?
- ✓ Gruppi di controllo non adeguati

Dosaggio di gonadotropine più bassi nelle pazienti oncologiche



Minor recupero ovocitario in presenza del cancro

	Indicazione non oncologica	Indicazione oncologica*	P value
Età media	34,5±3,5	33,7±4,1	0,08
Durata stimolazione	11,9±0,1	11,7±0,2	0,15
Fiale di gonadotropine	35,6±1,5	38,0±2,0	0,28
Ovociti recuperati	12,4±7,8	12,5±3,2	0,36

* Prevalentemente cancro mammario

La presenza del cancro non influenza la risposta ovarica

	Indicazione elettiva	Cancro mammario	P value
Età media	36,4±3,0	34,9±4,6	<0,001
AFC	15,4±10,0	15,4±10,4	NS

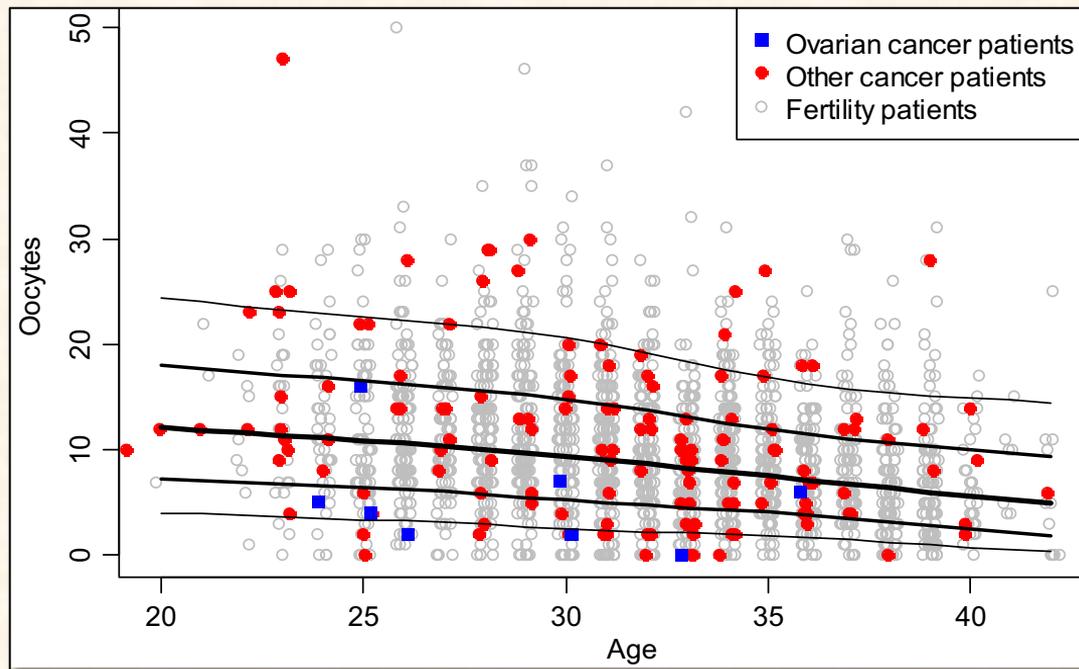
	Indicazione elettiva	Cancro mammario (Letrozolo)	Cancro mammario (senza Letrozolo)	P value
Durata stimolazione	9,8±0,1	10,3±0,2 ^a	10,1±0,3	<0,001
Ovociti recuperati	13,2±0,4	14,1±0,8	12,2±1,0	NS
≤ 6 ovociti recuperati	12,5 %	10,4%	15,8%	NS

a: rispetto a indicazione elettiva

La presenza del cancro non influenza la risposta ovarica

	Stadio 1	Stadio 2	Stadio 3/4	P value
Età	35,9±4,5	34,6±4,4	33,7±5,2	NS
AFC	13,7±8,1	16,3±11,0	16,1,±12,8	NS
Durata stimolazione	10,3±1,9	10,4±1,7	9,7,4±2,0	NS
Gonadotropine (UI)	255±73	228±72	226±84	NS
Ovociti recuperati	11,8±9,0	14,9±10,6	15,4±9,2	NS

La risposta ovarica non sembra essere influenzata neanche dallo stadio del cancro mammario



La risposta ovarica non è influenzata dalla presenza del cancro

Tra i vari tipi di cancro, quello associato a minor recupero ovocitario è il cancro ovarico

	Indicazione non oncologica	Indicazione oncologica*	P value
Età media	37,2±4,9	32,3±3,5	<0,0001
AFC	9,7±6,4	12,3±7,6	<0,0001
AMH	10,9±11,2	15,4±17,2	0,287
Durata stimolazione	11,2±14,2	10,6±2,7	0,214
Ovociti recuperati/paziente	12,8±7,4	12,5±3,2	0,354
MII vitrificati/paziente	9,8±6,4	9,5±2,6	0,487

* Prevalentemente cancro mammario, linfoma di Hodgkin e linfoma non-Hodgkin

Una volta eliminato il fattore “età”, i dati confermano che la risposta ovarica non cambia in presenza del cancro

	Cancro mammario	Linfomi (LH+LNH)	Altri tumori solidi	P value
Età	31,6±3,8	24,9±5,3	29,6±6,0	<0,001
Durata stimolazione	9,7±1,4	10,3±1,6	9,3±1,8	NS
Gonadotropine (UI)	2128±707,3	2421±1055	1960±814,4	NS
Ovociti recuperati	15,1±7,2	14,4±6,4	14,1±6,1	NS
Ovociti MII	11,5±5,8	10,9±5,3	10,2±5,6	NS

LH: Linfoma di Hodgkin; LNH: Linfoma non-Hodgkin

La presenza del cancro non influenza la risposta ovarica

	Indicazione non oncologica	Indicazione oncologica (cancro locale)	Indicazione oncologica (cancro diffuso)	<i>Statistica</i>
Età	34,6±4,2	33,6±4,8	27,1±6,4	NS
AFC	9,4±7,2	10,1±7,4	7,3±7,5	NS
Durata stimolazione	11,7±2,0	11,7±2,3	12,2±2,2	NS
Gonadotropine (UI)	1839,2±1294,7	2813,6±1785,6	3358,9±2147,3	NS
Ovociti recuperati	15,7±8,6	16,8±13,6	20,6±21,0	NS

La presenza del cancro non influenza la risposta ovarica

Tuttavia, quando il cancro è sistemico sono necessarie più gonadotropine a parità di giorni di stimolazione

	CM	LH	LNH	L	S	CC	C GAS	CO	C GIN	Altro
Età	32,3 ±4,2	25,5 ±4,9	28,4 ±5,7	27,6 ±6,1	26,2 ±5,0	28,7 ±4,5	30,3 ±4,6	25,1 ±5,4	32,9 ±4,3	28,8 ±7,0
Durata stimolazione	10,5 ±2,3	11,3 ±2,7	11,3 ±2,3	10,6 ±2,8	10,8 ±2,0	10,9 ±1,7	10,5 ±2,0	11,2 ±2,5	10,6 ±1,9	11,6 ±1,6
Gonadotropine (UI)	2550 ±1002	2551 ±952	2686 ±799	2763 ±1437	2550 ±829	2523 ±898	2539 ±615	2449 ±737	2545 ±616	2561 ±823
Ovociti recuperati	12,2 ±8,4	14,3 ±18,7	12,9 ±7,8	12,6 ±9,4	13,1 ±6,8	16,5 ±10,5	12,9 ±6,6	9,1 ±5,1	9,5 ±7,6	16,1 ±9,6

CM: Cancro Mammario; LH: Linfoma di Hodgkin; LNH: Linfoma non-Hodgkin; L: Leucemia; S: Sarcoma; CC: Cancro Cerebrale; C GAS: Cancro Gastrointestinale; CO: Cancro Ovarico; C GIN: Cancro Ginecologico

