



**Linee guida**

**PRESERVAZIONE DELLA FERTILITA'  
NEI PAZIENTI ONCOLOGICI**



**Coordinatore:** Lucia Del Mastro

**Segretario Scientifico:** Matteo Lambertini

**Estensori:**

Paola Anserini,  
Maurizio Tomirotti,  
Fedro Alessandro Peccatori

**Referee AIOM**

**Referee SIA**

**Referee SIOG/SIGO**

Saverio Cinieri  
Luciano Latini  
Giancarlo Morrone  
Paolo Scollo, Nicola Surico,  
Tiziano Maggino

## Indice

1. Introduzione.....	4
2. Diventare genitori dopo il cancro .....	5
3. Rischio di infertilità correlato ai trattamenti antitumorali.....	7
3.1 Chemioterapia e terapia endocrina.....	9
3.2 Radioterapia .....	10
4. Tecniche di preservazione della fertilità .....	12
4.1 Il quadro legislativo Italiano .....	13
4.2 Tecniche di preservazione della fertilità nell'uomo .....	14
4.3 Tecniche di preservazione della fertilità nella donna .....	17
5. Bibliografia.....	30
6. Algoritmi.....	42
7. Raccomandazioni prodotte con metodologia GRADE.....	44

## 1. Introduzione

In Italia, si stima che nel 2011 siano stati diagnosticati 360.000 nuovi casi di tumore maligno, di cui circa 200.000 (56%) nel sesso maschile e circa 160.000 (44%) nel sesso femminile. Approssimativamente, il 3% del totale viene diagnosticato in pazienti con età inferiore a 40 anni: i più comuni tipi di cancro in questo sottogruppo di pazienti sono rappresentati nell'uomo da tumore del testicolo, melanoma, tumore colon-rettale, linfoma non Hodgkin e tumori della tiroide, mentre nella donna da carcinoma mammario, tumori della tiroide, melanoma, carcinoma della cervice, e carcinoma del colon-retto<sup>1</sup>.

La possibile comparsa d'infertilità secondaria ai trattamenti antiproliferativi e il disagio psico-sociale ad essa legato sono temi di importanza crescente, non solo in considerazione del miglioramento della prognosi nei pazienti oncologici di età pediatrica e giovanile<sup>2,3</sup>, ma anche a causa dello spostamento in avanti dell'età alla prima gravidanza nei paesi occidentali<sup>4,6</sup>. In Italia la percentuale di gravidanze registrate in donne oltre i 35 anni è passata dal 12% nel 1990 al 16% nel 1996 ed è stato stimato che sarà pari al 25% nel 2025<sup>7</sup>. Un recente studio australiano<sup>8</sup> ha evidenziato come il timore di sterilità secondaria non sia strettamente legato ad un progetto concreto di procreazione, ma abbia più ampiamente a che fare con la sfera profonda dell'identità sessuale nel suo complesso. La criopreservazione del seme sembra giocare in questo senso un valore positivo nell'affrontare emotivamente la diagnosi di cancro e il suo trattamento, anche se poi i campioni saranno effettivamente utilizzati solo da una minoranza dei pazienti (<10%)<sup>9,10</sup>. Il desiderio di avere un figlio naturale prevale nettamente su alternative percorribili (adozione) o sulla possibilità, là dove la normativa lo consente (in Italia non consentite dalla legge 40/2004), di ricorrere a forme di procreazione che prevedano l'intervento di terzi (donazione di gameti o maternità surrogata)<sup>11-14</sup>. Quanto affermato è vero anche quando al desiderio di genitorialità si associa la preoccupazione relativa alla prognosi oncologica nonché al timore di possibili danni al prodotto del concepimento quale conseguenza tardiva dei trattamenti antitumorali ricevuti prima del concepimento<sup>15,16</sup>. I pazienti guariti si considerano abbastanza sani per diventare buoni genitori e vedono nella loro esperienza di malattia un fattore in grado di arricchire il loro ruolo genitoriale, attribuendo un valore superiore alla famiglia e meglio tollerando lo stress<sup>13,14,17</sup>.

Recenti dati evidenziano che i pazienti infertili con pregressa diagnosi di cancro, presentano, rispetto a pazienti infertili per altri motivi, qualità di vita (depressione<sup>18</sup>, ansia<sup>19-21</sup>) e funzione sessuale meno soddisfacenti<sup>22-27</sup>.

Sebbene evidenze suggeriscano come alcuni pazienti preferirebbero ricevere trattamenti anche meno efficaci pur di prevenire complicazioni a lungo termine<sup>25</sup> molti di loro preferiscono non affrontare in prima persona l'argomento con il proprio medico. Spetta quindi al clinico adeguare i livelli di comunicazione ed avviare con i/le pazienti una serena e corretta informazione, in collaborazione con le figure infermieristiche il cui ruolo in questo ambito è ampiamente riconosciuto anche in letteratura<sup>28</sup>.

Studi anche recenti indicano che il tema della fertilità non sempre viene trattato in maniera adeguata<sup>8,14,17,29-32</sup> e che i/le pazienti vengono così privati/e della possibilità di accedere a metodiche/procedure efficaci. Il dato è fortunatamente in miglioramento: un recente studio tedesco<sup>33</sup> ha evidenziato come la proporzione dei pazienti che non ricordano di avere affrontato, prima del trattamento, tematiche legate alla fertilità si sia gradualmente ridotta nel tempo: nel periodo 1980-1984 tale proporzione rappresentava il 67% mentre nel quadriennio 2000-2004 era scesa al 50% ( $p < .001$ ).

Quali sono i fattori che possono ostacolare lo scambio di informazioni tra medico-oncologo e paziente? Alcuni studi hanno suggerito che gli oncologi potrebbero non conoscere le raccomandazioni cliniche relative a questa problematica o che la loro conoscenza su tale argomento pecchi di scarso aggiornamento<sup>34,35</sup>; altri studi segnalano l'effetto negativo della mancanza di team multidisciplinari ad hoc<sup>29,36</sup>. Rieker descriveva già vent'anni orsono<sup>26</sup> che gli oncologi sono più propensi a discutere la possibilità di criopreservare il seme con i pazienti di livello di istruzione più elevato; elementi favorevoli al dialogo sono l'interesse scientifico o il sesso (femminile > maschile) del medico, la richiesta diretta dei/delle pazienti<sup>36</sup>. Fattori in grado di influenzare il livello di comunicazione sono la prognosi del paziente stesso<sup>9,29,34</sup>, il sesso<sup>34,35</sup>, lo stato genitoriale<sup>34</sup>, lo stato civile<sup>29</sup>, l'età e lo stato puberale<sup>35</sup>, le possibilità economiche<sup>29</sup>, l'eventuale omosessualità o l'infezione da HIV<sup>29,34</sup>. Una questione emergente è la presenza, in costante crescita, di pazienti provenienti da aree geografiche e culture diverse, con retroterra sociali, storici e familiari specifici. Queste peculiarità (età,

desiderio di gravidanza post trattamento, parità) devono essere considerate sia nella proposta terapeutica, sia nel counselling relativo alla preservazione della fertilità<sup>37</sup>.

Accenniamo solamente, in questa sede, all'ambito del tutto peculiare dei trattamenti oncologici in età pediatrica, tema che meriterà una trattazione a parte<sup>17</sup>. Per i pazienti in età prepuberale, le modalità a disposizione per preservare la fertilità sono limitate e sostanzialmente sperimentali sia sul versante tecnico<sup>38-42</sup> sia sul versante del consenso<sup>43,44</sup>. Uno studio multicentrico americano<sup>45</sup> ha preso in considerazione la comunicazione della preservazione della fertilità tra oncologi e pazienti pediatrici. Sono emersi fattori relativi al personale medico (disagio nel discutere di fertilità, percezione della priorità dell'argomento, percezione del ritardo nell'inizio del trattamento), ai genitori (stato emozionale, livello culturale), al piccolo paziente (capacità di comprensione, condizioni cliniche ed età) ed istituzionali (presenza di centri di riferimento, linee guida, costi economici).

Lo scopo di queste raccomandazioni è favorire un buon counselling come momento chiave nel processo decisionale del paziente. È importante che tutti i/e pazienti con diagnosi di tumore in età riproduttiva vengano adeguatamente informati/e del rischio di riduzione della fertilità, in seguito ai trattamenti antitumorali e, al tempo stesso, delle strategie oggi disponibili per ridurre tale rischio<sup>46-48</sup>. È documentato che l'impiego di materiale informativo è un valido ausilio alla comunicazione, in grado di produrre un aumento significativo delle richieste di counselling specialistico di secondo livello<sup>32</sup>.

In virtù del continuo progresso nel settore, dovrebbero essere messi in atto tutti gli sforzi per aumentare lo scambio di informazioni tra gli oncologi e i medici specialisti in medicina della riproduzione: solo integrando queste strategie nella comune pratica clinica, i medici oncologi saranno in grado di migliorare la qualità di vita dei loro pazienti nel processo terapeutico volto non solo alla loro guarigione ma anche al mantenimento dei loro obiettivi futuri, compresi quelli di una pianificazione familiare.

**Circa il 3% del totale dei casi di tumore maligno viene diagnosticato in pazienti con età inferiore a 40 anni. Un importante problema che si pone nei pazienti neoplastici giovani è rappresentato dalla possibile comparsa d'infertilità secondaria ai trattamenti antiproliferativi e il disagio psico-sociale ad essa legato. Tutti i/e pazienti con diagnosi di tumore in età riproduttiva devono essere adeguatamente informati/e del rischio di riduzione/perdita della fertilità come conseguenza dei trattamenti antitumorali e, al tempo stesso, delle strategie oggi disponibili per ridurre tale rischio.**

## 2. Diventare genitori dopo il cancro

Un numero sempre maggiore di coppie si rivolge ai Centri di Medicina della Riproduzione per problemi di infertilità dopo che uno dei due partner è stato trattato per un tumore. Oltre ai casi in cui ci sono fattori di infertilità indipendenti dal trattamento chemio/radioterapico quali un fattore tubarico, la principale causa della ridotta fertilità in queste coppie deriva dagli effetti gonadotossici delle terapie<sup>94</sup>.

Per quanto riguarda i giovani pazienti maschi, in assenza di una sindrome neoplastica ereditaria, non esiste alcuna evidenza scientifica che una precedente storia di cancro aumenti il tasso di anomalie congenite o di cancro nella loro prole<sup>49-51</sup>. È stato segnalato che il seme di pazienti oncologici ancora non trattati potrebbe presentare una integrità ridotta del DNA rispetto all'atteso<sup>52,53</sup>; tuttavia, un recente studio europeo su 2.362 pazienti affetti da malattia di Hodgkin ha evidenziato che, nel 90% dei pazienti, il seme era di qualità idonea<sup>54</sup>. Una serie di piccoli studi ha messo poi in evidenza un transitorio aumento del rischio di aneuploidia dopo trattamento chemioterapico e radiante<sup>55-58</sup>, benché l'integrità del DNA seminale in una coorte di pazienti oncologici pediatrici sia risultata simile a quella dei controlli sani della stessa età<sup>59</sup>. Allo stato attuale, i pazienti di sesso maschile dovrebbero essere informati che non è possibile escludere un modesto aumento del rischio di danno genetico nel seme crioconservato dopo la diagnosi di cancro o all'inizio delle terapie antitumorali. Non esistono invece evidenze di un maggior rischio di eventi avversi con l'utilizzo di seme crioconservato piuttosto che fresco, almeno nella popolazione non oncologica. L'iniezione intracitoplasmatica di un singolo spermatozoo (ICSI), applicabile anche in presenza di pochissimi spermatozoi, permette di ottenere una gravidanza sebbene non siano ancora state del tutto fugate le cautele circa la salute della prole ottenuta con tale tecnica da padri in precedenza chemioterattati<sup>58,60</sup>.

