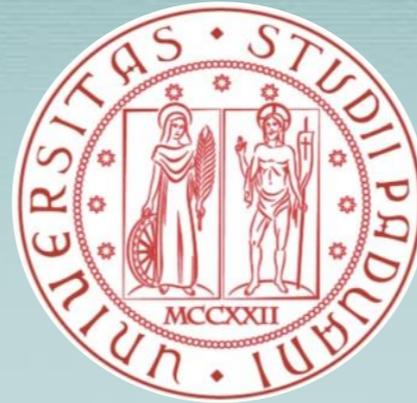


UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA
DIPARTIMENTO DI SALUTE DELLA DONNA E DEL BAMBINO
U.O.C. di Clinica Ginecologica Ostetrica



SCUOLA DI SPECIALIZZAZIONE IN GINECOLOGIA E OSTETRICIA
Direttore: Prof. Giovanni B. Nardelli

TESI DI SPECIALIZZAZIONE

**RANDOM START: FEASIBLE METHOD FOR WOMEN
UNDERGOING EMERGENCY FERTILITY
PRESERVATION**

Relatore: Prof. Michele Gangemi
Correlatore: Dott. Salvatore Gizzo

Dott.ssa Federica D'Addetta

BACKGROUND

FERTILITY AND CANCER

- Approssimativamente il 10% di tutti i tumori insorge in donne di età inferiore a 45 anni.
- La Chemio e Radioterapia, e la chirurgia hanno portato ad un considerevole incremento della sopravvivenza, tuttavia questi trattamenti possono determinare una menopausa precoce.
- Il rischio di POF dipende da: età della paziente, riserva ovarica, dose di RT e dose e classe di CT.

Table 1 Ten leading cancer types for the estimated new cancer cases and deaths by sex, United States, 2014

Estimated new cases^a

			Males Females				
Prostate	233,000	27%			Breast	232,670	29%
Lung and bronchus	116,000	14%			Lung and bronchus	108,210	13%
Colorectum	71,830	8%			Colorectum	65,000	8%
Urinary bladder	56,390	7%			Uterine corpus	52,630	6%
Melanoma of the skin	43,890	5%			Thyroid	47,790	6%
Kidney and renal pelvis	39,140	5%			Non-Hodgkin lymphoma	32,530	4%
Non-Hodgkin lymphoma	38,270	4%			Melanoma of the skin	32,210	4%
Oral cavity and pharynx	30,220	4%			Kidney and renal pelvis	24,780	3%
Leukemia	30,100	4%			Pancreas	22,890	3%
Liver and intrahepatic bile duct	24,600	3%			Leukemia	22,280	3%
All sites	855,220	100%	All sites	810,320	100%		

Estimated deaths

			Males Females				
Lung and bronchus	86,930	28%			Lung and bronchus	72,330	26%
Prostate	29,480	10%			Breast	40,000	15%
Colorectum	26,270	8%			Colorectum	24,040	9%
Pancreas	20,170	7%			Pancreas	19,420	7%
Liver and intrahepatic bile duct	15,870	5%			Ovary	14,270	5%
Leukemia	14,040	5%			Leukemia	10,050	4%
Esophagus	12,450	4%			Uterine corpus	8,590	3%
Urinary bladder	11,170	4%			Non-Hodgkin lymphoma	8,520	3%
Non-Hodgkin lymphoma	10,470	3%			Liver and intrahepatic bile duct	7,130	3%
Kidney and renal pelvis	8,900	3%			Brain and other nervous system	6,230	2%
All sites	310,010	100%	All sites	275,710	100%		

Notes: ^aEstimates are rounded to the nearest 10 and exclude basal cell and squamous cell skin cancers and in situ carcinoma except urinary bladder. Reproduced with permission from John Wiley and Sons. Siegel, R, Ma, J, Zou, Z, Jemal, A. Cancer statistics, 2014. CA: A Cancer Journal for Clinicians. 2014;64:9-29. © 2014 American Cancer Society, Inc.

BACKGROUND

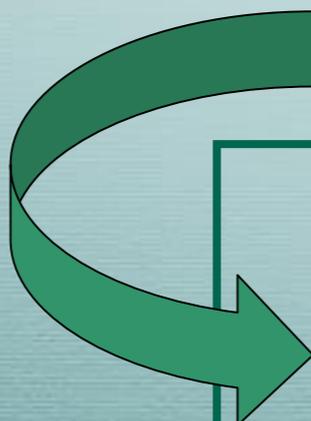


- L'aumento di incidenza di patologie tumorali in donne in età fertile.
- L'aumento dell'età al primo figlio
- L'aumento della sopravvivenza e delle aspettative di vita delle giovani pazienti oncologiche



IMPORTANZA DELLA PRESERVAZIONE DELLA FERTILITA'

HEALT CARE PROVIDERS



Le pazienti che debbano intraprendere trattamenti a rischio di danneggiare la loro funzione riproduttiva dovrebbero ricevere un **COUNSELLING TEMPESTIVO** riguardo la preservazione della fertilità ed essere indirizzate a un **PROGRAMMA DEDICATO**.