Rispetto al cancro della mammella, le altre neoplasie non sembrano influenzare la funzionalità ovarica, ad eccezione del cancro dell'ovaio

	Indicazione non oncologica	Indicazione oncologica ⁺	P value
Età	35,7±3,1	30,9±5,1	<0,001
Ovociti recuperati/paziente	13,1±9,1	15,5±9,1	NS
Ovociti MII crioconservati/paziente	11,1±8,1	12,6±7,1	NS
Ovociti recuperati/ciclo	11,4±8,0	13,8±9,0	NS
Ovociti crioconservati/ciclo	9,7±7,0	11,2±7,2	NS

* Prevalentemente cancro mammario

La presenza del cancro non influenza la risposta ovarica

	Stadio			Grado		
	Basso • stadio I-II • linfonodi negativi • senza metastasi	Alto • stadio III-IV • linfonodi positivi • metastasi	<i>P</i> value	Basso (G I-II)	Alto (G III-IV)	<i>P</i> value
Età media	29	29	0,94	27,5	29	0,89
AFC	16	14	0,11	15	17	0,90
Durata stimolazione	8	8	0,38	8	8	0,34
Gonadotropine (UI)	1600	2028	0,02	1575	2000	0,10
Ovociti recuperati	13	11	0,55	14	11	0,008
Ovociti crioconservati	10	10	0,53	12	10	0,005

La risposta ovarica può essere compromessa quando la neoplasia diventa sistemica e aggressiva

Tips - Funzionalità ovarica nella paziente oncologica

- 1) La Letteratura non supporta l'ipotesi generica per cui il cancro riduce la funzionalità ovarica, almeno per quanto riguarda il cancro della mammella e le patologie ematologiche
- 2) Quando il cancro diventa sistemico, insorge a livello ovarico ed è di elevato grado/stadio è ragionevole ritenere che possa compromettere la funzionalità ovarica, analogamente a quanto accade in altri sistemi e tessuti
- 3) I dati non sono sufficienti a fornire informazioni certe, per cui è raccomandabile grande cautela nella loro interpretazione/comunicazione

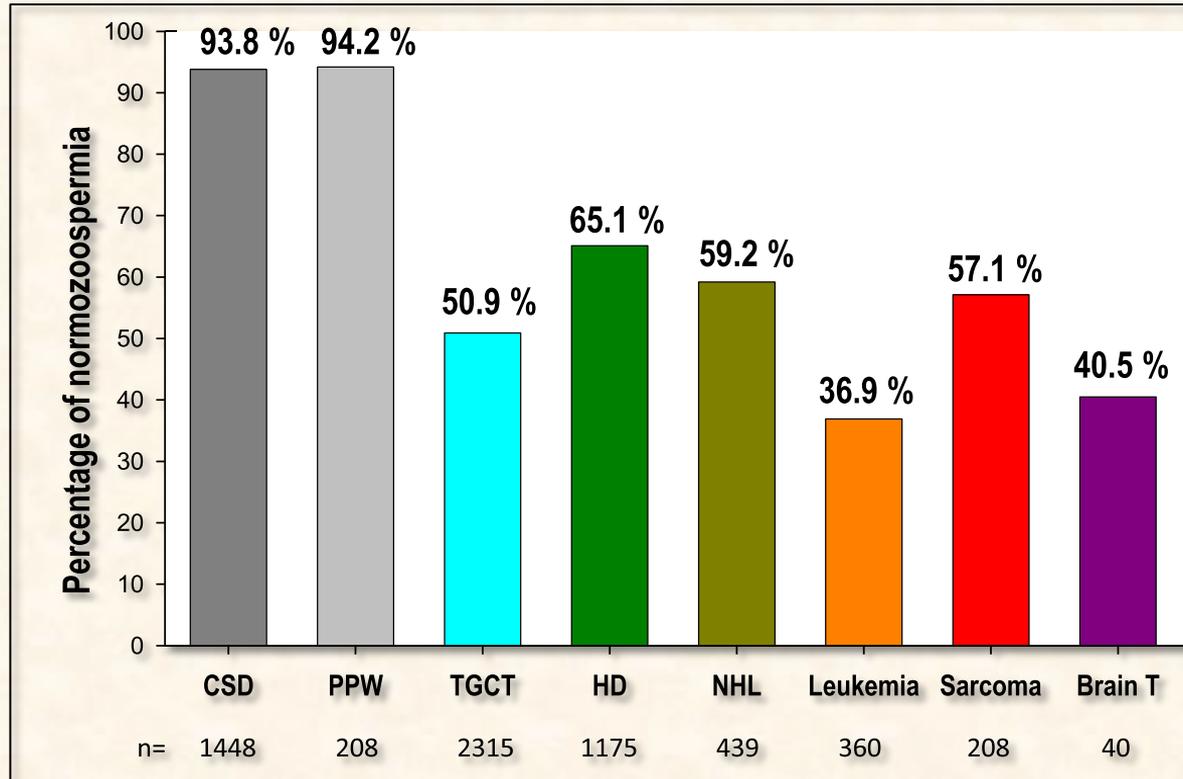
**Cancro e fertilità maschile:
cosa suggerisce la Letteratura**

Per valutare la fertilità maschile è sufficiente lo studio di

1. Concentrazione
2. Motilità rettilinea progressiva
3. Morfologia

degli spermatozoi

Come per le pazienti di sesso femminile, è ragionevole ritenere che la presenza del cancro possa inficiare la gametogenesi



Esistono tuttavia alcune forme neoplastiche più frequentemente correlate ad un peggioramento dei parametri seminali

Tra queste:

- ✓ Neoplasie testicolari
- ✓ Seminomi

associate soprattutto ad alterazioni del numero degli spermatozoi

Alterazioni del seme legate a cancro testicolare e seminoma	Incidenza	Autori
Riduzione della concentrazione	-	<i>Depalo et al., 2016; Kobayashi et al., 2017; Ukita et al., 2018; Hamano et al., 2018; Song et al., 2019; Dias et al., 2019</i>
Oligozoospermia	15%	<i>Rives et al., 2012</i>
	12,7%	<i>Mackenna et al., 2017</i>
Azoospermia	3,9%	<i>Caponeccia et al., 2016</i>
	5%	<i>Auger et al., 2016</i>
	3,0%	<i>Muller et al., 2016</i>
	4,1%	<i>Mackenna et al., 2017</i>
	6,6%	<i>Rives et al., 2012</i>
	3,7%	<i>Shankara-Narayama et al., 2019</i>

Con minore frequenza rispetto alle neoplasie testicolari, i parametri seminali possono essere alterati anche da alcune neoplasie ematologiche

- ✓ Linfoma di Hodgkin
- ✓ Linfoma non-Hodgkin
 - ✓ Leucemia

In questi casi, i dati della Letteratura sono meno chiari rispetto a quelli sul cancro testicolare

Alterazioni del seme legate a neoplasie ematologiche	Incidenza	Autori
Riduzione di motilità e morfologia in presenza di Leucemia	-	<i>Hotaling et al., 2013; Ku et al., 2015; Nicolini et al., 2016; Auger et al., 2016; Song et al., 2019</i>
Oligozoospermia	57% L	<i>Chung et al., 2004</i>
Azoospermia	3,6% LH	<i>Gandini et al., 2003</i>
	3,0% LH	<i>Van der Kaaij et al., 2009</i>
	3,9% LH	<i>Caponecchia et al., 2016</i>
	2,9% LH	<i>Paoli et al., 2016</i>
	<ul style="list-style-type: none"> • 3,7% LH • 5,2% LNH • 13,2% L 	<i>Auger et al., 2016</i>
	<ul style="list-style-type: none"> • 3,6% LH • 1,6% LNH 	<i>Shankara-Narayama et al., 2019</i>
Nessuna alterazione	-	<i>Rofeim and Gilbert, 2004</i>