E' quindi consigliabile discutere con le coppie il possibile rischio teratogenico aggiuntivo rispetto ai concepimenti spontanei derivante dalla selezione degli spermatozoi effettuata con l'applicazione di tale tecnica. Tuttavia, nessuno studio ha messo in evidenza un aumentato tasso di eventi avversi con ICSI in confronto con le tecniche tradizionali di fertilizzazione in vitro (entrambe potrebbero essere associate a un aumento di difetti alla nascita rispetto ai concepimenti naturali<sup>61,62</sup>). Una recente valutazione<sup>63</sup>, su bambini nati da ICSI e confrontati con altri nati da concepimento naturale, non ha evidenziato sostanziali differenze nello sviluppo cognitivo-motorio a 10 anni di follow-up. Questa tecnica (ICSI) è tuttavia ancora relativamente nuova ed è opportuno un follow-up più lungo della progenie<sup>31,64</sup>.

Per quanto riguarda le giovani pazienti donne, due sono le preoccupazioni principali: i possibili effetti nocivi dei pregressi trattamenti antitumorali su una futura gravidanza, e le conseguenze che la gravidanza possa avere sulla paziente stessa in particolare se si tratta di neoplasie endocrino-sensibili.

Riguardo al primo punto, i pochi dati disponibili non dimostrano un aumento del rischio di difetti genetici o di altro tipo nei nati da donne precedentemente sottoposte a terapie antineoplastiche<sup>60,65</sup>. La maggior parte dei dati disponibili provengono da donne trattate per tumore della mammella. Considerando gli articoli pubblicati, si osserva un tasso di aborto relativamente più alto (20-44%) rispetto a quello della popolazione non trattata: in esso si riflettono le incertezze delle pazienti e dei medici stessi sulla sicurezza di una gravidanza dopo diagnosi di carcinoma mammario<sup>66-71</sup>. In verità, due recenti studi di coorte su un'ampia popolazione di donne precedentemente trattate per una neoplasia mammaria<sup>72,73</sup> sono rassicuranti; tuttavia nello studio svedese è stata osservata un'aumentata incidenza di complicazioni da parto, tagli cesarei, nascite pre-termine o neonati con un basso peso alla nascita nella donne trattate rispetto ai controlli<sup>73</sup>. E' quindi consigliabile un monitoraggio più attento della gravidanza in donne precedentemente trattate rispetto a quanto si faccia nella popolazione generale. Si sono recentemente resi disponibili i dati di un ulteriore studio di coorte danese<sup>74</sup> che ha considerato 472 lungosopravvivenenti oncologici sottoposti a radioterapia e/o chemioterapia e le rispettive 1.037 gravidanze. Non è stata evidenziata alcuna associazione statisticamente significativa tra le malattie genetiche occorse e i trattamenti antiproliferativi subiti.

In passato, sulla base di presupposti meramente teorici, si riteneva che la gravidanza potesse avere un effetto sfavorevole sulla prognosi delle donne con pregresso tumore mammario, soprattutto se quest'ultimo era ormono-sensibile (in età pre-menopausale circa il 60% dei tumori mammari esprime i recettori ormonali<sup>75-78</sup>). In realtà i dati clinici attualmente disponibili non hanno confermato tale ipotesi: oggi è noto che le donne che hanno avuto una gravidanza dopo diagnosi di tumore mammario non hanno una prognosi peggiore<sup>27,66-69,79,80-87</sup>. Al contrario, i risultati di una recente metanalisi – condotta su 1.244 donne e 18145 controlli – segnalerebbero addirittura un effetto protettivo della gravidanza, con una significativa riduzione del rischio di morte (HR = 0.59, IC 95% 0.50-0.70)<sup>88</sup>. Anche dopo aver corretto il dato per il cosiddetto “healthy mother effect”, cioè utilizzando controlli con intervallo libero da malattia pari al tempo alla gravidanza, gli esiti oncologici delle donne che hanno avuto una gravidanza dopo tumore mammario rimangono leggermente migliori dei controlli (HR 0.85, IC 95% 0.53-1.35)<sup>88</sup>. E' quindi da ritenersi definitivamente caduta la storica controindicazione alla gravidanza nelle pazienti con pregresso carcinoma mammario sebbene non si conosca ancora l'intervallo di tempo ideale tra il termine dei trattamenti antiblastici e il concepimento. E' consuetudine diffusa suggerire di attendere almeno due anni<sup>89</sup>: non vi è però un razionale biologico nella scelta di un intervallo di tempo standard. Sembra più ragionevole, nella pratica clinica, tener conto dell'ampia variabilità della casistica e della possibilità di suggerire tempi diversi di attesa, in rapporto alla prognosi della malattia e all'età della paziente<sup>69,80,90</sup>. Una più recente revisione della letteratura<sup>91</sup> suggerisce, nelle pazienti sottoposte a chemioterapia adiuvante, un periodo “di sicurezza” minimo di 6 mesi prima del concepimento. Nonostante non sussistano reali controindicazioni, la quota di pazienti che ha almeno una gravidanza a termine dopo la diagnosi di carcinoma mammario è tuttora molto bassa: solo il 3% tra le donne di età inferiore a 45 anni alla diagnosi (8% se si considerano solo le donne di età inferiore a 35 anni)<sup>69,80,81,92</sup>.

Un studio norvegese<sup>93</sup>, effettuato confrontando 6.070 pazienti, sottoposti a trattamenti antitumorali dal 1971 al 1997, e 30.350 controlli provenienti dalla popolazione generale ha confermato il dato atteso che il tasso riproduttivo post-tumore è più basso rispetto a quello della popolazione generale. I tassi sono più favorevoli nella popolazione maschile e, a partire dal 1988 e per alcune neoplasie, in incremento grazie alle strategie di preservazione della fertilità.

In ambito femminile, un recente studio retrospettivo statunitense<sup>94</sup> ha evidenziato come donne lungo sopravvissute dopo chemioterapia o radioterapia abbiano una percentuale più elevata di insuccessi quando sottoposte a tecniche di riproduzione assistita.

Una situazione a parte è quella del trattamento riproduttivo nelle pazienti con carcinoma endometriale trattate con progestinici. Queste pazienti, spesso con problemi di anovularietà da sindrome dell'ovaio policistico (PCOS), devono essere riferite al più presto ai medici della riproduzione per conseguire la gravidanza nel minor tempo possibile in modo da poter poi completarne il trattamento oncologico con la terapia standard (isterectomia)<sup>95</sup>. Per quanto riguarda i tumori borderline il problema di preservazione della fertilità è prevalentemente legato alla gestione delle recidive. Una terapia chirurgica conservativa è proponibile anche in caso di recidiva. Ma certamente il re-intervento, specie se coinvolge l'ovaio residuo è destinato a ridurre la riserva ovarica e quindi il potenziale riproduttivo. Sebbene ci siano alcune segnalazioni sulla possibilità di effettuare un ciclo di stimolazione per riproduzione assistita in "emergenza" prima di un re-intervento per recidiva di borderline (7 casi) con un buon successo riproduttivo (4 gravidanze [57% del totale]) non è ancora possibile definire l'impatto di tale approccio sull'evoluzione della malattia<sup>96</sup>.

In conclusione, in tutti i casi in cui si decida di applicare una tecnica di PMA a pazienti che hanno avuto un tumore è necessaria una corretta comunicazione, possibilmente scritta, fra l'oncologo e il medico specialista in riproduzione umana per definire un corretto timing della gravidanza che tenga conto del rischio di recidiva e della prognosi oncologica.

**Per i giovani pazienti di sesso maschile, in assenza di una sindrome neoplastica ereditaria, non esiste alcuna evidenza scientifica che una precedente storia di cancro aumenti il tasso di anomalie congenite o di cancro nella loro prole. Non è però possibile escludere ad oggi un modesto aumento del rischio di danno genetico nel seme crioconservato.**

**Per quanto riguarda le donne, non esiste ad oggi alcuna dimostrazione né di un aumentato rischio di difetti genetici o di altro tipo nei nati da donne precedentemente sottoposte a terapie antineoplastiche, né di un possibile effetto sfavorevole della gravidanza sulla prognosi di pazienti trattate per tumori ormono-responsivi.**

### 3. Rischio di infertilità' correlato ai trattamenti antitumorali

L'infertilità è definita come l'incapacità di concepire dopo un anno di rapporti sessuali non protetti. I trattamenti antiproliferativi (radioterapia e chemioterapia) sono associati a un elevato rischio di infertilità temporanea o permanente. Il tasso di infertilità iatrogena è variabile e dipende da più fattori: classe, dose e posologia del farmaco impiegato, estensione e sede del campo di irradiazione, dose erogata e suo frazionamento, età e sesso del/la paziente, anamnesi di pregressi trattamenti per infertilità<sup>2</sup>.

Inoltre, l'infertilità maschile può essere secondaria alla malattia stessa (neoplasie del testicolo, Linfoma di Hodgkin), a danno anatomico (eiaculazione retrograda o aneiaculazione), a insufficienza ormonale primaria o secondaria, e a esaurimento delle cellule staminali germinali<sup>2</sup>. Gli effetti misurabili sono rappresentati dalla compromissione del numero di spermatozoi nell'eiaculato, della loro motilità e morfologia, dell'integrità del DNA di cui sono vettori<sup>2</sup>.

Nelle donne, la fertilità può essere compromessa da qualsiasi trattamento che riduca il numero dei follicoli primordiali, che colpisca l'equilibrio ormonale o che interferisca con il funzionamento delle ovaie, delle tube, dell'utero o della cervice. Cambiamenti anatomici o della vascolarizzazione a carico delle strutture genitali (chirurgia e/o radioterapia) possono impedire il concepimento naturale e il successo della gravidanza anche in presenza di funzione ovarica conservata e richiedere l'ausilio di tecniche di riproduzione assistita<sup>2</sup>.

E' importante sottolineare come la fertilità femminile possa essere compromessa anche in presenza di una attività mestruale ciclica. Un qualsiasi declino della riserva ovarica può tradursi in minori chances di concepimento e in maggior rischio di menopausa precoce: in altre parole, anche se le donne sono inizialmente fertili dopo i trattamenti antitumorali, la durata della loro fertilità può essere abbreviata<sup>2</sup>.