DANNI GONADICI DA RADIOTERAPIA E CHEMIOTERAPIA

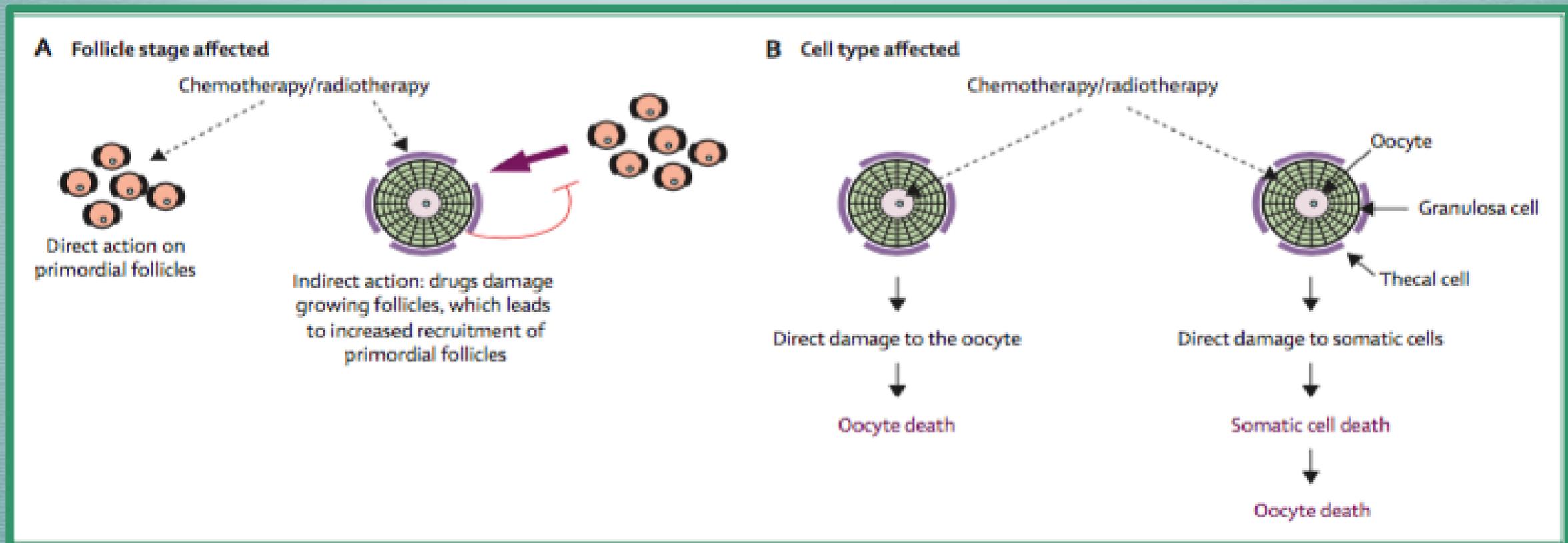


Figure 3: Follicle stage and cell types affected by chemotherapy and radiotherapy

(A) Cancer treatments could directly affect the resting pool of primordial follicles or the growing follicle population. Since growing follicles inhibit recruitment of primordial follicles, loss of this growing population leads to increased activation of primordial follicles and so loss of that reserve. (B) Cancer treatments could directly target oocytes or somatic cells. Oocyte death would result from death of the follicular somatic cells, since oocytes are dependent on these for survival. Reproduced from Morgan and colleagues²⁰ by permission of the European Society of Human Reproduction and Embryology.

Etiology of cancer treatment-related fertility failure Chemotherapy

High Risk (>80%)	Intermediate Risk	Low/no risk (<20%)	Unknown (examples)
Cyclophosphamid Ifosphamide	Cisplatin/ Carboplatin	Methotrexate	Taxanes
Cholarambucil	Adriamycin	5-Fluorouracil	Oxaliplatin
Melphalan	Imatinib (TKI)	Vincristine	
Busulfan	Bevacizumab	Bleomycin	
Nitrogen mustard		Actinomycin D	
Procarbazine		Mitomycin	

- I chemioterapici (**agenti alchilanti**) provocano apoptosi delle cellule germinali.
- ↓ n di AFC e AMH
- Alterazione della vascolarizzazione e fibrosi ovarica.
- Gli alchilanti bloccano la replicazione e trascrizione indipendentemente dalla fase del ciclo cellulare danneggiando i follicoli primordiali.



Etiology of cancer treatment-related fertility failure Radiotherapy

Ovarian damage

- Radiation toxicity varies with the cell cycle Highest in G and M cycles
- Oocytes are particularly affected
- Dose related reduction in the primordial follicle pool

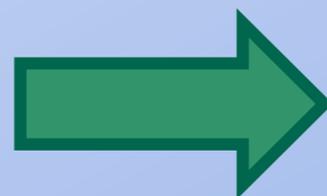
Lethal Dose

- Dependent on age, extent, type/location and fractionation schedule



RADIATION DOSE TOLERANCE

Age	Dose of Radiotherapy
Birth	20.3 Gy
10 years	18.4 Gy
20 years	16.5 Gy
30 years	14.3 Gy



DOSE TOTALE

- < 10 GY: 55-80% POF
- > 15 GY: 100% POF
- RT PELVICA: 95% POF
- RT LOCALE RIDUCE VASCOLARIZZAZIONE E SPESSORE ENDOMETRIALE
- RT DEL SNC: DANNO AL SISTEMA IPOTALAMO-IPOFISARIO,
- RT TOTAL BODY IN TRAPIANTO MIDOLLO: 80% AMENORREA



BACKGROUND

TECNICHE DI PRESERVAZIONE DELLA FERTILITA' NELLA DONNA

Consolidate:

- Criopreservazione embrionaria
- Vitrificazione ovociti maturi

Sperimentali:

- Criopreservazione del tessuto ovarico.
- IVM (in vitro maturation)
- Soppressione ovarica mediante analoghi del GnRH.