LH: Linfoma di Hodgkin; LNH: Linfoma non-Hodgkin; L: Leucemia

Impatto delle neoplasie testicolari ed ematologiche sulla spermatogenesi

- ✓ **Effetti diretti:** Compressione/distruzione dei tessuti
- ✓ **Azione sistemica:** Alterazione dello stato di salute generale, tipico di alcune neoplasie ematologiche
- ✓ **Meccanismi autoimmunitari:** Distruzione della barriera emato-testicolare
- ✓ **Ipertermia e infiltrazioni testicolari:** Caratteristiche dei linfomi, leucemie acute e croniche
- ✓ **Meccanismi indiretti endocrini:** Squilibrio dell'asse ipotalamo-ipofisi-testicolo con interferenze nella produzione di testosterone, produzione di specifici ormoni (β -hCG e α -fetoproteina) da parte del tessuto neoplastico
- ✓ **Meccanismo immunologico:** Linfociti T *Helper* e Linfociti T *Suppressor* sono implicati nel mantenimento dell'equilibrio della spermatogenesi, pertanto una alterazione sistemica di queste cellule potrebbe determinare dispermie

Tips - Funzionalità testicolare nel paziente oncologico

- 1) Le neoplasie testicolari e i Seminomi possono compromettere la spermatogenesi, con effetti soprattutto sul numero degli spermatozoi
- 2) Linfomi o Leucemie possono compromettere la spermatogenesi, con effetti soprattutto sulla motilità e la morfologia degli spermatozoi
- 3) I pazienti in età riproduttiva affetti dalle suddette neoplasie dovrebbero preservare la fertilità indipendentemente dal tipo di terapia

Evidenze sulla preservazione della fertilità

- ✧ Non è indispensabile
- ✧ Non influenza la prognosi oncologica
- ✧ Tecniche validate: crioconservazione ai vapori di azoto degli spermatozoi eiaculati e vitrificazione degli ovociti maturi

Facciamo il punto su...

Efficacia della preservazione della fertilità

Mutazioni BRCA e fertilità

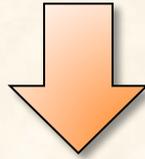
Gametogenesi *in vitro*

Efficacia della preservazione della fertilità

Mutazioni BRCA e fertilità

Gametogenesi *in vitro*

Efficacia della preservazione della fertilità



Probabilità di ottenere una gravidanza o un nato vivo con i gameti crioconservati prima delle terapie

Efficacia della preservazione della fertilità maschile

Studies	Median/mean age at storage (years)	Duration of follow-up (years)		Patients who used their banked semen	Patients who achieved parenthood using banked semen	Patients who discarded their banked semen	Patients who died	Additional reported outcomes
		Maximum	Median/mean					
Fitoussi et al., 2000	27.5	22	9	13/89 (15)	2/13 (15)	-	14 (16)	A, Az, D, F, N
Kelleher et al., 2001	28.0	22	-	68/833 (8)	-	193 (23)	141 (17)	A, Az, D, F, N
Lass et al., 2001	-	11	-	11/306 (4)	8/11 (73)	-	-	F, N
Ragni et al., 2003	28.0	13	4	36/686 (5)	10/28 (36)	124 (18)	-	A, Az, D, F, N
Blackhall et al., 2002	24.0	12	10	33/115 (29)	9/33 (27)	10 (9)	15 (13)	A, Az, D, F, N
Chung et al., 2004	29.5	10	-	6/164 (4)	2/6 (33)	17 (10)	9 (5)	A, D, T, F, N
Agarwal et al., 2004	30.0	20	-	29/318 (9)	11/29 (38)	-	-	A, F
Magelssen et al., 2005	-	20	6	29/422 (7)	14/29 (48)	-	-	Az, D, F
Girasole et al., 2007	26.2	12	-	2/31 (6)	-	-	-	A, D
Chang et al., 2006	25.7	10	-	3/75 (4)	0/3 (0)	-	13 (17)	A, D, F
Meseguer et al., 2006	27.1	14	-	30/184 (16)	-	16 (9)	2 (1)	A, Az, D, F
Knoester et al., 2007	50.1	4	-	1/8 (13)	-	-	-	A, D, F
Neal et al., 2007	-	10	-	21/146 (14)	-	12 (8)	10 (7)	D, F
Ishikawa et al., 2007	30.1	3	-	4/118 (3)	2/4 (50)	-	5 (4)	A, Az, D, F
van Casteren et al., 2008	27.0	24	7	42/557 (8)	18/37 (49)	29 (5)	91 (16)	A, D, T, F
Crha et al., 2009	26.2	11	-	28/559 (5)	-	-	74 (13)	A, Az, D, F
Menon et al., 2009	17.8	22	-	2/128 (2)	-	33 (26)	27 (21)	A, Az, D, T
Freour et al., 2012	28.6	10	-	82/987 (8)	-	-	74 (7)	A, Az, D, F
Bizet et al., 2012	29.3	15	7	57/931 (6)	22/47 (47)	97 (10)	73 (8)	A, Az, D, T, F
Babb et al., 2012	33.0	28	11	25/42 (60)	18/25 (72)	-	-	A, Az, D, F
Chung et al., 2013	27.0	17	-	4/110 (4)	3/4 (75)	26 (24)	15 (14)	A, Az, D, F
Botchan et al., 2013	31.0	20	-	70/682 (10)	27/68 (40)	-	-	A, D, F
Johnson et al., 2013	29.8	20	-	36/378 (10)	-	129 (34)	32 (8)	A, Az, D
Greaves et al., 2014	-	17	-	26/91 (29)	12/26 (46)	-	-	D
García et al., 2015	36.7	4	-	29/272 (11)	18/29 (62)	-	-	A, D, F
Ping et al., 2014	36.3	15	10	8/21 (38)	-	-	-	A, D, F, N
Molnár et al., 2014	27.0	11	5	7/59 (12)	4/7 (57)	5 (8)	-	A, D, F, N
van der Kaaij et al., 2014	31.0	36	13	78/363 (21)	48/78 (62)	-	-	A, D, F
Dearing et al., 2014	-	23	-	183/3062 (6)	-	-	-	D, F
Sonnenburg et al., 2015	28.4	-	-	11/61 (18)	9/11 (82)	-	-	A, D, F
Total		15 [11-20] ^a	10 [6-11]	974/11798 (8)	237/488 (49)	691/4291 (16)	595/5374 (11)	
95% Confidence interval				8-9	44-53	15-17	10-12	

Data are reported as number (percentage); dashes correspond to missing data in the original paper.

A, age; Az, rate of azoospermia; D, diagnosis; T, transfer between centres; F, follow-up of reproductive techniques; N, newborn congenital anomalies.

^aMedian [interquartile range].