La crescente complessità dei trattamenti oncologici integrati, più efficaci ma anche più tossici, impone già in fase di programmazione terapeutica una maggiore attenzione alla qualità di vita a lungo termine, compresa una attenta discussione sui temi riproduttivi<sup>97</sup>.

Le due tabelle seguenti (Tabella 1 e Tabella 2), riassumono in forma sinottica il rischio associato ai trattamenti farmacologici<sup>98-106</sup>.

**Diversi fattori influenzano il rischio di infertilità iatrogena: classe, dose e posologia del farmaco impiegato, estensione e sede del campo di irradiazione, dose erogata e suo frazionamento, età e sesso del/la paziente, anamnesi di pregressi trattamenti per infertilità.**

**Tabella 1.** Effetto dei differenti agenti antitumorali sulla produzione di sperma nell'uomo

AGENTI (DOSE CUMULATIVA PER AVERE L'EFFETTO)	EFFETTO
-Radiazioni (2.5 Gy al testicolo) -Clorambucil (1.4 g/m <sup>2</sup> ) -Ciclofosfamide (19 g/m <sup>2</sup> ) -Procarbazina (4 g/m <sup>2</sup> ) -Melphalan (140 mg/m <sup>2</sup> ) -Cisplatino (500 mg/m <sup>2</sup> )	Azoospermia prolungata
-BCNU (carmustina) (1 g/m <sup>2</sup> ) -CCNU (lomustina) (500 mg/m <sup>2</sup> )	Azoospermia nell'età adulta dopo trattamento in età prepuberale
-Busulfano (600 mg/kg) -Ifosfamide (42 g/m <sup>2</sup> ) -BCNU (300 mg/m <sup>2</sup> ) -Mostarde azotate -Actinomicina D	Azoospermia probabile, in genere data da altri agenti altamente sterilizzanti associati
-Carboplatino (2 g/m <sup>2</sup> )	Azoospermia prolungata non sempre osservata a questa dose
-Doxorubicina (adriamicina) (770 mg/m <sup>2</sup> ) -Tiotepa (400 mg/m <sup>2</sup> ) -Citosina arabinoside (1 g/m <sup>2</sup> ) -Vinblastina (50 g/m <sup>2</sup> ) -Vincristina (8 g/m <sup>2</sup> )	Tossicità additiva con i farmaci sopra nel determinare una azoospermia prolungata; se non combinati con i farmaci sopra, causano solo una riduzione temporanea della conta spermatica
-Amsacrina, bleomicina, dacarbazina, daunorubicina, epirubicina, etoposide, fludarabina, fluorouracile, 6-mercaptopurina, metotrexate, mitoxantrone, tioguanina	Riduzione temporanea nella conta spermatica alla dose usata negli schemi convenzionali, ma sono possibili effetti additivi
-Prednisone	Improbabile che riduca la produzione spermatica
-Interferone alfa	Nessun effetto sulla produzione spermatica
-Nuovi agenti: oxaliplatino, irinotecan, anticorpi monoclonali (trastuzumab, bevacizumab, cetuximab), inibitori delle tirosinasi chinasi (erlotinib, imatinib), taxani	Rischi sconosciuti sulla produzione spermatica

Lee S et al: *ASCO recommendations on fertility preservation in cancer patients*, J. Clin. Oncol. 2006



**Tabella 2.** Rischio di amenorrea permanente nelle donne trattate con chemioterapia e radioterapia

GRADO DEL RISCHIO	TRATTAMENTO
Rischio elevato (> 80%)	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Trapianto di cellule staminali ematopoietiche con ciclofosfamide/irradiazione corporea totale o con ciclofosfamide/busulfano.</li> <li>-Radioterapia esterna che includa nel campo d'irradiazione le ovaie.</li> <li>-CMF, CAF, CEF, 6 cicli in una donna con età &gt; 40 anni.</li> </ul>
Rischio intermedio	<ul style="list-style-type: none"> <li>-CMF, CAF, CEF, per 6 cicli in una donna tra 30 e 39 anni.</li> <li>-AC, per 4 cicli in una donna con età ≥ 40 anni.</li> </ul>
Rischio basso (< 20%)	<ul style="list-style-type: none"> <li>-ABVD (doxorubicina/bleomicina/vinblastina/dacarbazina).</li> <li>-CHOP per 4-6 cicli (ciclofosfanide/doxorubicina/vincristina/prednisone).</li> <li>-CVP (ciclofosfamide/vincristina/prednisone).</li> <li>-AML (antracicline/citarabina).</li> <li>-ALL (polichemioterapia).</li> <li>-CMF, CAF, CEF, 6 cicli in una donna con età &lt; 30 anni.</li> <li>-AC 4 cicli in una donna di età &lt; 40 anni.</li> </ul>
Rischio molto basso o assente	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Vincristina.</li> <li>-Metotrexate.</li> <li>-Fluorouracile.</li> </ul>
Rischio sconosciuto	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Taxani.</li> <li>-Oxaliplatino.</li> <li>-Irinotecan.</li> <li>-Anticorpi monoclonali (trastuzumab, bevacizumab, cetuximab).</li> <li>-Inibitori delle tirosino-chinasi (erlotinib, imatinib).</li> </ul>

Lee S et al: *ASCO recommendations on fertility preservation in cancer patients*, J. Clin. Oncol. 2006

### 3.1 Chemioterapia e terapia endocrina

Predire quale sia l'effetto del singolo trattamento sulla fertilità del/la singolo/a paziente comporta ampie aree di incertezza dovute a una elevata variabilità individuale<sup>65</sup>. Recenti dati provenienti da review di grandi casistiche su lungo sopravvivenuti<sup>107,108</sup> possono essere di ausilio agli oncologi nella pianificazione del programma di cura.

L'epitelio germinale del testicolo dell'adulto è più sensibile al danno da chemioterapia rispetto all'epoca prepuberale e, in caso di danno, la possibilità di una ripresa dell'attività gonadica aumenta con il tempo intercorso dalla fine del trattamento<sup>65,109</sup>. In ambito femminile, sono le pazienti con età superiore a 35-40 anni ad essere le più suscettibili: le ovaie di pazienti più giovani, infatti, possono sopportare dosi maggiori di farmaci citotossici<sup>110,111</sup>.

In entrambi i sessi, il maggior rischio è associato agli agenti alchilanti (in particolare: ciclofosamide, ifosfamide, nitrosouree, clorambucil, melfalan, busulfan, procarbazine, carmustina, lomustina)<sup>65,112,113</sup>; altrettanto noto è l'effetto negativo di carboplatino e cisplatino<sup>114</sup>. Al contrario, un basso rischio è associato a metotrexate, fluorouracile, vincristina, vinblastina, bleomicina e dactinomina. Da segnalare l'esperienza del Memorial Sloan-Kettering relativa all'aggiunta di taxani ad una chemioterapia contenente antracicline: in una casistica di 230 donne non si è evidenziato un rischio di amenorrea più alto rispetto ai controlli storici<sup>115</sup>. Tuttavia i dati relativi al rischio da taxani non sono ancora conclusivi<sup>116</sup>.

I regimi utilizzati per il trattamento del linfoma non Hodgkin (LNH) sono generalmente ritenuti meno gonatotossici di quelli usati nella malattia di Hodgkin (LH)<sup>65</sup>. In un recente studio di Behringer<sup>117</sup>, la probabilità ed il tempo alla ripresa del ciclo mestruale in 579 donne affette da LH e randomizzate a 2 tipi di trattamento (ABVD per 4 vs BEACOPP x 2 + ABVD x 2) sono risultati sovrapponibili, ma i dosaggi plasmatici di FSH (ormone follicolo-stimolante) e AMH (ormone anti-mulleriano) erano significativamente più favorevoli nel gruppo di pazienti trattate con il solo ABVD. L'analisi multivariata ha mostrato che l'utilizzo durante la chemioterapia di analoghi del GnRH è stato, in questa coorte di pazienti, un fattore ad alto significato prognostico per la preservazione della fertilità (odds ratio: 12.87, P = 0.001)<sup>117</sup>.

A conferma di quanto già da tempo noto, un recente studio EORTC<sup>118</sup> in donne con pregressa malattia di Hodgkin conferma la minore gonatotossicità dei regimi senza alchilanti e quantifica il rischio cumulativo di insufficienza ovarica precoce nel 3% delle pazienti, verso il 60% di pazienti che avevano ricevuto alchilanti.

Nei maschi lungo sopravvivenza da linfoma sembra opportuno un monitoraggio del livello sierico degli ormoni sessuali nel corso del follow up, specialmente se trattati con chemioterapia ad alte dosi<sup>119</sup>.

Più della metà dei pazienti con tumori germinali del testicolo presentano una spermatogenesi compromessa di base, ancora prima di iniziare il trattamento citotossico. Nel 25% dei pazienti fertili trattati con chemioterapia, compare azospermia a un follow di 2-5 anni<sup>120</sup>. Il tasso di infertilità permanente sembra prevedibile sulla base della dose cumulativa di cisplatino somministrata: a dosi inferiori a 400 mg/m<sup>2</sup> gli effetti a lungo termine sono improbabili, mentre dosi maggiori sono associate a una disfunzione endocrino-gonadica permanente<sup>121</sup>.

Riguardo alla terapia endocrina adiuvante, è noto che tamoxifen comporta un rischio di menopausa precoce basso e correlato all'età: oltre i 45 anni il rischio è del 10% superiore al controllo<sup>102</sup>. L'impegno di tamoxifen sequenziale alla chemioterapia provoca un aumento statisticamente significativo del rischio di menopausa rispetto alla sola chemioterapia<sup>122,123</sup>.

Gli analoghi di luteinizing hormone- o gonadotropin-releasing hormone (LH-RH o GnRH) determinano una soppressione ovarica per definizione transitoria. Tuttavia la reversibilità dipende fortemente dall'età della paziente: la ripresa del flusso mestruale è attesa nel 90% delle pazienti di età inferiore a 40, rispetto al 70% delle pazienti di età superiore<sup>80,124</sup>.

**In entrambi i sessi, il maggior rischio di infertilità iatrogena è associato agli agenti alchilanti. Un basso rischio è associato a metotrexate, fluorouracile, vincristina, vinblastina, bleomicina e dactinomina. I dati relativi al rischio da taxani non sono ancora conclusivi. Il tamoxifene comporta un rischio di menopausa precoce basso e correlato all'età; la reversibilità della soppressione ovarica con LHRH analoghi dipende fortemente dall'età della paziente.**

### 3.2 Radioterapia

Quando il testicolo viene esposto a radiazioni, la conta spermatica comincia a ridursi in misura proporzionale al dosaggio ricevuto, con conseguente sterilità temporanea (al di sotto dei 6 Gy) o permanente (per dosi superiori)<sup>111,125</sup>.

Con le moderne tecniche di irradiazione conformazionale su sede lombo-aortica, con dosi < 30 Gy e appropriata schermatura testicolare, l'infertilità radioindotta è un'evenienza rara nei pazienti sottoposti a radioterapia profilattica per seminoma<sup>121</sup>. La conta spermatica è più bassa a 4-6 mesi, per poi tornare tipicamente ai livelli pretrattamento in 10-24 mesi<sup>114</sup>; solo il 3-6% rimane azospermico a 2 anni<sup>126</sup>.