If the treatment includes:

The following options should be considered:

Cancer surgery

Fertility-sparing surgery preserving gonads. Preservation of the uterus in females. Use of cryopreservation may also be considered prior to surgery if the risk of gonadal damage is high

Radiation therapy to pelvic organs and gonads

Shielding aiming at reducing damage of reproductive organs and surgical ovarian transposition
Use of cryopreservation may also be considered prior to radiotherapy

Cytotoxic treatment with high risk of gonadal damage

Use of cryopreservation methods such as sperm banking for males, freezing of embryos and oocytes for females and gonadal tissue freezing

Hormone therapy for estrogen-sensitive breast cancer

Cryopreservation may be considered in women >33 years of age when a 5-year tamoxifen treatment is planned, and >28 years of age when a 10-year course (ATLAS) is planned, as natural fertility diminishes with age

Fertility Preservation for Patients With Cancer: American Society of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline Update

Alison W. Loren, Pamela B. Mangu, Lindsay Nohr Beck, Lawrence Brennan, Anthony J. Magdalinski, Ann H. Partridge, Gwendolyn Quinn, W. Hamish Wallace, and Kutluk Oktay



Fertility preservation in patients undergoing gonadotoxic therapy or gonadectomy: a committee opinion

The Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine
American Society for Reproductive Medicine, Birmingham, Alabama

La **CRIOCONSERVAZIONE OVOCITARIA** è considerata una tecnica consolidata di preservazione di fertilità femminile e la stimolazione ovarica può essere effettuata anche nelle pazienti con tumori ormono-sensibili.



PROTOCOLLI DI INDUZIONE DELL'OVULAZIONE NELLE PAZIENTI ONCOLOGICHE.

Ovarian stimulation to cryopreserve fertilized oocytes in cancer patients can be started in the luteal phase

Michael von Wolff, M.D.,^a Christian J. Thaler, M.D.,^b Torsten Frambach, M.D.,^c Cosima Zeeb, M.D.,^c Barbara Lawrenz, M.D.,^d Roxana M. Popovici, M.D.,^a and Thomas Strowitzki, M.D.^a

Effective method for emergency fertility preservation: random-start controlled ovarian stimulation

*Hakan Cakmak, M.D., Audra Katz, R.N., Marcelle I. Cedars, M.D., and Mitchell P. Rosen, M.D.
Division of Reproductive Endocrinology and Infertility, Department of Obstetrics, Gynecology, and Reproductive Sciences, University of California, San Francisco, California*

RANDOM START PROTOCOL

Trattamento efficace

↓ significativa del tempo necessario a raggiungere il prelievo ovocitario

TIMING: FATTORE FONDAMENTALE

- Evitare ogni ritardo nell'inizio delle terapie oncostatiche.
- Invio precoce delle pazienti agli specialisti della medicina della riproduzione.
- La collaborazione tra oncologi e specialisti.

BACKGROUND



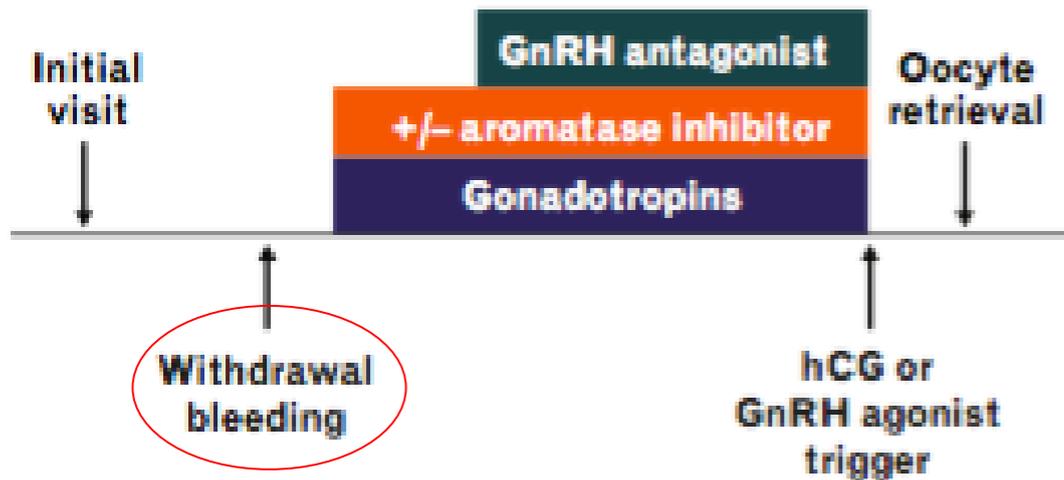
Random-start ovarian stimulation in patients with cancer

Hakan Cakmak and Mitchell P. Rosen

Conventional start

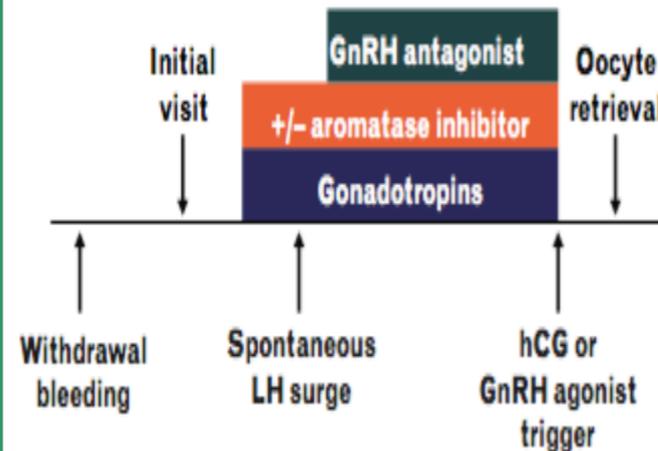
CONVENTIONAL START

(a)