Studies	Median/mean age at storage (years)	Duration of follow-up (years)		Patients who used their banked semen	Patients who achieved parenthood using banked semen	Patients who discarded their banked semen	Patients who died	Additional reported outcomes
		Maximum	Median/mean					
Fitoussi et al., 2000	27.5	22	9	13/89 (15)	2/13 (15)	-	14 (16)	A, Az, D, F, N
Kelleher et al., 2001	28.0	22	-	68/833 (8)	-	193 (23)	141 (17)	A, Az, D, F, N
Lass et al., 2001	-	11	-	11/306 (4)	8/11 (73)	-	-	F, N
Ragni et al., 2003	28.0	13	4	36/686 (5)	10/28 (36)	124 (18)	-	A, Az, D, F, N
Blackhall et al., 2002	24.0	12	10	33/115 (29)	9/33 (27)	10 (9)	15 (13)	A, Az, D, F, N
Chung et al., 2004	29.5	10	-	6/164 (4)	2/6 (33)	17 (10)	9 (5)	A, D, T, F, N
Agarwal et al., 2004	30.0	20	-	29/318 (9)	11/29 (38)	-	-	A, F
Magelssen et al., 2005	-	20	6	29/422 (7)	14/29 (48)	-	-	Az, D, F
Girasole et al., 2007	26.2	12	-	2/31 (6)	-	-	-	A, D
Chang et al., 2006	25.7	10	-	3/75 (4)	0/3 (0)	-	13 (17)	A, D, F
Meseguer et al., 2006	27.1	14	-	30/184 (16)	-	16 (9)	2 (1)	A, Az, D, F
Knoester et al., 2007	50.1	4	-	1/8 (13)	-	-	-	A, D, F
Neal et al., 2007	-	10	-	21/146 (14)	-	12 (8)	10 (7)	D, F
Ishikawa et al., 2007	30.1	3	-	4/118 (3)	2/4 (50)	-	5 (4)	A, Az, D, F
van Casteren et al., 2008	27.0	24	7	42/557 (8)	18/37 (49)	29 (5)	91 (16)	A, D, T, F
Crha et al., 2009	26.2	11	-	28/559 (5)	-	-	74 (13)	A, Az, D, F
Menon et al., 2009	17.8	22	-	2/128 (2)	-	33 (26)	27 (21)	A, Az, D, T
Freour et al., 2012	28.6	10	-	82/987 (8)	-	-	74 (7)	A, Az, D, F
Bizet et al., 2012	29.3	15	7	57/931 (6)	22/47 (47)	97 (10)	73 (8)	A, Az, D, T, F
Babb et al., 2012	33.0	28	11	25/42 (60)	18/25 (72)	-	-	A, Az, D, F
Chung et al., 2013	27.0	17	-	4/110 (4)	3/4 (75)	26 (24)	15 (14)	A, Az, D, F
Botchan et al., 2013	31.0	20	-	70/682 (10)	27/68 (40)	-	-	A, D, F
Johnson et al., 2013	29.8	20	-	36/378 (10)	-	129 (34)	32 (8)	A, Az, D
Greaves et al., 2014	-	17	-	26/91 (29)	12/26 (46)	-	-	D
García et al., 2015	36.7	4	-	29/272 (11)	18/29 (62)	-	-	A, D, F
Ping et al., 2014	36.3	15	10	8/21 (38)	-	-	-	A, D, F, N
Molnár et al., 2014	27.0	11	5	7/59 (12)	4/7 (57)	5 (8)	-	A, D, F, N
van der Kaaij et al., 2014	31.0	36	13	78/363 (21)	48/78 (62)	-	-	A, D, F

Total 15 [11-20]^a 10 [6-11] 974/11798 (8) 237/488 (49) 691/4291 (16) 595/5374 (11)

95% Confidence interval

8-9

44-53

15-17

10-12

Data are reported as number (percentage); dashes correspond to missing data in the original paper.

A, age; Az, rate of azoospermia; D, diagnosis; T, transfer between centres; F, follow-up of reproductive techniques; N, newborn congenital anomalies.

^aMedian [interquartile range].

<i>Studies</i>	<i>IUI cycles</i>			<i>IVF cycles</i>		
	<i>Number of cycles</i>	<i>Clinical pregnancies (%)</i>	<i>Live birth-Ongoing (%)</i>	<i>Number of cycles</i>	<i>Clinical pregnancies (%)</i>	<i>Live birth-Ongoing (%)</i>
Fitoussi et al., 2000	80	–	2 (3)	8	–	0 (0)
Kelleher et al., 2001	35	11 (31)	–	56	18 (32)	–
Lass et al., 2001	12	3 (25)	3 (25)	20	6 (30)	5 (25)
Ragni et al., 2003	40	3 (8)	–	48	11 (23)	–
Chung et al., 2004	10	0 (0)	0 (0)	10	2 (20)	2 (20)
Agarwal et al., 2004	42	3 (7)	3 (7)	45	13 (29)	9 (20)
Chang et al., 2006	2	0 (0)	–	3	0 (0)	–
Meseguer et al., 2006	5	1 (20)	–	30	15 (50)	–
Ishikawa et al., 2007	1	0 (0)	0 (0)	6	3 (50)	3 (50)
van Casteren et al., 2008	7	1 (14)	–	85	26 (31)	–
Freour et al., 2012	66	8 (12)	8 (12)	112	26 (23)	–
Bizet et al., 2012	39	5 (13)	4 (10)	78	25 (32)	18 (23)
Botchan et al., 2013	81	9 (11)	8 (10)	103	32 (31)	25 (24)
García et al., 2015	–	–	–	50	20 (40)	18 (36)
Total	420	44/340 (13)	28/331 (8)	654	197/646 (30)	80/320 (25)
95% Confidence interval		10–17	6–12		27–34	20–30

Dashes correspond to missing data in the original paper.

IUI, intrauterine insemination.

<i>Studies</i>	<i>IUI cycles</i>			<i>IVF cycles</i>		
	<i>Number of cycles</i>	<i>Clinical pregnancies (%)</i>	<i>Live birth-Ongoing (%)</i>	<i>Number of cycles</i>	<i>Clinical pregnancies (%)</i>	<i>Live birth-Ongoing (%)</i>
Fitoussi et al., 2000	80	–	2 (3)	8	–	0 (0)
Kelleher et al., 2001	35	11 (31)	–	56	18 (32)	–
Lass et al., 2001	12	3 (25)	3 (25)	20	6 (30)	5 (25)
Ragni et al., 2003	40	3 (8)	–	48	11 (23)	–
Chung et al., 2004	10	0 (0)	0 (0)	10	2 (20)	2 (20)
Agarwal et al., 2004	42	3 (7)	3 (7)	45	13 (29)	9 (20)
Chang et al., 2006	2	0 (0)	–	3	0 (0)	–
Meseguer et al., 2006	5	1 (20)	–	30	15 (50)	–
Ishikawa et al., 2007	1	0 (0)	0 (0)	6	3 (50)	3 (50)
van Casteren et al., 2008	7	1 (14)	–	85	26 (31)	–
Freour et al., 2012	66	8 (12)	8 (12)	112	26 (23)	–
Bizet et al., 2012	39	5 (13)	4 (10)	78	25 (32)	18 (23)
Botchan et al., 2013	81	9 (11)	8 (10)	103	32 (31)	25 (24)
Total	420	44/430 (13)	28/331 (8)	654	197/646 (30)	80/320 (25)
95% Confidence interval		10–17	6–12		27–34	20–30

Dashes correspond to missing data in the original paper.
IUI, intrauterine insemination.

Efficacia della preservazione della fertilità femminile



100%
GUARANTEE
PACKAGES

*UNLIMITED CYCLES
INCLUDED*

**WE GUARANTEE
YOU A BABY!**

The advertisement features a close-up of a baby's face with a surprised expression, wearing a white hat with blue patterns. The background is a solid blue color.

Oocyte vitrification in the 21° century and post-warming fertility outcomes: a systematic review and meta-analysis



- >88% di sopravvivenza allo scongelamento
- 74% di fertilizzazione

Utilizzando questi indicatori, la vitrificazione pare molto efficace

L'obiettivo della preservazione della fertilità non è ottenere degli embrioni *in vitro*, bensì...