A differenza dell'epitelio germinale, le cellule di Leydig sono meno suscettibili al danno radioindotto, soprattutto in età adulta<sup>65,127</sup>. In un recente studio su pazienti sottoposti a TBI (total-body irradiation) nell'ambito di trattamenti combinati ad alte dosi, una disfunzione delle cellule di Leydig compare nel 23% dei casi<sup>128</sup> ma il danno sulla linea germinale è molto rilevante, fino all'80% dei pazienti<sup>129,130</sup>.

Sul versante diagnostico, la tossicità gonadica nel maschio può essere studiata mediante determinazione del livello plasmatico degli ormoni sessuali, analisi del seme e biopsia testicolare. Quando l'infertilità sia esclusivamente secondaria a deficit ormonale, è sufficiente una banale terapia sostitutiva<sup>131</sup>.

Per quanto riguarda le donne, una dose compresa tra 5 e 20 Gy sull'ovaio è sufficiente per causare una permanente disfunzione gonadica, indipendentemente dall'età della paziente. Alla dose di 30 Gy la menopausa precoce è certa nel 60% delle donne con età inferiore a 26 anni<sup>132,133</sup>. Oltre i 40 anni, laddove la conta follicolare ovarica è fisiologicamente inferiore, sono sufficienti dosi di 5 o 6 Gy per provocare un danno permanente. La TBI, in corso di condizionamento pre-trapianto di cellule staminali, è associata ad una disfunzione gonadica permanente in più del 90% delle donne trattate<sup>134</sup>, con una incidenza di gravidanza post-trattamento inferiore al 3%<sup>114,135-137</sup>. Uno studio francese<sup>138</sup> su donne lungosopravvivenenti a neoplasie pediatriche documenta, in caso di radioterapia addominale con esclusione della pelvi, un regolare sviluppo sessuale e la possibilità di una gravidanza rispettivamente nel 91% e nel 40% delle pazienti, rispetto al 37% e 19% nel caso di irradiazione pelvica. L'esposizione a radioterapia può influenzare negativamente anche lo sviluppo uterino cui può seguire, in caso di gravidanza, un maggior rischio di aborto spontaneo o un ritardo di crescita intrauterina del feto<sup>133,139</sup>. Un recupero della funzione ovarica per trattamenti ricevuti prima della pubertà è più frequente in caso di maggior frazionamento della dose<sup>130</sup>. Bambine e adolescenti sottoposte a irradiazione ipotalamo/ipofisaria con una dose di 30 Gy hanno una probabilità di futura gravidanza più bassa in confronto ai controlli<sup>108</sup>, dato confermato anche da studi più recenti<sup>140</sup> per dosi di 22-27 Gy.

A differenza dell'uomo, nelle donne è più indaginoso ottenere misure attendibili di tossicità gonadica dopo i trattamenti antitumorali, soprattutto per la più difficoltosa accessibilità dell'ovaio alla biopsia.

In passato, il ritorno del ciclo mestruale era considerato unico marcatore di ripresa della funzione ovarica; tuttavia, benché facile da valutare, l'attendibilità dell'attività mestruale come segno di ripresa della funzione ovarica è assai discutibile. Livelli premenopausali di estradiolo sono stati riscontrati in donne con amenorrea chemioindotta<sup>141</sup> e, viceversa, la presenza di cicli mestruali non è sinonimo di fertilità: infatti, la ciclicità mestruale può essere mantenuta anche in casi in cui ci sia stato un danno gonadotossico rilevante che ha accelerato la fisiologica riduzione del patrimonio follicolare (riserva ovarica)<sup>142</sup>. La riserva ovarica è la potenzialità funzionale dell'ovaio data dal numero e dalla qualità degli ovociti in un dato momento. La riserva ovarica è dipendente dall'età, dalla esposizione ad altri fattori tossici per l'ovaio (fumo, interventi chirurgici ecc) e dal patrimonio follicolare individuale. La riserva ovarica può quindi essere ridotta rispetto all'età anche prima dell'inizio di terapie gonadotossiche. I test di valutazione più adeguati per valutare l'aspetto quantitativo della riserva ovarica sono il dosaggio dell'AMH e la conta ecografica trans-vaginale dei follicoli preantrali, ma anche altri dosaggi ormonali (livelli di FSH, LH, estradiolo, progesterone e di inibina B) possono essere d'aiuto<sup>80,141,143</sup>.

In attesa che i nuovi e promettenti indicatori di riserva ovarica, in particolare l'AMH e il conteggio dei follicoli preantrali, dimostrino la loro reale attendibilità, i criteri più usati per definire la disfunzione ovarica post-trattamento sono la ripresa dell'attività mestruale, il dosaggio di FSH, LH, estradiolo e progesterone nel siero, ed evidenze cliniche di ripresa dell'attività ovarica.

**Un dosaggio di 6 Gy a livello testicolare comporta una sterilità temporanea, che diventa permanente per dosaggi superiori. Per quanto riguarda le donne, una dose compresa tra 5 e 20 Gy sull'ovaio è sufficiente per causare una permanente disfunzione gonadica, indipendentemente dall'età della paziente. Alla dose di 30 Gy la menopausa precoce è certa nel 60% delle donne con età inferiore ai 26 anni.**

#### 4. Tecniche di preservazione della fertilità'

Lo specialista oncologo deve possedere le competenze che gli permettano di stimare il rischio di infertilità per ciascun trattamento e valutare quando tale rischio risulti sufficientemente elevato da dover ricorrere alla conservazione dei gameti prima dell'inizio delle terapie. In quest'ultimo caso, è indispensabile offrire ai pazienti un percorso privilegiato e rapido per la crioconservazione degli spermatozoi o degli ovociti/tessuto ovarico, stabilendo una rete con centri di medicina della riproduzione oppure organizzando un servizio di crioconservazione dei gameti collegato al servizio oncologico stesso.

Risulta quindi fondamentale che lo specialista oncologo stabilisca una comunicazione efficace con lo specialista in medicina della riproduzione per la definizione delle strategie di preservazione della fertilità e per la tempistica delle terapie oncologiche.

Come stabilito dalle linee guida dell'American Society of Clinical Oncology (ASCO) e dell'American Society for Reproductive Medicine (ASRM), il counselling riproduttivo ai giovani pazienti oncologici andrebbe proposto subito dopo la diagnosi e la successiva stadiazione della malattia oncologica, così da avere il tempo necessario per condividere le migliori strategie di preservazione della fertilità, che variano a seconda della prognosi oncologica e riproduttiva. Già durante i primi accertamenti oncologici, è indicato eseguire un profilo ormonale di base e un dosaggio di AMH a tutte le pazienti in età riproduttiva che devono sottoporsi a trattamenti potenzialmente gonadotossici sia per poter effettuare un più accurato counselling riproduttivo sia per valutare l'effetto della terapia sulla successiva fertilità<sup>144</sup>.

Il counselling riproduttivo va eseguito da un medico che abbia adeguate competenze oncologiche e di medicina della riproduzione. Il counselling richiede comunque un approccio multidisciplinare e una comunicazione efficace fra oncologo e medico della riproduzione. Durante il counselling va indagato l'interesse del paziente ad una futura gravidanza, maternità o paternità. Va dunque stimato il rischio di infertilità del trattamento proposto e la prognosi oncologica. Se il paziente è interessato e ne ha l'indicazione, vanno illustrate le diverse metodiche di preservazione dei gameti o di riduzione della tossicità gonadica a disposizione.

Nella tabella 3 sono riportati alcuni spunti utili per affrontare un corretto counselling riproduttivo.

**La corretta informazione sui rischi di infertilità iatrogena e sulle strategie disponibili per ridurre l'incidenza di tale effetto (counselling riproduttivo) andrebbe proposto ai giovani pazienti oncologici subito dopo la diagnosi e la successiva stadiazione della malattia oncologica. Il counselling richiede un approccio multidisciplinare e una comunicazione efficace fra oncologo e medico della riproduzione.**

**Tabella 3.** Punti di discussione tra medico e paziente: metodi di preservazione della fertilità nei pazienti oncologici

<p>-I trattamenti antitumorali causano infertilità in maniera variabile in base a diversi fattori: fattori individuali (malattia, età), trattamento e dosaggio, pregressi trattamenti per la fertilità.</p> <p>-I pazienti interessati a una delle strategie di preservazione della fertilità dovrebbero accedervi il prima possibile per aumentare le probabilità di successo delle stesse; per esempio, alcune tecniche utilizzate nelle donne possono essere eseguite solo in un preciso momento del ciclo mestruale. La discussione con gli specialisti nel campo della riproduzione è fondamentale per il processo decisionale da parte dei pazienti e la pianificazione delle corrette tecniche utilizzabili.</p> <p>-I 3 metodi di preservazione della fertilità con la maggiore probabilità di successo sono la criopreservazione del seme per l'uomo e la criopreservazione di embrioni e ovociti per la donna; inoltre, approcci di chirurgia conservativa, trasposizione delle ovaie o appropriata schermatura delle gonadi prima del trattamento radiante, possono consentire la preservazione della fertilità in alcuni selezionati pazienti.</p> <p>-I dati disponibili sono scarsi, ma non sembra che le tecniche di preservazione della fertilità o una successiva gravidanza siano associate a un maggior rischio di recidiva di malattia, neanche nei tumori ormono-responsivi.</p> <p>-A parte per alcune sindromi ereditarie genetiche o per esposizione in utero alla chemioterapia, non c'è evidenza che una storia di cancro, trattamenti antitumorali o l'utilizzo di tecniche di preservazione della fertilità aumentino il rischio oncologico o di avere malformazioni congenite nella progenie.</p> <p>-L'infertilità come conseguenza dei trattamenti antitumorali ricevuti può essere associata a un importante distress psicosociale.</p>
---

Modificata rispetto all'originale: Lee S et al: *ASCO recommendations on fertility preservation in cancer patients*, J. Clin. Oncol. 2006

#### 4.1 Il quadro legislativo Italiano

La crioconservazione di embrioni, che è l'unica tecnica di preservazione della fertilità femminile tutt'ora considerata "non sperimentale", è vietata in Italia dall'articolo 14 comma 1 della Legge 19 Febbraio 2004, n. 40 "Norme in materia di procreazione medicalmente assistita".

Le modificazioni all'applicazione della Legge 40 introdotte dalla Sentenza della Corte Costituzionale N° 51 del 2009, pur avendo ampliato le eccezioni al divieto di crioconservazione di embrioni soprannumerari derivanti dall'applicazione delle tecniche riproduttive, non hanno abolito il comma 1 dell'articolo 14 lasciando inalterato il divieto a produrre embrioni per la crioconservazione.

Inoltre, essendo le tecniche riproduttive applicabili solo a coppie infertili secondo l' Art. 4 ("Accesso alle tecniche") comma 1, non sarebbe comunque consentita la fertilizzazione in vitro in una coppia che non ha una accertata infertilità.