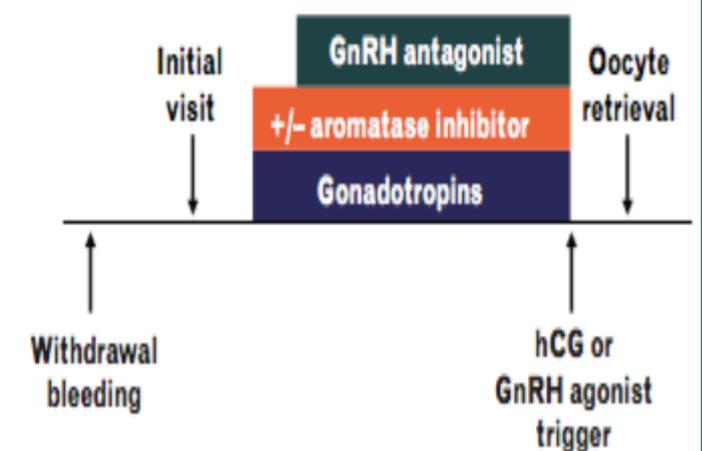
Late follicular phase start

(c)



RANDOM START

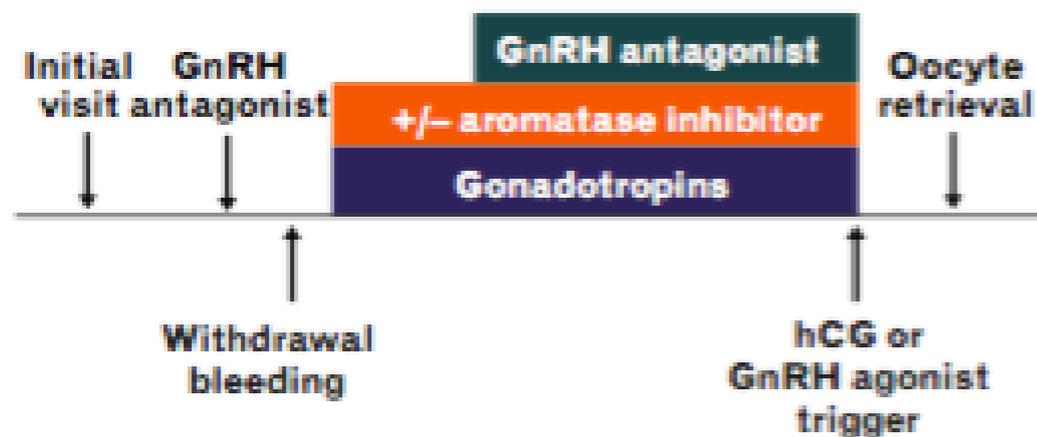
(d)



Luteal halt

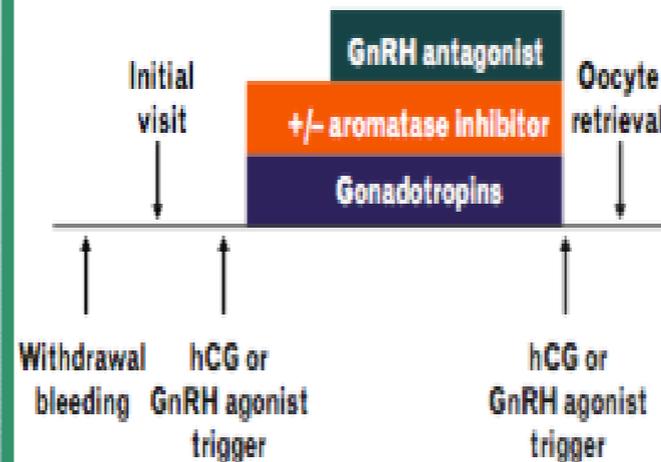
(b)

RANDOM START



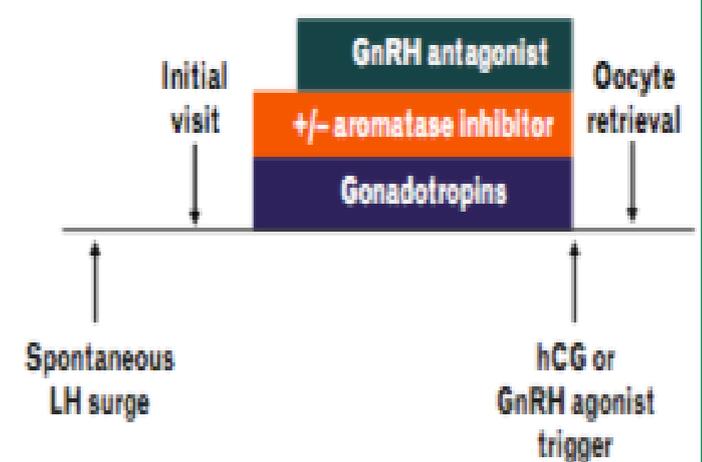
Luteal phase start

(e)