... offrire le maggiori possibilità di ottenere un bambino sano

L'indicatore di efficacia/efficienza della crioconservazione ovocitaria è il tasso di nato vivo, che dipende da:

- 1) Età della paziente
- 2) Numero degli ovociti MII vitrificati

La crioconservazione ovocitaria ha una bassa efficienza
Servono tanti ovociti per avere un bambino nato vivo

≤35		>35	
Numero di ovociti	LBR (%)	Numero di ovociti	LBR (%)
9.2±4.1	23,8	9.2±4.1	12,0
<i>Cobo et al., 2016</i>			

≤35		>35	
Numero di ovociti	CLBR (%)	Numero di ovociti	CLBR (%)
5	9,1	4	11,1
8	35,8	9	29,3
10	42,9	10	43,4
12	61,9		
<i>Cobo et al., 2018</i>			

≤35	
Numero di ovociti	LBR (%)
10	40,8
<i>de Moraes et al., 2019</i>	

E' difficile stabilire una soglia di ovociti sotto la quale , soprattutto per la pazienti oncologiche sulle quali esistono pochi dati

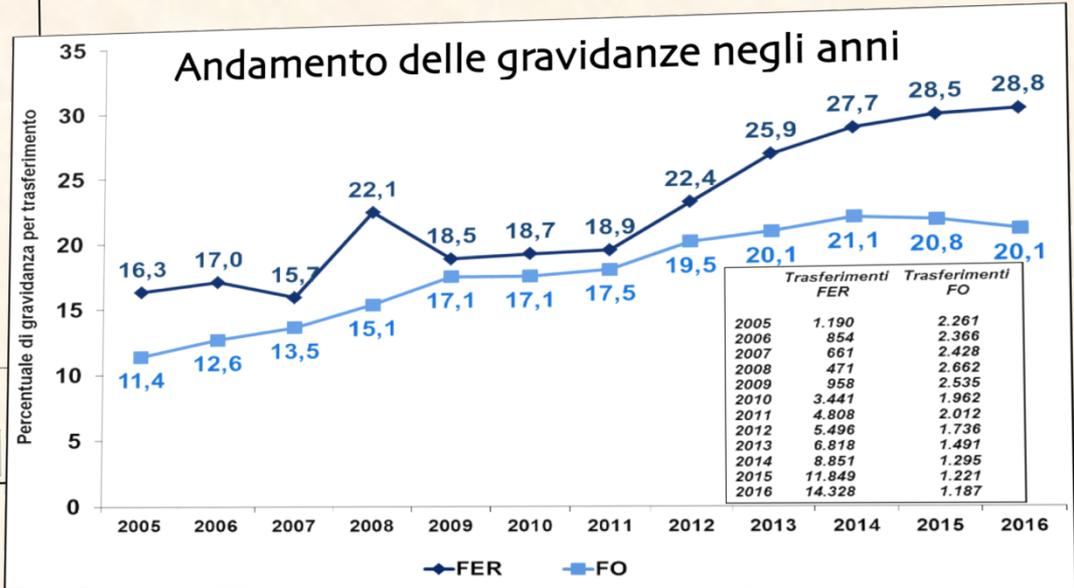
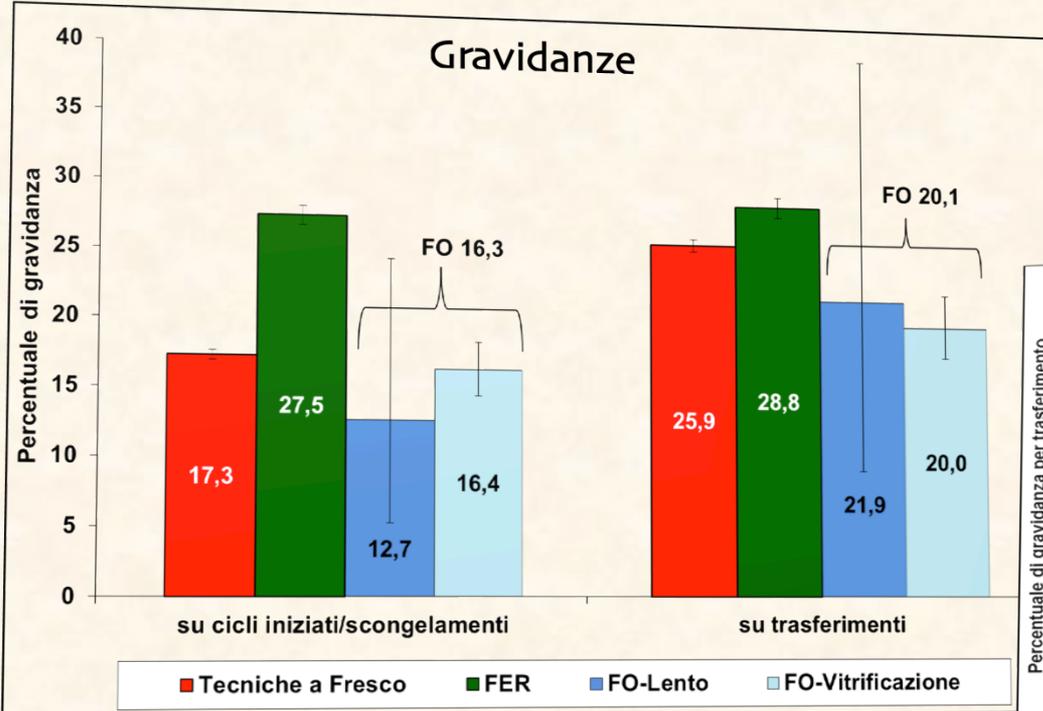
E' ragionevole affermare che l'obiettivo è crioconservare tra gli 8 e i 15 ovociti MII (anche con più stimolazioni)

Oocyte cryopreservation in oncological patients: Eighteen Years
Experience of a Tertiary Care Referral Center

Specchia et al., Front Endocrinol (Lausanne), Sep 2019

"... the mean number of mature oocytes stored was $9,5 \pm 6,1$ "

Gravidanze da ovociti crioconservati in pazienti non oncologiche nel 2016



177 nati vivi

12,1% su ciclo di scongelamento

14,9% su transfer

I risultati clinici degli ovociti vitrificati sono davvero uguali a quelli ottenuti con ovociti «freschi»?



VS



Non siamo di fronte alla... “tecnica perfetta”

Perplessità sulla vitrificazione:

- Alte concentrazioni di crioprotettore
- Dispositivi/protocolli più efficaci
- Pochi bambini nati nel campo della preservazione della fertilità
- Non c'è il *follow-up* a lungo termine dei bambini nati



La vitrificazione non è una assicurazione sulla maternità

Limitato tasso di scongelamento degli ovociti in pazienti oncologiche

AUTORI	PAZIENTI SOTTOPOSTE A SCONGELAMENTO (%)	INDICAZIONE AL BANKING OVOCITARIO
Hodes-Wertz, 2013	6%	Non oncologica
Garcia-Velasco, 2013	1,2%	Oncologica
Martinez, 2014	2,9%	Oncologica
Alvarez and Ramanathan, 2018	2%	Oncologica
Balkenende, 2018	7%	Oncologica e non oncologica
Cobo, 2018	7,5%	Oncologica
Cobo, 2018	12,2%	Non oncologica
Diaz-Garcia, 2018	4,8%	Oncologica
Specchia, 2019	4,5%	Oncologica

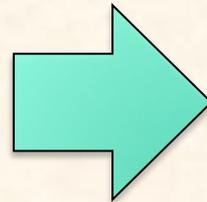
Autori	Patologia	Età	Tecnica	Ovociti crioconservati	Epoca gestazionale	Nati vivi	Peso	Anomalie congenite
Yang, 2007	Linfoma H	27	Slow-Freeze	13	37	1	3062	No
Porcu, 2008	K ovarico	26	Slow-Freeze	7	38	2	2100 2400	No No
Sanchez-Serrano, 2010	K mammella	36	Vitrificazione	16	34	2	1650, 1830	No
Kim, 2011	Leucemia mieloide cronica	22	Vtrificazione	7	35	1	2410	No
Garcia-velasco, 2013	Linfoma NH	31	Vitrificazione	4	39	1	3440	No
Alvarez, 2014	K ovarico	28	Vitrificazione	14	38	1	2650	No
Martinez, 2014	- Linfoma NH	- 33	Vitrificazione	4	40	1	3440	No
	- K mammella	- 30		5	40	1	2850	No
	- K mammella	- 33		3	40	1	3220	No
	- K mammella	- 37		8	38	1	2920	No
Alvez Da Motta, 2014	- K mammella	36	Vitrificazione	28	Termine	1	2970	No
Doyle, 2016	NR	NR	Vitrificazione	N.R.	N.R.	1	N.R.	No
Druckenmiller, 2016	K ginecologico	28	Vitrificazione	N.R.	33	2	2087 1452	No No
	K mammella	33	Slow-Freeze	N.R.	40.8	1	2858	No
	K mammelle	40	Slow-Freeze	N.R.	38.6	1	3357	No
	K mammella	39	Slow-Freeze	N.R.	39	1	3311	No
Perrin, 2016	Linfoma H	29	Vitrificazione	5	37.5	1	3180	No
Specchia, 2019	K mammella	35	Vitrificazione	6,5±3,5	41	2	3720	No
	K mammella	36					2660	No

Fertility preservation: should we reconsider the terminology?