Per questo motivo le Raccomandazioni Italiane non includono la crioconservazione di embrioni fra le tecniche di preservazione della fertilità femminile.

Inoltre, la legge 40 all'articolo 4 comma 3 vieta il ricorso a tecniche di procreazione medicalmente assistita di tipo eterologo e in tutto l'impianto della Legge non è prevista la possibilità della "surrogacy" (gestazione di un embrione e parto per conto di altri), pratica consentita in altri paesi. Questi aspetti legislativi che potrebbero riguardare l'utilizzo dei gameti crioconservati in alcune pazienti oncologiche in cui l'utero sia stato rimosso nel corso del trattamento vanno tenuti presenti nel valutare le possibili indicazioni/richieste di preservazione della fertilità ed eventualmente discussi con le pazienti.

<p><b>In Italia la crioconservazione di embrioni, che è l'unica tecnica di preservazione della fertilità femminile tutt'ora considerata "non sperimentale", è vietata dall'articolo 14 comma 1 della Legge 19 Febbraio 2004, n. 40.</b></p>
---

## 4.2 Tecniche di preservazione della fertilita' nell'uomo

Dai dati oggi disponibili, la criopreservazione del seme rappresenta una strategia efficace di preservazione della fertilità nei giovani pazienti che devono sottoporsi a trattamenti antitumorali; al contrario della donna, nell'uomo, la protezione gonadica attraverso la manipolazione ormonale non risulta efficace; d'altra parte la criopreservazione del tessuto testicolare o degli spermatozoi con reimpianto e lo xenotrapianto testicolare sono in fase di sperimentazione e non sono ancora stati testati con successo nell'uomo.

A differenza di quanto succede nella donna, nell'uomo il ricorso a queste tecniche, se adeguatamente programmate, non comporta un ritardo nell'inizio del trattamento antitumorale. La tabella seguente riassume le tecniche di preservazione della fertilità nell'uomo oggi disponibili.

**Tabella 4.** Riassunto delle strategie di preservazione della fertilità nell'uomo

TECNICA	DEFINIZIONE	COMMENTI
Criopreservazione del seme dopo masturbazione (St)	Congelamento del seme dopo masturbazione.	Rappresenta la tecnica più consolidata per preservare la fertilità nell'uomo; importanti studi di coorte in pazienti oncologici.
Criopreservazione del seme ottenuto attraverso metodi alternativi di raccolta (St)	Congelamento del seme ottenuto attraverso aspirazione o estrazione testicolare, elettroeiaculazione sotto sedazione, o da un campione di urine ottenuto dopo masturbazione.	Piccole serie di casi e case report.
Schermatura gonadica durante radioterapia (St)	Utilizzo di appropriate schermature per ridurre la dose di radiazioni ricevuta dal testicolo.	Serie di casi.
Criopreservazione di tessuto testicolare; xenotrapianto testicolare; isolamento degli spermatozoi (Sp)	Congelamento di tessuto testicolare o cellule della linea germinale e successivo reimpianto dopo i trattamenti antitumorali o maturazione in animali.	Non ancora testato nell'uomo; testato con successo negli animali.
Soppressione testicolare con analoghi LHRH o antagonisti (Sp)	Utilizzo di terapie ormonali per proteggere il tessuto testicolare durante chemioterapia o radioterapia.	Studi clinici non dimostrano l'efficacia di questa tecnica.

St: standard; Sp: sperimentale

Modificata rispetto all'originale: Lee S et al: *ASCO recommendations on fertility preservation in cancer patients*, J. Clin. Oncol. 2006

#### 4.2.1 Crioconservazione del seme

La crioconservazione del seme rappresenta una strategia efficace di preservazione della fertilità che, se adeguatamente programmata, non richiede tempi lunghi e dovrebbe essere offerta a tutti gli uomini prima di iniziare trattamenti potenzialmente gonadotossici <sup>145</sup>.

Con la tecnica ICSI è possibile ottenere gravidanze anche con pochissimi spermatozoi, pertanto la crioconservazione del seme deve essere proposta anche quando la qualità dell'eiaculato è molto scarsa come può succedere anche in rapporto al tipo di neoplasia (soprattutto neoplasie del testicolo e linfoma di Hodgkin <sup>146,147</sup>) o alle condizioni generali dei pazienti oncologici.

Tuttavia, nei pazienti oncologici che si rivolgono alle banche del seme, è stata riportata una percentuale di azospermia variabile fra il 3,9 % e il 13 % in cui la crioconservazione di sperma non è stata possibile <sup>146,148</sup>.

E' fortemente raccomandato che il prelievo del seme venga effettuato prima dell'inizio delle terapie antitumorali in quanto la qualità del campione e l'integrità del DNA degli spermatozoi possono essere compromessi anche dopo un solo ciclo di trattamento <sup>149-152</sup>.

Il seme per la crioconservazione viene generalmente raccolto con masturbazione. E' particolarmente importante in questi pazienti rendere confortevoli le condizioni della raccolta per evitare l'insuccesso. Il numero di raccolte necessarie per garantire un adeguato stoccaggio dipende dalla qualità del liquido seminale ma è opportuno prevedere più raccolte, pertanto l'avvio dei pazienti alla banca del seme deve essere tempestivo. La conoscenza della situazione sierologica (HBs Ag, anti-HBc e anti-HBs, HIV1 e 2, CMV, VDRL-TPHA, HCV) dei pazienti è indispensabile prima dello stoccaggio dei campioni. Durante il counselling per la crioconservazione del seme si dovrebbero richiedere o consegnare, se già disponibili, al paziente questi esami. Sebbene, a differenza di quanto succede nella donna, nell'uomo la preservazione dei gameti, se adeguatamente programmata, non comporta un ritardo nell'inizio del trattamento antitumorale, alcuni pazienti non hanno il tempo per eseguire raccolte plurime, limitando così i campioni di eiaculato disponibili. La crioconservazione riduce la qualità del liquido seminale e il paziente deve essere informato della possibilità che non ci siano spermatozoi utilizzabili dopo scongelamento. Per valutare l'effetto della crioconservazione sui campioni si esegue in genere un test di scongelamento con una paillettes poco dopo lo stoccaggio.

Nei pazienti azoospermici già prima di iniziare le terapie gonadotossiche è possibile effettuare un prelievo chirurgico di spermatozoi dai testicoli (TESE: Testicular sperm extraction ) che richiede una buona programmazione fra urologo e biologo della riproduzione ed è efficace solo nel 50 % dei casi <sup>153</sup>.

**La crioconservazione del seme rappresenta una strategia efficace di preservazione della fertilità e dovrebbe essere offerta a tutti gli uomini desiderosi di preservare la fertilità prima di iniziare trattamenti potenzialmente gonadotossici (Livello di evidenza: 2+; Grado di raccomandazione: raccomandazione positiva forte).**

#### Utilizzo/Gravidanze e nati con spermatozoi crioconservati

Non è mai stato definito un limite per la durata della crioconservazione: sono riportate gravidanze ottenute con seme scongelato dopo 21 e 28 anni <sup>154</sup>.

Per utilizzare gli spermatozoi crioconservati è quasi sempre necessario effettuare un ciclo di stimolazione ovarica sul partner femminile, prelevare gli ovociti, inseminarli in vitro con tecnica ICSI e trasferire gli embrioni sviluppati in utero. L'utilizzo degli spermatozoi crioconservati con altre tecniche (Inseminazione Intrauterina-IUI) in alcuni casi non è possibile per la ridotta qualità del seme e comunque, anche quando possibile, è meno efficace (Tabella 5).

La tecnica ICSI con seme crioconservato è una procedura consolidata con buone possibilità di successo e ampie casistiche nelle coppie infertili. Nei pazienti oncologici che hanno utilizzato gli spermatozoi crioconservati prima del trattamento, i tassi di successo con la tecnica ICSI variano dal 20 al 50% per ciclo nelle varie casistiche: si calcola che i tassi cumulativi di successo per paziente siano del 40 -60%.

Tuttavia molti studi dimostrano come solo una minoranza di pazienti (dal 5% al 16% nelle varie casistiche) utilizzi effettivamente il seme crioconservato prima dei trattamenti <sup>156,158,163-165</sup>.

Giovane età al momento della criopreservazione e diagnosi di cancro testicolare sono i fattori associati a una minor utilizzazione del seme <sup>148,158,161,162</sup>.

La criopreservazione del seme dovrebbe essere raccomandata anche ai pazienti oncologici di età inferiore ai 15 anni; la produzione spermatica nell'uomo inizia intorno ai 13-14 anni, ma una volta che questa sia iniziata, l'età non sembra influire sulla qualità del seme prodotto <sup>166</sup>. Si è visto che il tasso di successo della criopreservazione del seme in questi casi (definita come l'osservazione di almeno uno spermatozoo mobile dopo lo scongelamento) è simile a quello osservato negli adulti <sup>167</sup>.

Soprattutto per i pazienti più giovani, dove la raccolta del seme può presentare maggiori difficoltà sono state proposte tecniche di stimolazione del pene con vibratori o di elettroeiaculazione <sup>168-170</sup>.

**La tecnica ICSI con seme crioconservato è una procedura consolidata con buone possibilità di successo anche quando la qualità dell'ejaculato è molto scarsa. Nei pazienti oncologici che hanno utilizzato gli spermatozoi crioconservati prima del trattamento i tassi di successo con la tecnica ICSI variano dal 20 al 50% per ciclo. Tuttavia, solo una minoranza dei pazienti (5-16%) effettivamente utilizza il seme crioconservato prima dei trattamenti.**

**Tabella 5.** Risultati ottenuti con seme crioconservato in pazienti oncologici nelle varie tecniche di riproduzione assistita

AUTORE	N° CICLI	IUI	IVF	ICSI
Kelleher et al 2001 <sup>155</sup>	91	11/35 (31.4%)*	6/28 (21.4%)	12/28 (42.8%)
Ragni et al 2003 <sup>148</sup>	88	3/40 (7.5%)	0/6 (0%)	11/42 (26.2%)
Blackhall et al 2002 <sup>156</sup>	178	8/66(12%)	-	26/112 (23.2%)
Schmidt et al 2004 <sup>157</sup>	151	4/24 (16.7%)	-	19/49 (34.7%)
Agarwal et al 2004 <sup>158</sup>	87	7/42 (7%)	5/26 (19%)	4/19 (21%)
Hourvitz et al 2008 <sup>159</sup>	169	-	13/54 (24.1%)	85/169 (50.3%)
Van Casteren 2008 <sup>160</sup>	101	1/7 (14%)	8/32 (25%)	16/53 (30%)
Freour et al 2011 <sup>161</sup>	178	8/66 (12%)		26/112 (23.2%)
Bizet et al 2012 <sup>162</sup>	127	5/39 (12.8%)	2/7 (12.8%)	23/71 (32.4%)

IUI: Inseminazione intrauterina; IVF Fertilizzazione in vitro e embryo transfer; ICSI: Inseminazione intracitoplasmatica di ovocita e trasferimento di embrioni in utero

#### 4.2.2 Protezione gonadica con trattamenti ormonali

L'efficacia della manipolazione ormonale nel proteggere il tessuto gonadico durante i trattamenti chemioterapici è stata valutata solo in piccoli studi. La manipolazione ormonale attraverso la soppressione gonadica con analogo LHRH non ha dimostrato essere nell'uomo una strategia di preservazione della fertilità efficace soprattutto quando usata con chemioterapici altamente gonadotossici <sup>171-174</sup>; in particolare lo studio di Waxman <sup>172</sup>, un piccolo studio randomizzato di fase III che includeva 30 uomini e 18 donne candidate a ricevere un trattamento chemioterapico per linfoma di Hodgkin, ha dato un risultato negativo in base alla conta spermatica nei 20 uomini trattati con l'analogo rispetto ai controlli.