RANDOM START

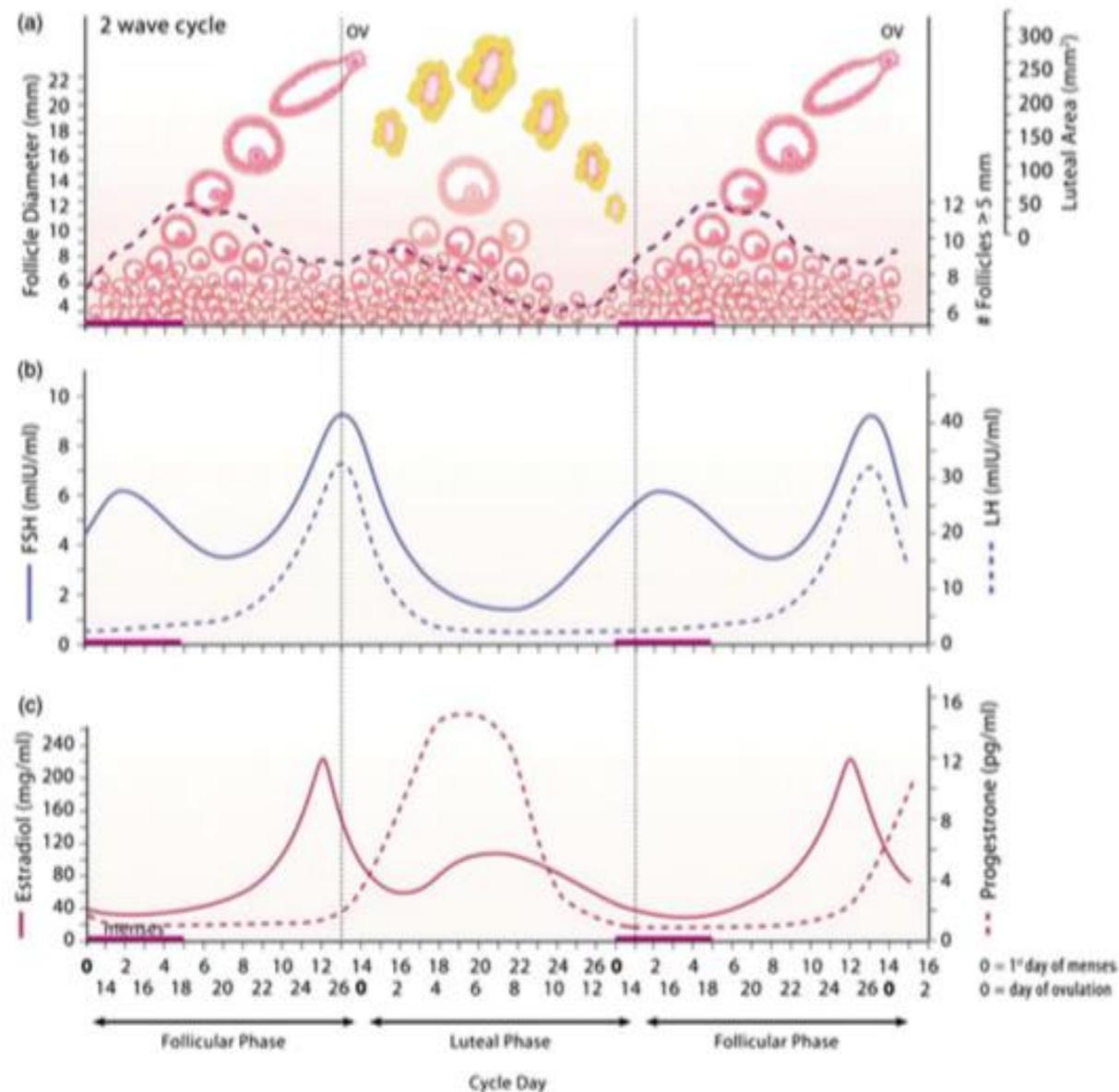
(f)



Ovarian antral folliculogenesis during the human menstrual cycle: a review

Angela R. Baerwald^{1,*}, Gregg P. Adams², and Roger A. Pierson³

THEORY OF MULTIPLE FOLLICULAR WAVES: new concept of ovarian physiology



✓ Teoria tradizionale della follicologenesi sul reclutamento follicolare: riconosce una singola onda di follicoli antrali esclusivamente durante la fase follicolare.

✓ Theory of multiple follicular waves: durante il ciclo mestruale sono reclutate 2-3 onde, suggerendo che la crescita dei follicoli antrali puo' iniziare in diverse fasi del ciclo. Solo una di queste esita in ovulazione, le altre sono anovulatorie.

STUDY QUESTION

SCOPO DELLO STUDIO



- Valutare gli outcomes della stimolazione ovarica controllata (COS), in una coorte di pazienti oncologiche in attesa di chemio-radio terapia reclutate per un programma di preservazione della fertilità, confrontate con una coorte di pazienti infertili sane sottoposte a COS per infertilità.
- All'interno della coorte delle pazienti oncologiche, confrontare le pazienti sottoposte a 'Conventional COS start' (c-COS) rispetto a quelle sottoposte a Random COS start (r-COS).



STUDY DESIGN

MATERIALI E METODI

STUDIO RETROSPETTIVO OSSERVAZIONALE DI COORTE

Reclutate 93 donne afferite presso gli ambulatori di infertilità di coppia della Clinica Ginecologica e Ostetrica di Padova da Marzo 2014 a Giugno 2016.

2 gruppi:

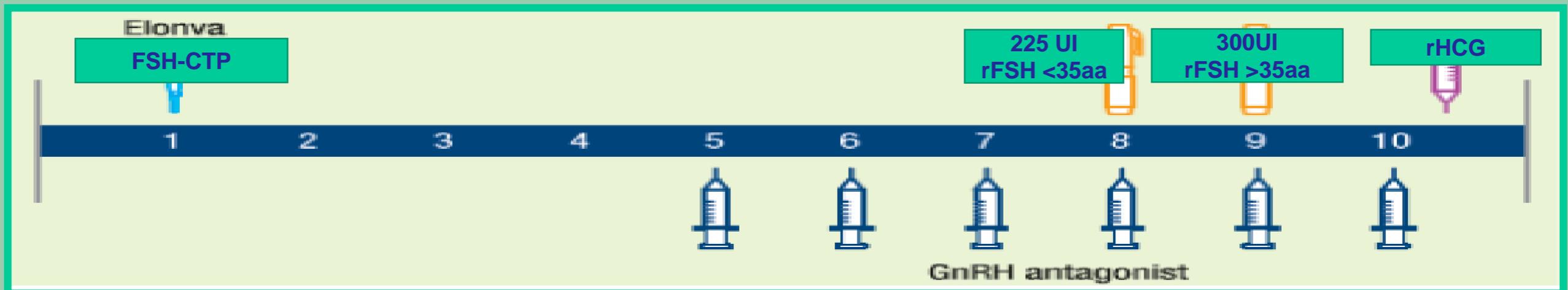
➤ **GRUPPO 1** (31 pazienti),
gruppo di studio, oncologiche, di
maggiore età, senza pregressa
diagnosi o trattamenti per infertilità.