Non è possibile definire con certezza l'efficacia della preservazione della fertilità femminile

Il termine preservazione della fertilità potrebbe risultare ambiguo ed alimentare false speranze

~~Preservazione
della fertilità~~



Crioconservazione
gametica

Efficacia della preservazione della fertilità

Mutazioni BRCA e fertilità

Gametogenesi *in vitro*

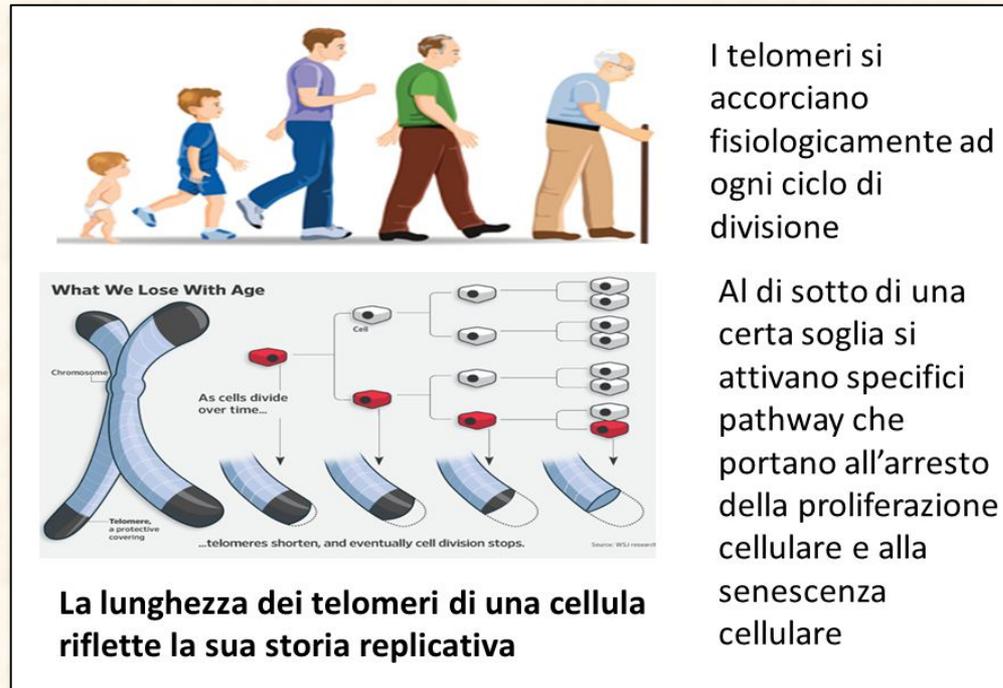
Breast Related Cancer Antigens

Geni ad attività oncosoppressiva

Le loro funzioni sono:

- ✓ Riparo dei danni alla doppia elica del DNA
- ✓ Prevenzione dell'accorciamento dei telomeri

I telomeri costituiscono la parte terminale dei cromosomi e li proteggono dalla fusione e degradazione



The complex block contains three main visual elements. At the top, a horizontal sequence of five human figures illustrates the progression of age from a young child to an elderly man with a cane. Below this, a diagram titled 'What We Lose With Age' shows a chromosome with a telomere (black tip) and a cell. As the cell divides, the telomere shortens, and the diagram shows a lineage of cells where the telomere eventually disappears, leading to cell division arrest. Text labels include 'Chromosome', 'Telomere, a protective covering', 'As cells divide over time...', and '...telomeres shorten, and eventually cell division stops.' At the bottom left of the diagram area, a bold text states: 'La lunghezza dei telomeri di una cellula riflette la sua storia replicativa'. To the right of the diagram, two paragraphs of text explain the biological process.

I telomeri si accorciano fisiologicamente ad ogni ciclo di divisione

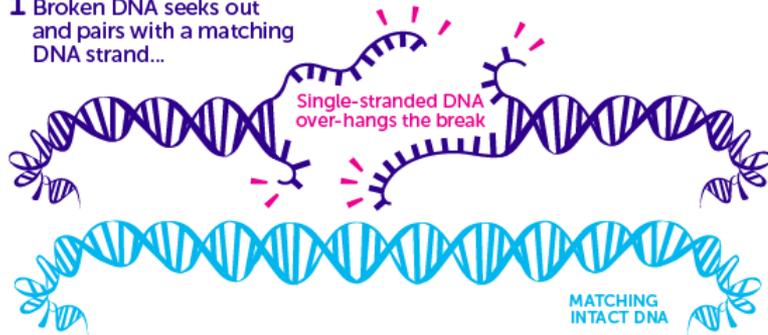
Al di sotto di una certa soglia si attivano specifici pathway che portano all'arresto della proliferazione cellulare e alla senescenza cellulare

La lunghezza dei telomeri di una cellula riflette la sua storia replicativa

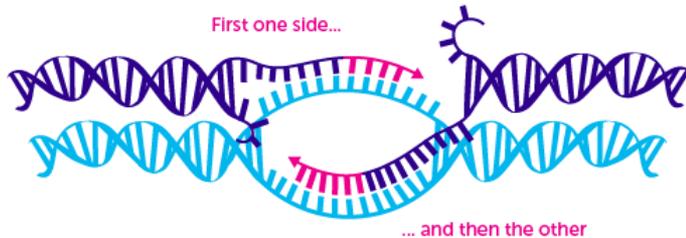
La lunghezza dei telomeri è associata all'età del soggetto e al suo potenziale riproduttivo

HOMOLOGOUS RECOMBINATION HOW IT WORKS

- 1 Broken DNA seeks out and pairs with a matching DNA strand...



- 2 The matching DNA is used as a template to fill in the gap...



- 3 The damage is fixed



Le mutazioni BRCA interferiscono con la ricombinazione omologa durante i meccanismi di riparo del DNA

Le catene di DNA interrotte sono unite con DNA non omologo e questo porta all'introduzione di mutazioni (soprattutto delezioni)

8%: tumori alla mammella di origine ereditaria

>80%: tumori ereditari dovuti a mutazioni BRCA1/2

MUTAZIONI BRCA E CARCINOGENESI ENTRO GLI 80 ANNI		
	TUMORE MAMMARIO	TUMORE OVARICO
MUTAZIONE BRCA 1	72%	69%
MUTAZIONE BRCA 2	44%	17%
INSORGENZA	< 40 anni	40-45 anni

Mutazioni BRCA e fertilità: effetto diretto

- ✓ Espressione BRCA 1/2 nelle blastocisti
- ✓ AMH ridotto nelle pazienti BRCA 1 mutate
- ✓ Riserva ovarica ridotta nelle portatrici della mutazione BRCA 1
- ✓ Recupero ovocitario ridotto in pazienti BRCA 1 mutate

- ✓ Le pazienti BRCA mutate hanno più figli in più rispetto ai controlli
- ✓ Le famiglie in cui almeno un partner è portatore della mutazione sono più feconde