Basandosi su evidenze precliniche ottenute da esperimenti sui ratti, un piccolo studio prospettico ha valutato l'effetto della soppressione dell'asse ipotalamo-ipofisi-gonadico associato alla somministrazione di testosterone in 7 uomini resi azoospermici da un precedente trattamento antitumorale citotossico o radiante ricevuto da bambini: a 12 mesi dal termine del trattamento non è stata osservata una ripresa della spermatogenesi in nessuno dei pazienti trattati <sup>175</sup>. Al contrario, un piccolo studio che ha valutato l'efficacia del testosterone in pazienti non oncologici trattati con ciclofosfamide per glomerulonefriti ha dimostrato qualche beneficio <sup>176</sup>.

**Al contrario della donna, nell'uomo la protezione gonadica attraverso la manipolazione ormonale non risulta efficace (Livello di evidenza: 1-; Grado di raccomandazione: raccomandazione negativa debole).**



#### **4.2.3 Altri metodi di preservazione della fertilità nell'uomo**

Metodi quali la criopreservazione di tessuto testicolare con reimpianto<sup>177</sup> o l'innesto di tessuto testicolare umano in topi SCID per facilitare la spermatogenesi<sup>178,179</sup>, rimangono ad oggi del tutto sperimentali e non devono essere utilizzati nell'uomo al di fuori di sperimentazioni controllate. Da notare che queste due tecniche rappresentano le uniche potenzialmente utilizzabili nei ragazzi in età prepuberale<sup>180</sup>.

#### **4.3 Tecniche di preservazione della fertilità nella donna**

Le strategie di preservazione della fertilità nelle giovani donne che devono sottoporsi a trattamenti antitumorali dipendono da diversi fattori: età e riserva ovarica della paziente, tipo di trattamento, diagnosi, presenza o meno di un partner, tempo a disposizione prima di iniziare il trattamento, e possibilità che la neoplasia abbia metastatizzato alle ovaie<sup>181-184</sup>.

Le principali tecniche di preservazione della fertilità, standard e sperimentali, nelle giovani pazienti che devono sottoporsi a trattamenti antitumorali sono rappresentate da: criopreservazione di embrioni o ovociti (con o senza stimolazione ormonale), criopreservazione di tessuto ovarico, soppressione gonadica con analogo LH-RH, trasposizione ovarica, e chirurgia conservativa (Tabella 6).

Tra le tecniche di crioconservazione, a oggi, l'unica che abbia dimostrato risultati riproducibili, oltre alla crioconservazione degli embrioni, vietata in Italia dalla legge 40/2004, è la crioconservazione di ovociti maturi; altre opzioni quali la crioconservazione di tessuto ovarico o dell'intero ovaio e la crioconservazione di ovociti immaturi o maturati in vitro, sono ancora in fase sperimentale iniziale.

Rispetto a quanto succede nell'uomo, bisogna sottolineare come nella donna l'utilizzo di alcune di queste tecniche sia associato a un ritardo nell'inizio dei trattamenti antitumorali: da qui l'importanza di avviare le pazienti il più precocemente possibile agli esperti in questo campo.

**Le principali tecniche di preservazione della fertilità, standard e sperimentali, nelle giovani pazienti che devono sottoporsi a trattamenti antitumorali sono rappresentate da: criopreservazione di embrioni o ovociti (con o senza stimolazione ormonale), criopreservazione di tessuto ovarico, soppressione gonadica con analogo LH-RH, trasposizione ovarica, e chirurgia conservativa.**

**Tabella 6.** Riassunto delle strategie di preservazione della fertilità nella donna

TECNICA	DEFINIZIONE	COMMENTI	CONSIDERAZIONI
Criopreservazione degli ovociti (St)	Raccolta e congelamento degli ovociti non fecondati per un successivo utilizzo con tecnica ICSI e successivo impianto.	>2000 nascite in coppie infertili. Negli ultimi anni la metodica si è molto diffusa, soprattutto in Italia e i risultati si sono stabilizzati.	-Richiede 10-14 giorni di stimolazione ovarica; -procedura invasiva per il recupero ovocitario (day surgery).
Criopreservazione dell'embrione (St)	Raccolta degli ovociti, fecondazione in vitro e congelamento degli embrioni per un successivo impianto.	Tecnica usata da più tempo e quindi più consolidata. Richiede la presenza di un partner. Vietata in Italia dalla Legge 40/2004.	-Richiede 10-14 giorni di stimolazione ovarica; -procedura invasiva per il recupero ovocitario (day surgery).
Criopreservazione del tessuto ovarico e reimpianto (Sp)	Congelamento del tessuto ovarico e reimpianto dopo il trattamento antitumorale.	Con questa metodica la letteratura riporta la nascita di 17 bambini.	-Procedura chirurgica; -non eseguibile in presenza di rischio di complicazioni; -non eseguibile quando il rischio di interessamento ovarico è importante.
Schermatura gonadica durante radioterapia (St)	Utilizzo di appropriate schermature per ridurre la dose di radiazioni ricevuta dagli organi riproduttivi.	Serie di casi.	-Possibile solo per selezionati campi di irradiazione; -è necessaria una certa competenza per assicurare che la schermatura non aumenti la dose di radiazioni ricevuta dagli organi riproduttivi.
Trasposizione ovarica (ooforopessi) (St)	Riposizionamento chirurgico delle ovaie lontano dal campo di irradiazione.	Conservazione della funzione endocrina ovarica pari circa al 70%. Sono riportate gravidanze spontanee.	-Procedura chirurgica -la trasposizione dovrebbe essere fatta solo prima della radioterapia per prevenire il ritorno delle ovaie nella loro posizione originaria; -può richiedere il riposizionamento chirurgico e l'utilizzo di tecniche di riproduzione in vitro.
Chirurgia ginecologica conservativa (St e Sp)	Chirurgia che sia il più conservativa possibile.	Ampia serie di casi.	-Procedura chirurgica; -possibile solo negli stadi precoci di malattia; -competenze non disponibili in tutti i centri.
Soppressione ovarica con analoghi LHRH o antagonisti (Sp)	Utilizzo di terapie ormonali per proteggere il tessuto ovarico durante chemioterapia.	Studi clinici di fase III in corso con risultati promettenti.	-La terapia viene effettuata prima e durante la chemioterapia; -metodo semplice e più economico; -potenziale preservazione non solo della fertilità ma dell'intera funzione ovarica.

#### **4.3.1 Trasposizione ovarica (ooforopessi)**

La trasposizione ovarica consiste nello spostare chirurgicamente le ovaie il più lontano possibile dal campo di irradiazione e può essere offerta alle pazienti che devono essere sottoposte a irradiazione pelvica (> 2Gy su entrambe le ovaie). La procedura può essere effettuata per via laparoscopica se una laparotomia non è necessaria per il trattamento primario della neoplasia<sup>185-187</sup>. I legamenti utero-ovarici vanno sezionati per permettere la mobilizzazione delle ovaie il più in alto possibile fuori dalla pelvi. Le ovaie vengono in genere fissate nelle logge paracoliche con sutura non riassorbibile. E' indispensabile che la sede in cui si posizionano le ovaie sia identificabile dal radioterapista mediante 2 o tre clip metalliche ai poli. L'intervento può essere complicato in presenza di aderenze pelviche. Nel medesimo intervento è possibile eseguire un prelievo di tessuto ovarico per crioconservazione.

A causa di un possibile spostamento delle ovaie precedentemente trasposte, questa procedura dovrebbe essere eseguita quanto più possibile vicino al momento del trattamento radiante stesso<sup>188</sup>. Il tasso di successo di questa tecnica, valutato come preservazione della funzione mestruale a breve termine, raggiunge il 70 %: i principali motivi del fallimento di questa tecnica sono rappresentati dalla possibile dispersione di radiazioni al tessuto gonadico e da una possibile alterazione della perfusione ovarica; inoltre, parametri importanti sono rappresentati dalla dose totale di radiazioni somministrate e dalla quota di esse effettivamente ricevute dall'ovaio<sup>189</sup>. Anche l'età della paziente influenza il successo della metodica. Non è indicato eseguire la trasposizione ovarica per preservare la fertilità dopo i 40 anni. Il riposizionamento delle ovaie al termine del trattamento non è sempre necessario. Esistono piccole serie di casi in letteratura che dimostrano il recupero della fertilità e successive gravidanze spontanee in donne con ovaie trasposte<sup>190,191</sup>. In caso si debba ricorrere a tecniche di riproduzione assistita dopo trasposizione ovarica, il recupero degli ovociti si fa più complicato con quindi la necessità di riposizionare le ovaie nella pelvi, per evitare di dover estrarre gli ovociti per via percutanea con conseguente aumentato rischio di ridurre l'efficacia della procedura. Altri limiti della tecnica sono dati dalla possibile disfunzione ovarica dovuta alla presenza di cisti ovariche e dal rischio teorico di una maggiore difficoltà di diagnosi di un eventuale tumore ovarico essendo le ovaie non più palpabili clinicamente e in sede non adeguatamente valutabile con ecografia trans-vaginale<sup>192-194</sup>.

**La trasposizione ovarica andrebbe proposta a tutte le giovani donne che devono essere sottoposte a irradiazione pelvica: il tasso di successo di questa tecnica, valutato come preservazione della funzione mestruale a breve termine, raggiunge il 70 % (Livello di evidenza: 3; Grado di raccomandazione: raccomandazione positiva forte).**

#### **4.3.2 Crioconservazione di tessuto ovarico**

E' una tecnica interessante, ma ancora sperimentale, che ha il vantaggio di non richiedere né un partner né una stimolazione ormonale, e che offre importanti prospettive per preservare sia la funzione riproduttiva sia l'attività steroidogenica. Può essere effettuata in qualsiasi momento del ciclo mestruale, e permette quindi di evitare il ritardo nell'inizio del trattamento chemioterapico, ma necessita di un intervento chirurgico laparoscopico per il prelievo di frammenti di corticale ovarica<sup>195,196</sup>. E' indicata in donne con età inferiore a 38 anni con riserva ovarica adeguata. Il successo della crioconservazione del tessuto ovarico in donne con età superiore è incerto per il ridotto numero di follicoli primordiali rimasti<sup>197</sup>. Controindicazioni assolute sono patologie ad elevato rischio di metastasi ovariche (leucemie, tumori ovarici, tumori solidi metastatici al peritoneo) ed elevato rischio chirurgico<sup>198</sup>.