- 13 (41,9%) tumore ematopoietico
- 15 (48,4%) da K mammela
- 3 (9,7%) da altra neoplasia.

➤ **GRUPPO 2** (62 pazienti),
gruppo di controllo, sane, senza
pregressi trattamenti di chemio-
radio, pregressa chirurgia ovarica,
POF, terapia EP in atto.
Confrontati per età e riserva
ovarica con il Gruppo 1.

STUDY DESIGN

Entrambi i gruppi sono stati sottoposti a stimolazione ovarica con **PROTOCOLLO CORTO CON GnRH-ANTAGONISTA** a schema fisso.



- singola dose di 150 μ g di **corifollitropina-alfa** (Elonva®) sottocute nei primi 5 giorni di stimolazione, seguita successivamente da 225 UI (< 35 aa) o 300 UI (>35 aa) di **FSH ricombinante** giornalmente (Meropur® o Gonal F®).
- Induzione dell'ovulazione con **GnRH agonista** (Fertipeptil 0,2 mg/ml) o **rhCG** (Ovitelle 250 mcg)
- K mammella **ER+**, è Als (**letrozole 5mg day**)

Per tutte le pazienti sono stati raccolti dati riguardo storia personale, età, AMH, AFC, giorni di stimolazione, E2 all'induzione, n di follicoli > e < di 16 mm, totale n di ovociti e n di ovociti M2.



STUDY DESIGN

GRUPPO I

Riguardo il gruppo I, la decisione di eseguire c-COS (Conventional COS) versus r-COS (Random COS) è basata sul giorno di ciclo mestruale in cui si trovava la paziente al momento della presentazione nel nostro centro.

3 r-COS subgroups:

• lf-r-COS (late follicular start) 21 pazienti (67,7%) when stimulation was started ≥ 4 days after spontaneous menstruation cycle.

• o-r-COS (periovulatory start) 6 pazienti (19,4%) when stimulation was started from -3 to +3 ovulation days.

• l-o-COS (luteal start) 4 pazienti (12,9%) when stimulation was started ≥ 4 or more days after spontaneous ovulation.

STUDY DESIGN

ENDPOINTS

1° PRIMARIO:

- lunghezza COS (gg)
- dosaggio plasmatico E2 il gg di induzione dell'ovulazione
- numero e volume di distribuzione dei follicoli prima dell'induzione dell'ovulazione
- N. totale di ovociti recuperati
- N. totale di ovociti M2



2° SECONDARIO: confrontare, all'interno del Gruppo_I, le pazienti sottoposte a c-COS rispetto a r-COS in termini di ovociti M2 dopo aver categorizzato le pazienti per età (meno o più di 35 anni).

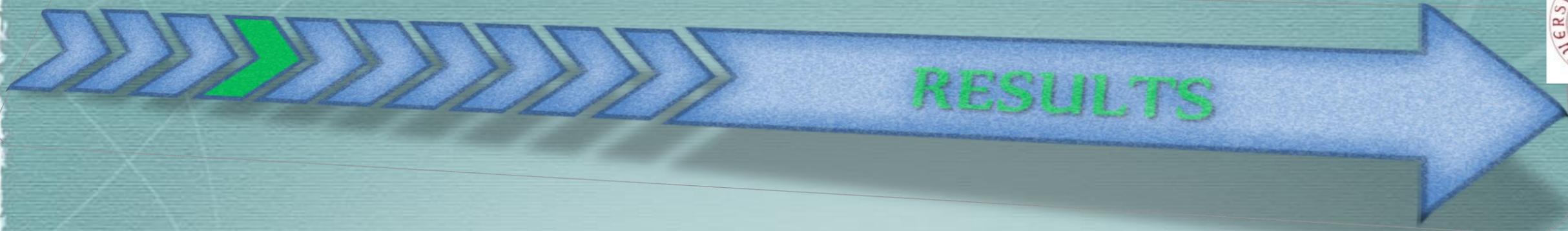


TABLE 1

Gruppo 1 vs. Gruppo 2

	Group	Number	Mean	Std. Deviation	P value
AGE (YEARS)	1	31	31,90	5,969	n.s.
	2	62	30,89	3,622	
AFC	1	31	14,03	3,207	n.s
	2	62	14,45	8,039	
AMH (NGR/L)	1	31	3,068	1,7525	<0.05
	2	62	4,235	1,5107	



RESULTS



TABLE 2

Gruppo 1 vs. Gruppo 2

	Group	Number	Mean	Std. Deviation	P value
Stimulation length	1	31	10,61	1,454	n.s.
	2	62	10,87	2,679	
E2 value at ovulation induction	1	31	7,542	2,9245	n.s
	2	62	8,176	3,8870	
Number of follicles greater than 16 mm	1	31	4,71	3,336	<0.001
	2	62	10,23	2,831	
Number of follicles smaller than 16 mm	1	31	9,10	1,546	<0.001
	2	62	3,66	5,192	
Total number of oocytes	1	31	8,87	3,246	<0.001
	2	62	13,71	6,556	
Total number of M2 oocytes	1	31	5,97	4,841	<0.001
	2	62	10,05	3,404	

RESULTS

C-COS vs. R-COS (lf-r COS, o-r-COS, l-r COS) e sottogruppi di R-COS tra loro In pz < 35 aa