Dati contrastanti

Mutazioni BRCA e fertilità: effetto indiretto

Tumore mammario
BRCA 1/2 positivo



Terapie
gonadotossiche



Fertilità
compromessa

Presenza della
mutazione BRCA 1/2



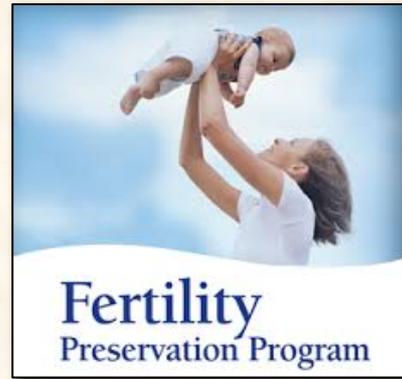
Salpingooforectomia
bilaterale profilattica <40 anni*



Sterilità

** ESMO clinical practice
guidelines for cancer prevention
and screening, 2016*

Se è vero che la mutazione BRCA può compromettere la fertilità, le pazienti portatrici dovrebbero essere candidate a preservazione della fertilità



Fertility preservation in women harboring deleterious BRCA mutations:
ready for prime time?

Peccatori et al., Hum Reprod 2018

La vitrificazione degli ovociti delle pazienti portatrici della mutazione BRCA andrebbe eseguita in età giovane (ad esempio < 30 anni)

Il tasso di cancro mammario prima dei 30 anni è basso, ma questa è la fascia di età ottimale per avere quantità e qualità degli ovociti

L'impiego di FSH/letrozolo e *triggering* con agonista del GnRH non aumenta il rischio di recidiva in pazienti con cancro mammario BRCA +, quindi può essere considerato sicuro anche per le portatrici della mutazione

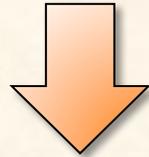
Prevenzione della trasmissione della mutazione BRCA

La diagnosi genetica pre-impianto (PGT) consente di individuare gli embrioni portatori delle mutazioni BRCA 1 e BRCA 2

Quindi oggi è tecnicamente possibile ridurre in maniera significativa il rischio di trasmissione della mutazione al prodotto del concepimento

Le Società Scientifiche non sono contrarie alla diagnosi preimpianto
nelle pazienti portatrici della mutazione BRCA

Tuttavia, è giusto ricordare che le mutazioni BRCA non sono a
penetranza completa, inoltre esistono oggi terapie efficaci per il
cancro della mammella



E' etico l'impiego della PGT nelle portatrici della mutazione BRCA?

Nella valutazione etica bisogna tenere conto di:

1. Trattamenti per il cancro ovarico, ad oggi inefficaci
2. Ansia e stress cui un soggetto portatore è sottoposto a vita
3. La possibilità di trasferire solo embrioni di sesso maschile
4. Il concetto di “libertà riproduttiva”

Efficacia della preservazione della fertilità

Mutazioni BRCA e fertilità

Gametogenesi *in vitro*

Esistono categorie di pazienti per i quali, oggi, non esistono tecniche di preservazione della fertilità efficaci

Pazienti post puberi azoospermici

Pazienti pre puberi

Nei pazienti post puberi azoospermici si sono crioconservati spermatozoi prelevati tramite Onco-TESE, Onco-Micro-TESE od Onco-TESA

AUTORE	N° PAZIENTI	ETA'	PATOLOGIA	TEMPO TRA ONCO-TESE E PMA	GRAVIDANZA	NATI VIVI	GW
Descombe 2008	1 monorchide	28	Seminoma destro	1 anno	Gemellare	2	38
Furuhashi 2013	6	30	NSGCT	-	2 gravidanze	-	-
		31	SGCT	-		-	-
		34	NM	-		-	-
		28	NSGCT*	-		-	-
		30	NSGCT*	-		-	-
		47	SGCT*	-		-	-
Roque 2014	1	31	K testicolare bilaterale sincrono	3 mesi	Singola	1	39

SGCT: Seminomatous Germ Cell Tumor; NSGCT: Non Seminomatous Germ Cell Tumor; NM: Not Malignant

* K nel testicolo controlaterale dopo orchietomia

Per i pazienti pre puberi la situazione è ancora più critica a causa della giovane età dei soggetti

L'obiettivo principale in un bambino ammalato di cancro è la guarigione

Tuttavia, il problema della futura genitorialità sta emergendo

- ✓ 15 780 bambini ammalati di cancro all'anno in USA
- ✓ Tasso di incidenza del cancro pediatrico dello 0,6%
- ✓ Tasso di sopravvivenza a 5 anni superiore all'80%

Gametogenesi *in vitro*:

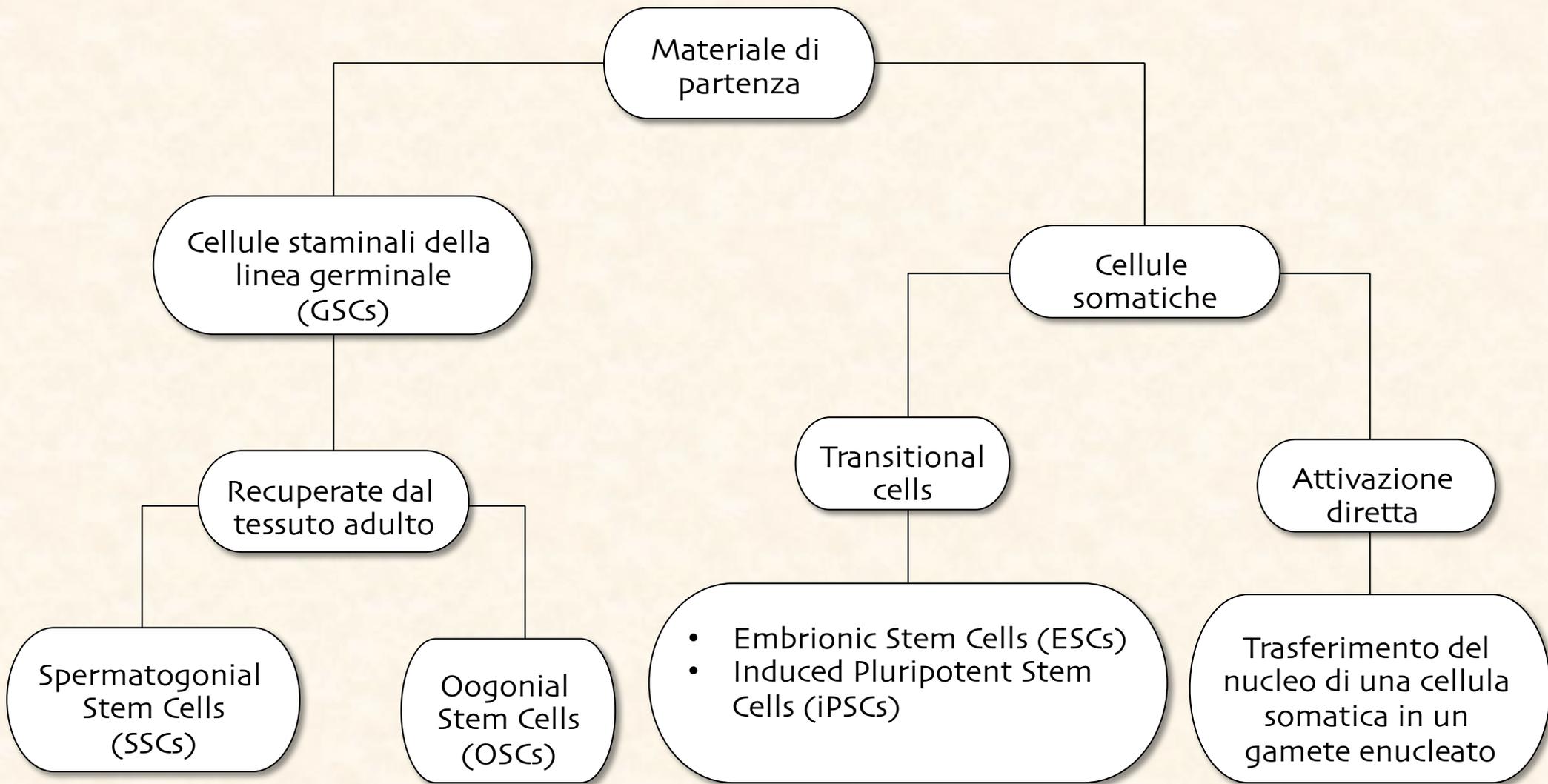
Sintesi di ovociti e spermatozoi in laboratorio