La rimozione del tessuto ovarico per la crioconservazione necessita di un intervento chirurgico laparoscopico in anestesia generale che richiede circa un'ora di tempo. I follicoli primordiali possono essere congelati in maniera efficace, ma a causa dell'iniziale ischemia a cui vanno incontro durante il prelievo, un quarto o più di questi follicoli può andare perduto (la quantità di tessuto ovarico da asportare dipende dalla riserva ovarica).

Questa tecnica viene utilizzata da circa 10 anni: il primo caso è stato eseguito nel 2000<sup>199</sup> mentre l'ultimo è nato a Torino a marzo 2012.

Il reimpianto può essere effettuato ortotopicamente (nelle sede ovarica dove è stato effettuato il prelievo) o eterotopicamente lontano dalle ovaie in siti particolarmente vascolarizzati (per esempio sotto la pelle dell'avambraccio). Per il reimpiano ortotopico possono essere necessarie due laparoscopie a distanza di pochi giorni una dall'altra, la prima per creare il sito d'impianto e stimolare la neoangiogenesi, la seconda per suturare al sito di impianto i frammenti di tessuto scongelati. La ripresa della funzionalità endocrina ovarica si ottiene dopo entrambi i tipi di reimpianto ma solo con reimpianto ortotopico si sono ottenute gravidanze<sup>200</sup>.

Ad oggi sono stati effettuati reimpianti in una cinquantina di pazienti e sono state ottenute 17 gravidanze (sia spontaneamente sia mediante tecnica di fecondazione assistita): la percentuale di ripresa della funzionalità ovarica è elevata (90-100%) ma la sua durata è ancora limitata (massimo qualche anno)<sup>201</sup>.

Una preoccupazione circa il reimpianto di tessuto ovarico nelle pazienti oncologiche è rappresentato dalla potenziale reintroduzione di cellule cancerose<sup>202-204</sup>.

Nelle pazienti senza evidenza di metastasi a distanza, la probabilità di avere metastasi occulte ovariche è molto bassa, e ad oggi, pur con il limite del numero basso di procedure effettuate, non c'è nessun caso segnalato di ricaduta di malattia dopo reimpianto di tessuto ovarico. Tuttavia è indispensabile prevedere un adeguato screening preoperatorio per escludere un possibile coinvolgimento ovarico e un'attenta analisi istologica con tutte le metodiche disponibili sui frammenti prima del reimpianto<sup>205-209</sup>.

Come già detto precedentemente, questa tecnica di preservazione della fertilità deve essere considerata sperimentale e quindi attuata solo in centri con adeguate competenze all'interno di protocolli clinici approvati, ponendo anche attenzione nel follow-up di queste pazienti, ad una eventuale ripresa di malattia. Solo alcuni centri Italiani hanno un programma di preservazione del tessuto ovarico<sup>210-212</sup>. E' stato tuttavia dimostrato che il tessuto ovarico può essere crioconservato con successo anche dopo trasporto da una città ad un'altra. Sono già nati bambini da tessuto ovarico trasportato da una città all'altra<sup>213</sup>.

Per le pazienti a cui non è possibile reimpiantare tessuto ovarico per l'elevato rischio metastatico potrebbe in futuro essere possibile maturare in vitro i follicoli isolati dal tessuto ovarico prelevato e crioconservato e ottenere da questi follicoli, ovociti da utilizzare in tecniche di procreazione medicalmente assistita (PMA). Questa metodica, che non ha ancora dato risultati utilizzabili nella pratica clinica, eviterebbe anche il ricorso all'intervento chirurgico laparoscopico necessario per il reimpianto<sup>214,215</sup>.

**La crioconservazione di tessuto ovarico è una tecnica ancora sperimentale, che ha il vantaggio di non richiedere né un partner né una stimolazione ormonale. Può essere effettuata in qualsiasi momento del ciclo mestruale, e permette quindi di evitare il ritardo nell'inizio del trattamento chemioterapico (Livello di evidenza: 3 Grado di raccomandazione: raccomandazione positiva debole). Ad oggi sono stati effettuati reimpianti in una cinquantina di pazienti e sono state ottenute 17 gravidanze.**

#### **4.3.3 Crioconservazione ovocitaria**

Questo approccio rappresenta un'importante strategia di preservazione della fertilità nei paesi come l'Italia dove la crioconservazione dell'embrione è vietata ma anche per quelle pazienti che non hanno un partner o che per motivi etico-religiosi non accettano il congelamento degli embrioni. E' indicato in pazienti che hanno la possibilità di rinviare il trattamento chemioterapico di 2-3 settimane e che hanno una riserva ovarica adeguata per il recupero di un numero sufficiente (8-15) di ovociti<sup>216,217</sup>.

In breve, la metodica prevede due fasi cliniche e una fase di laboratorio:

1) **Induzione della crescita follicolare multipla** (stimolazione): iniezione sottocutanea giornaliera di gonadotropine e associazione di una seconda iniezione sottocutanea per evitare l'ovulazione spontanea precoce con un analogo in genere antagonista del GnRH. La durata della stimolazione può variare da 9 a 15 giorni e deve essere "monitorata" con ecografie trans-vaginali seriate (circa ogni 2-3 giorni) e possibilmente con dosaggi seriatati di 17-beta estradiolo, per modificare i dosaggi di gonadotropine in relazione alla risposta che è individuale, e per stabilire il momento opportuno per indurre l'ovulazione con una iniezione di hCG e programmare il prelievo eco-guidato degli ovociti a 34-38 ore di distanza. Nei **protocolli standard** l'induzione della crescita follicolare multipla inizia nei primi giorni della fase follicolare ed è quindi necessario attendere la comparsa del ciclo mestruale, cosa che in alcuni casi può ulteriormente ritardare

l'inizio della chemioterapia. Per le pazienti oncologiche, sono stati quindi proposti dei “**Protocolli di emergenza**” che prevedono l'inizio della stimolazione in qualsiasi giorno del ciclo mestruale in cui si trovi la paziente al momento della decisione di intraprendere una preservazione della fertilità con congelamento ovocitario. Nei pochissimi cicli effettuati con questo approccio, il recupero ovocitario è stato buono<sup>218-220</sup>. Per donne con tumori ormono-responsivi (mammella, endometrio), sono stati sviluppati approcci alternativi di stimolazione ormonale utilizzando il tamoxifene o il letrozolo, così da ridurre il rischio potenziale di esposizione ad elevate concentrazioni di estrogeni<sup>221-223</sup>.

L'utilizzo del Letrozolo nei cicli di stimolazione è molto limitato, specialmente in Italia, perché “off label”. Il farmaco è stato controindicato in donne in stato ormonale pre-menopausale sulla base di dati allarmanti sull'incidenza di malformazioni nei nati (4.7% in 150 bambini nati dopo uso di letrozolo vs 1.8% in 36050 concepimenti fisiologici) pubblicati in un abstract presentato alla ASRM nel 2005<sup>224</sup>. Quei dati sono stati in seguito criticati e sconfessati da più ampie casistiche (incidenza malformazioni 514 bambini nati dopo letrozolo vs. 297 bambini nati dopo CC 2.4% vs 4.8%<sup>225</sup>) ma la nota AIFA non è mai stata ritirata.

Non è ancora chiaro se la risposta ovarica alla stimolazione nelle pazienti oncologiche sia peggiore rispetto ai controlli sani, ed eventualmente in quale patologia (sistemica o localizzata) bisogna attendersi una minore risposta. Una recente meta-analisi (227 cicli in pazienti oncologiche vs. 1258 cicli in pazienti infertili) riporta un minor numero di ovociti recuperati nei casi rispetto ai controlli (11.7 ±7.5 vs 13.5± 8.4) ma la dose di gonadotropine utilizzate fra i due gruppi era significativamente differente. Altri lavori successivi alla meta-analisi non hanno osservato differenze significative<sup>226,227</sup>. In tutti i casi la scelta del dosaggio di gonadotropine deve essere individualizzata per conciliare la migliore stimolazione con i minori rischi di iperstimolazione.

La sindrome da iperstimolazione ovarica è una temibile complicanza della fase di “stimolazione” che nelle forme più gravi (1% dei cicli di riproduzione assistita), si manifesta con eccessivo aumento del volume ovarico, versamento pelvi-peritoneale, emocoagulazione con possibile rischio trombotico, sofferenza epatica e renale, e necessita di ricovero e terapie intensive<sup>228,229</sup>. L'insorgenza di questa complicanza può rendere necessario un ritardo nell'inizio del trattamento oncologico. La scelta di un adeguato dosaggio di gonadotropine e l'eventuale sostituzione dell' hCG con GnRH analoghi per indurre la maturazione finale degli ovociti sono i principali approcci preventivi<sup>230,231</sup>.

In alcuni casi può essere necessario sospendere la stimolazione per evitare l'iperstimolazione.

L'aumentato rischio trombotico legato all'iperestrogenismo indotto dalla stimolazione deve essere attentamente preso in considerazione in casi già a rischio per il tipo di malattia oncologica.

2) **Prelievo eco guidato di ovociti:** è una procedura invasiva della durata di circa 10 minuti che in Italia viene eseguita in regime di day surgery in anestesia generale o locale. Le complicanze legate a questa fase (emorragie e perforazioni di organi addominali) sono estremamente rare.

3) **Valutazione, selezione e crioconservazione degli ovociti:** gli ovociti prelevati vengono valutati in laboratorio e quelli in metafase II vengono crioconservati o con tecnica slow-freezing o con vitrificazione. L'applicazione clinica della crioconservazione degli ovociti è stata più lenta e difficile di quella degli embrioni perché la cellula uovo è molto più sensibile ai danni da congelamento e per molto tempo i tassi di sopravvivenza ovocitaria allo scongelamento e di fertilizzazione sono stati troppo bassi perché la crioconservazione ovocitaria potesse esser proposta nella pratica clinica. La prima metodica di congelamento messa a punto e utilizzata per gli ovociti è stata quella del congelamento lento o slow-freezing (prima gravidanza ottenuta nel 1986 ma applicata con maggiore continuità solo dal 1997). Questa metodica, che ha subito molte evoluzioni e perfezionamenti, ha ora tassi di sopravvivenza che arrivano al 60-70%<sup>232-237</sup>. Più recentemente è stata messa a punto la vitrificazione degli ovociti (prima gravidanza ottenuta nel 1999 ma applicata con maggiore continuità dal 2003). Questa metodica, con cui sono riportati tassi di sopravvivenza del 90%, potrebbe, nel tempo, diventare la tecnica standard. Gli studi che comparano l'efficienza delle due metodiche nel congelamento di ovociti (slow-freezing e vitrificazione), pur suggerendo una superiorità della vitrificazione, sono ancora troppo limitati per trarre conclusioni definitive<sup>238-241</sup>. Per il momento alcuni laboratori applicano esclusivamente una delle due tecniche mentre altri le utilizzano entrambe: l'esperienza del laboratorio ha un ruolo fondamentale per il successo di entrambe le tecniche.