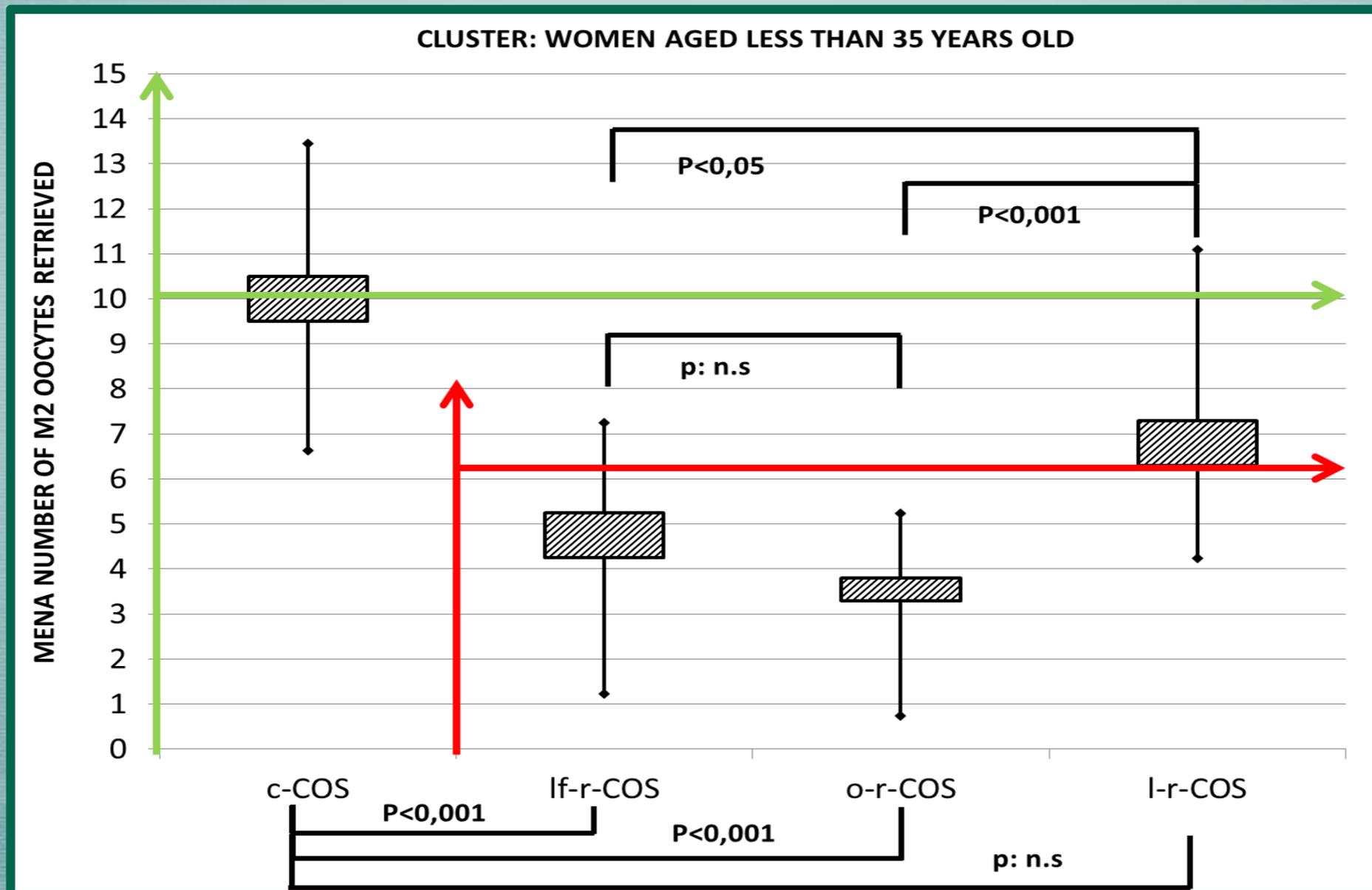


FIGURA I

RESULTS



C-COS vs. R-COS (lf-r COS, o-r-COS, l-r COS) e sottogruppi di R-COS tra loro In pz > 35 aa