Gametogenesi <i>in vitro</i> : potenziale		
	spermatozoi	Ovociti
Uomo	X	
Donna		X

Gametogenesi *in vitro*:

Sintesi di ovociti e spermatozoi in laboratorio

Gametogenesi <i>in vitro</i> : potenziale		
	spermatozoi	Ovociti
Uomo	X	X
Donna	X	X



La sintesi di gameti e la loro competenza sono degli "*pseudo-proof*"

L'unica prova della efficacia della gametogenesi *in vitro* è la nascita di
un nuovo individuo sano

Ad oggi questo risultato è stato ottenuto nel modello animale, ma
non nella specie umana

Spermatogenesi *in vitro*

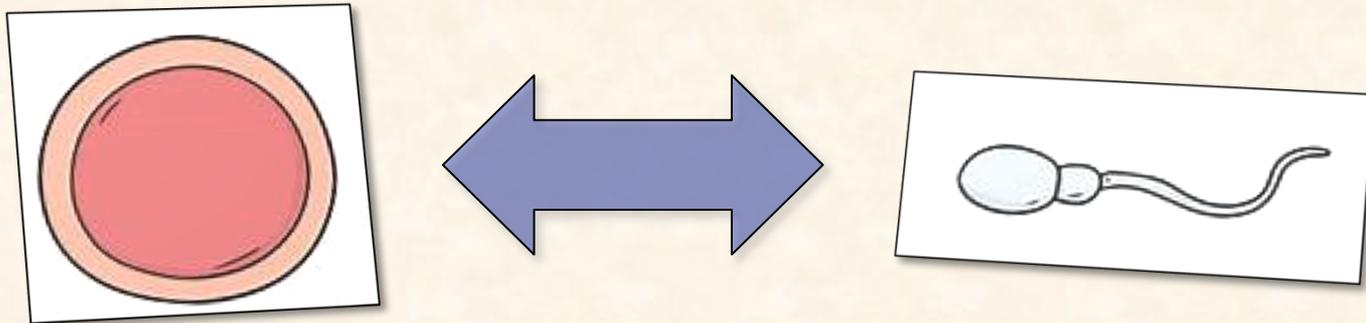
	Modello animale			Modello umano		
	Gameti	competenza	Nati vivi	Gameti	competenza	Nati vivi
Differenziazione <i>in vitro</i> da GSCs	X		X			
Proliferazione <i>in vitro</i> da GSCs e autotrapianto	X	X	X			
Differenziazione <i>in vitro</i> da ESCs		X	X	X		
Differenziazione <i>in vitro</i> da ESCs e autotrapianto	X		X			
Differenziazione <i>in vitro</i> da iPSCs	X			X		
Differenziazione <i>in vitro</i> da iPSCs e autotrapianto	X		X			
Trasformazione <i>in vitro</i> di cellule somatiche senza transitional cells						
Trasformazione <i>in vivo</i> di cellule somatiche senza transitional cells			X			

Oogenesi *in vitro*

	Modello animale			Modello umano		
	Gameti	competenza	Nati vivi	Gameti	competenza	Nati vivi
Differenziazione <i>in vitro</i> da GSCs	X			X		
Proliferazione <i>in vitro</i> da GSCs e autotrapianto		X	X	X		
Differenziazione <i>in vitro</i> da ESCs	X		X	X		
Differenziazione <i>in vitro</i> da ESCs e autotrapianto						
Differenziazione <i>in vitro</i> da iPSCs			X			
Differenziazione <i>in vitro</i> da iPSCs e autotrapianto						
Trasformazione <i>in vitro</i> di cellule somatiche senza transitional cells	X			X		
Trasformazione <i>in vivo</i> di cellule somatiche senza transitional cells	X					
Aploidizzazione tramite trasferimento nucleare da cellula somatica a ovocita enucleato	X	X		X	X	

Ad oggi sono stati condotti pochi studi rispetto alla formazione di gameti maschili da cellule femminili e viceversa

È stato documentato l'ottenimento di spermatozoi da cellule femminili, ma non la loro competenza



Nell'approccio alla gametogenesi *in vitro* è necessaria grande
consapevolezza

L'introduzione di queste tecniche nella pratica clinica cambierà radicalmente la Medicina della Riproduzione, e nuove categorie di pazienti potranno aspirare ad avere un figlio geneticamente proprio:

- ✓ Coppie eterosessuali senza funzionalità gonadica
- ✓ Donne in post-menopausa
- ✓ Coppie omosessuali

Crioconservazione del tessuto ovarico

- ✓ Funzione endocrina (63,9%)
- ✓ Gravidanza clinica (57,7%)
- ✓ Live Birth Rate (18-30%)
- ✓ Concepimento spontaneo (60%)
- ✓ Più di 130 bambini nati

Martinez, 2017; Pacheko and Oktay, 2017; Donnez and Dolmans, 2017; Diaz-Garcia et al., 2018

Efficacia in età pre-puberale

???

Sicurezza incerta in caso di:

- ✓ Linfoma di Burkitt
- ✓ Leucemia
- ✓ Neuroblastoma

Amorim and Shikanov, 2016;
Anderson and Baird, 2019

Ad oggi, secondo alcuni Autori la tecnica andrebbe validata

- ✓ *Martinez, Society for Fertility Preservation-ESHRE-ASRM 2017*
- ✓ *Pacheko and Oktay, 2017*
- ✓ *Donnez and Dolmans, 2017*
- ✓ *Ethics Committee of ASRM, 2018*
- ✓ *Diaz-Garcia et al., 2018*
- ✓ *Dolmans and Manavella, 2018*
- ✓ *Anderson and Baird, 2019*

Ovarian tissue cryopreservation and transplantation:
what advances are necessary for this fertility preservation modality
to no longer be considered experimental?

Gornet et al., Fertil Steril. 2019

La crioconservazione del tessuto ovarico resterà sperimentale almeno
fino alla pubblicazione di:

1. Dati certi sulla sicurezza
2. Dati certi sulla efficacia in età pre-puberale
3. Registri ufficiali dei trapianti

Tips – Tumore e preservazione della fertilità: a che punto siamo

- 1) Se il cancro insorge a livello delle gonadi, è ragionevole concludere che possa compromettere direttamente la fertilità
- 2) Se il cancro non insorge a livello delle gonadi, potrebbe avere un effetto indiretto sulla fertilità in base al suo stadio e grado
- 3) La preservazione della fertilità è *cost-effective* se i pazienti sono selezionati accuratamente
- 4) La gametogenesi *in vitro* permetterà di preservare la fertilità dei pazienti che oggi sono esclusi da questi percorsi



Se non puoi convincerli, confondili

Harry Truman

Grazie per l'attenzione

*Dr. Francesco Capodanno
Responsabile del Laboratorio del Centro di Fisiopatologia della Riproduzione Umana
Ospedale del Delta, AUSL di Ferrara
Via Valle Oppio 2, 44023, Lagosanto (FE)
f.capodanno@ausl.fe.it
+39 0533723559 - 349 5142339*