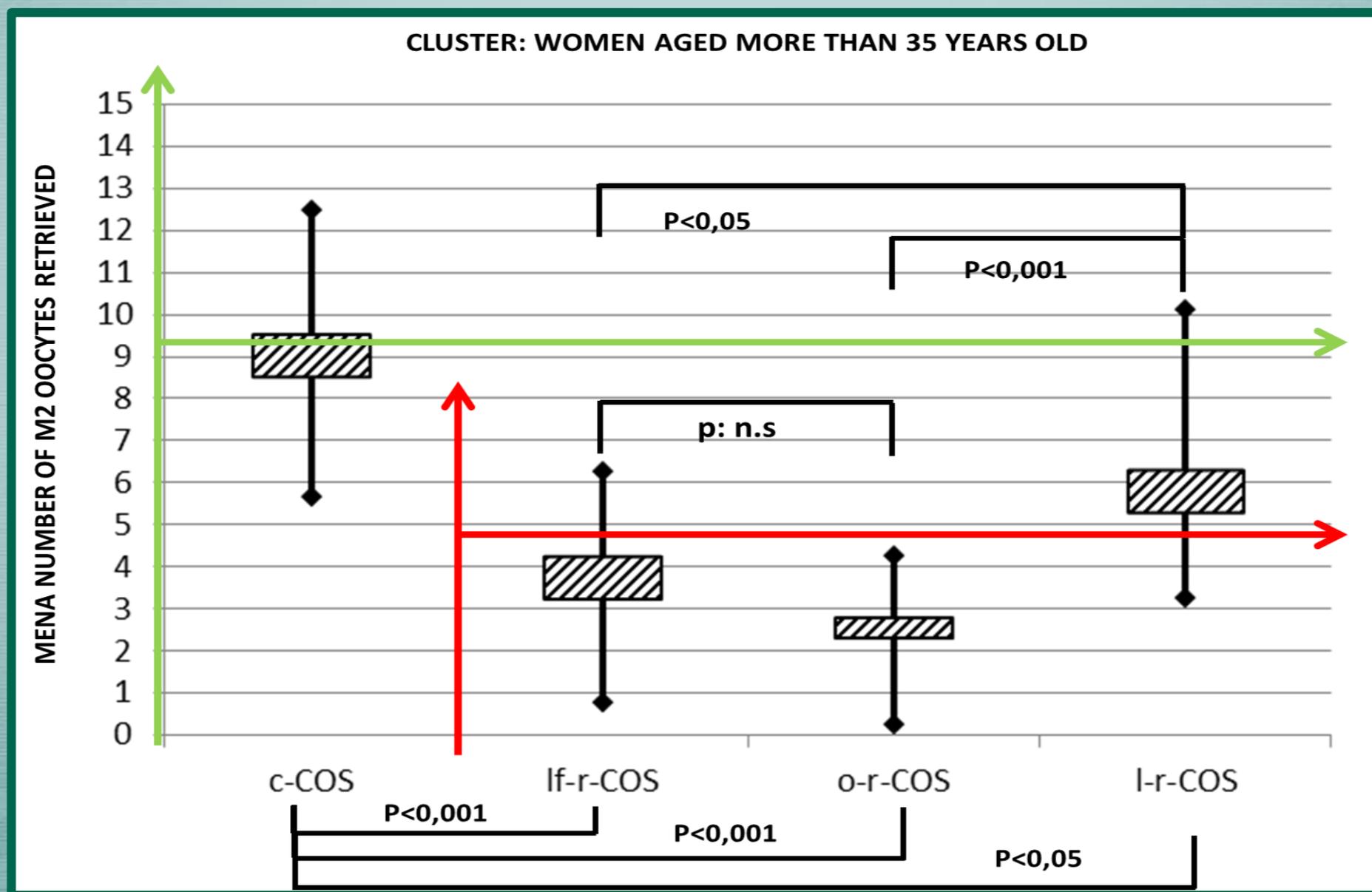
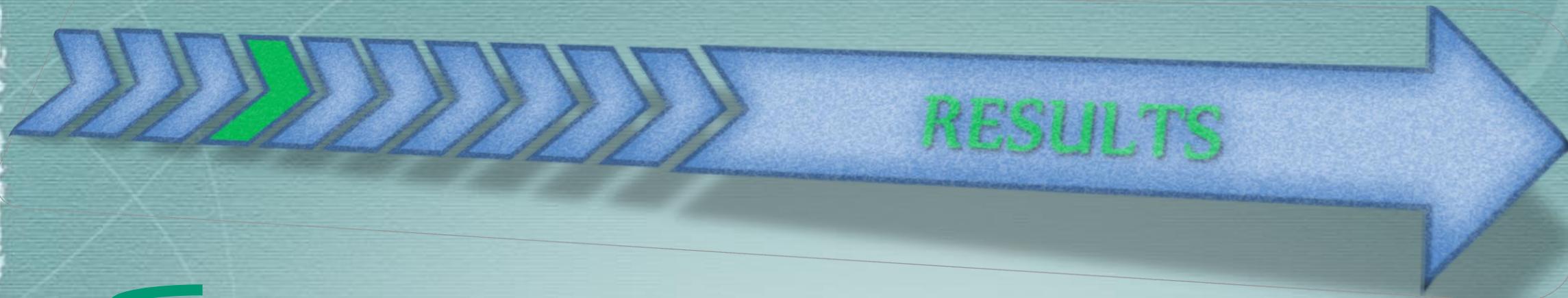


FIGURA I



- ✓ Quando confrontati per il numero di ovociti recuperati, sono state trovate differenze statisticamente significative in entrambi i cluster di età (< 35 e >35 anni) tra R-START e C- START COS.
- ✓ In dettaglio, sia nelle donne di età < e > 35 aa, l-r-COS risulta piu' efficace di lf-r-COS e o-r-COS in termini di numero di ovociti M2 raccolti.
- ✓ E' interessante notare che, in pazienti di età < 35 aa, l-r-COS è paragonabile a c-COS come numero di ovociti M2 raccolti.





CONCLUSIONS

- ✓ In accordo con i recenti dati della letteratura, le giovani pazienti oncologiche presentano una riserva ovarica inferiore, rispetto alle pazienti sane, della stessa età, ancora prima di iniziare Tp oncostatiche.
- ✓ Inoltre le pazienti oncologiche presentano una risposta ovarica piu' debole alla COS, in termini di numero di follicoli maturi >16 mm e numero di ovociti recuperati totali e M2 rispetto alle pazienti sane di stessa età.

(Domingo 2012, Friedler 2012, Quintero 2011).

Ovarian response to controlled ovarian hyperstimulation in cancer patients is diminished after oncological treatment

Ovarian response to stimulation for fertility preservation in women with cancer

Ovarian stimulation for fertility preservation in cancer patients with cancer



CONCLUSIONS

- 
- ✓ Inoltre questo studio conferma il random-start COS un metodo efficace per la preservazione della fertilità soprattutto quando iniziato in fase luteale del ciclo mestruale.
 - ✓ Tuttavia le pazienti dovrebbero essere informate che il numero di ovociti M2 recuperato atteso dopo COS è piu' basso rispetto alle pazienti sane di simile età.
 - ✓ Questo protocollo ha lo scopo di ridurre i ritardi e consentire alle pazienti di sottoporsi tempestivamente alla preservazione della fertilità e subito successivamente a terapie oncosoppressive nell'arco di 2-3 settimane.