**La crioconservazione ovocitaria rappresenta un'importante strategia di preservazione della fertilità nei paesi come l'Italia dove la crioconservazione dell'embrione è vietata. Può essere proposta a tutte le pazienti che hanno la possibilità di rinviare il trattamento chemioterapico di 2-3 settimane e che hanno una riserva ovarica adeguata (Livello di evidenza: 2+; Grado di raccomandazione: raccomandazione positiva debole).**

### **Stimolazione nelle pazienti con tumori ormono-sensibili**

La casistica più numerosa di donne con carcinoma mammario sottoposte a stimolazione per la crioconservazione di ovociti o embrioni, è quella riportata da Azim e colleghi.<sup>242</sup> Il confronto con i controlli, a un follow-up molto breve (inferiore a 2 anni nel gruppo che ha effettuato IVF), sembrerebbe suggerire che le donne che hanno effettuato stimolazioni per la preservazione della fertilità non abbiano un peggioramento della sopravvivenza libera da progressione. Tuttavia, è sicuramente necessario un follow-up più lungo con un maggior numero di pazienti per valutare la reale efficacia e sicurezza di questa strategia. Nonostante i risultati riportati da Azim siano molto incoraggianti, persistono ancora alcune perplessità circa l'applicazione di strategie che prevedono una stimolazione ovarica nelle donne con tumori ormono-responsivi:

-necessità di rinviare l'inizio della chemioterapia da 2 a 6 settimane poiché la stimolazione ormonale deve durare almeno due settimane dall'inizio del ciclo mestruale;

-eventuale rischio sull'evoluzione della malattia, legato agli elevati livelli di estradiolo a cui vengono esposte le donne nella fase di stimolazione ovarica.

Inoltre tale metodica è applicabile solo in Centri di Procreazione Medicalmente Assistita con adeguata esperienza di crioconservazione che non sono funzionalmente collegati a tutti i centri oncologici.

**I pochi dati disponibili indicano che le donne con carcinoma mammario sottoposte a stimolazioni per la preservazione della fertilità e successivamente sottoposte a chemioterapia adiuvante o neoadiuvante non hanno un peggioramento della prognosi.**

### **Crioconservazione di ovociti immaturi o maturati in vitro**

Fra le strategie "emergenti", va annoverata la crioconservazione di ovociti immaturi o maturati in vitro.

Questa metodica prevede di effettuare un prelievo di ovociti senza stimolazione o con una minima stimolazione di 3-5 giorni. Gli ovociti immaturi possono essere maturati in vitro e crioconservati o crioconservati allo stadio di vescicola germinale (GV) o MI (non maturi) e poi maturati in vitro allo scongelamento prima della inseminazione.

Il prelievo di ovociti immaturi riduce il tempo necessario per la preservazione e non comporta la fase di iperestrogenismo indotta dalla stimolazione.

Al momento i risultati della crioconservazione di ovociti maturati in vitro e ancor di più quelli della crioconservazione di ovociti immaturi, sono inferiori a quelli ottenuti con gli ovociti maturati in vivo. La casistica è molto ridotta<sup>243</sup>. Solo pochi Centri hanno sviluppato la metodica della maturazione in vitro di ovociti nella pratica clinica della Riproduzione Assistita<sup>244</sup>.

**Il prelievo di ovociti immaturi rappresenta una tecnica "emergente" ad oggi da considerare sperimentale: permette di ridurre il tempo necessario per la preservazione e non comporta la fase di iperestrogenismo indotta dalla stimolazione.**

#### 4.3.4 Crioconservazione dell'embrione

Per questa metodica è necessario effettuare la stimolazione e la raccolta degli ovociti con le stesse modalità e quindi le stesse problematiche già analizzate per la crioconservazione degli ovociti. L'unica differenza consiste nel fatto che gli ovociti recuperati vengono inseminati immediatamente con tecnica ICSI e si congelano embrioni invece che ovociti.

Pertanto è necessaria la disponibilità di un partner o di un donatore al momento della applicazione di questa metodica.

Come per la crioconservazione dell'ovocita, anche in questo caso possono essere usati programmi di stimolazione con letrozolo o tamoxifene per donne con neoplasie ormono-dipendenti<sup>221-223</sup>.

In Italia la produzione di embrioni da crioconservare è vietata dalla Legge 40 del 2004.

**La legge 40/2004 vieta in Italia la crioconservazione di embrioni.**

**Tabella 7.** Problematiche della crioconservazione di ovociti con possibili soluzioni

PROBLEMA	SITUAZIONE	POSSIBILE SOLUZIONE	LIMITI
Stimolazione ormonale di tumori ormonosensibili	Mammella (endometrio).	Protocolli di stimolazione con inibitori dell'aromatasi.	Farmaci off label e controindicati in donne in età riproduttiva.
		Prelievo di ovociti immaturi dopo minima stimolazione.	Esperienza di pochi Centri.
Tempi di attesa troppo lunghi	Counselling riproduttivo a molti giorni dal flusso mestruale.	Inizio della stimolazione in qualsiasi fase del ciclo.	Casistica molto ridotta.
Rischio elevato di Iperestimolazione	Giovane età, molti follicoli, elevati livelli di estrogeni.	Induzione dell'ovulazione con GnRh analogo.	

#### Utilizzo degli ovociti o degli embrioni crioconservati

Per l'utilizzo sia degli ovociti sia degli embrioni crioconservati, è necessario effettuare una preparazione endometriale della durata di circa 2 settimane, ma, nel caso degli ovociti, allo scongelamento, è necessaria la presenza del partner per effettuare la fecondazione, mentre per gli embrioni si procede direttamente al trasferimento in utero (pratica ambulatoriale). La sopravvivenza degli embrioni allo scongelamento è buona. La sopravvivenza degli ovociti allo scongelamento varia a seconda della tecnica utilizzata per il congelamento. E' comunque possibile, nel 2-8 % dei casi, che non si riesca a completare il trattamento perché nessuno degli embrioni/ovociti congelati sopravvive allo scongelamento. I dati sulle gravidanze e i nati da ovociti ed embrioni crioconservati derivano quasi esclusivamente da risultati ottenuti su coppie infertili. I risultati attesi con le tecniche di congelamento e scongelamento di embrioni e gameti sono molto variabili nelle varie casistiche<sup>245-254</sup>. L'ultimo report del "Registro Italiano delle Tecniche di Procreazione Medicalmente Assistita", che fa riferimento ai dati del 2009, riporta una percentuale di gravidanze per embryo transfer del 18.5% su 1019 cicli di scongelamento di embrioni e del 17.1 % su 3102 cicli di scongelamento di ovociti<sup>255</sup>. L'outcome ostetrico e l'incidenza di malformazioni valutato su ampi numeri (11000 vs 37000) non è diverso fra i bambini nati da embrioni crioconservati o "con tecniche a fresco"<sup>256</sup>.

Analoghi risultati sono stati riportati con i bambini nati da ovociti crioconservati ma su casistiche ancora non così ampie (qualche centinaia) <sup>257,258</sup>. In Italia, dove la crioconservazione di ovociti è stata applicata più diffusamente per il divieto al congelamento embrionario contenuto nella Legge 40/2004, dal 2006 al 2009 sono nati 1000 bambini con questa tecnica <sup>259</sup>. Tuttavia la crioconservazione di ovociti è ancora annoverata fra le tecniche “sperimentali” <sup>260</sup>. Le gravidanze nelle pazienti oncologiche che hanno utilizzato i gameti o gli embrioni preservati prima delle cure riportate in letteratura sono poche decine. Non esistono ancora ampie casistiche sull'utilizzo degli embrioni/gameti crioconservati come ci sono per gli spermatozoi.

**La percentuale di successo in termini di gravidanze per embryo-transfer da ovociti crioconservati risulta circa del 20%.**

#### **4.3.5 Utilizzo di LHRH analoghi in concomitanza a chemioterapia**

Il razionale dell'utilizzo degli analoghi LH-RH (triptorelin, goserelin, buserelein, leuprolide) allo scopo di ridurre la tossicità ovarica della chemioterapia, è basato sull'osservazione che la chemioterapia colpisce maggiormente i tessuti con rapido turn-over cellulare e che, pertanto, uno stato indotto di inibizione dell'attività ovarica durante la terapia antitumorale potrebbe proteggere le ovaie stesse dall'effetto della chemioterapia <sup>261</sup>. La somministrazione cronica di analoghi LH-RH, riducendo la secrezione di FSH, sopprime la funzione ovarica e potrebbe, quindi, ridurre l'effetto tossico della chemioterapia.

Dati preclinici, in animali da laboratorio, hanno confermato tale ipotesi dimostrando che la somministrazione di LH-RH analoghi durante il trattamento con ciclofosfamide ne riduce la tossicità a livello ovarico <sup>262-264</sup>.

Gli analoghi LH-RH possono proteggere le ovaie attraverso diversi meccanismi: interruzione della secrezione di FSH, riduzione della perfusione utero-ovarica e attivazione dei recettori per l'LH-RH a livello gonadico <sup>265</sup>.

Il trattamento chemioterapico e in particolare gli agenti alchilanti, possono determinare un aumento della distruzione/apoptosi dei follicoli attivi e, conseguentemente, una riduzione della secrezione degli ormoni prodotti dai follicoli stessi nei differenti stadi di maturazione e differenziazione. La conseguente riduzione della secrezione degli steroidi sessuali e delle inibine determinerà una riduzione della loro concentrazione plasmatica e, per il meccanismo di feedback negativo sull'ipotalamo e sull'ipofisi, aumentano i livelli di FSH. L'aumentata secrezione di FSH può determinare un accelerato reclutamento dei follicoli preantrali che vengono stimolati a entrare nella fase di differenziazione e maturazione, con conseguente maggiore sensibilità all'effetto gonadotossico della chemioterapia, che si traduce in un aumento dell'apoptosi e della degenerazione dei follicoli stessi. Questo circolo vizioso può quindi essere interrotto con la somministrazione dell'analogo che consente di prevenire l'aumento di FSH.

Un altro possibile meccanismo che può spiegare l'efficacia dell'analogo nel ridurre la gonadotossicità da chemioterapia è la riduzione della perfusione di ovaio e utero, conseguente allo stato di ipoestrogenismo generato dalla desensibilizzazione gonadica. Infatti, elevati livelli di estrogeni aumentano significativamente la perfusione ematica a livello ovarico in un modello murino di iperstimolazione ovarica: questo effetto viene inibito dalla somministrazione dell'analogo LH-RH con un meccanismo dose-dipendente <sup>266</sup>. La ridotta perfusione ovarica può, pertanto, risultare in una esposizione a una dose cumulativa più bassa dei chemioterapici e dare quindi una minore gonadotossicità.

E' stato inoltre dimostrato che, oltre a quelle dei roditori, anche le gonadi umane contengono recettori per LH-RH, con quindi un qualche ruolo diretto dell'ormone ipotalamico direttamente a livello ovarico. Recentemente è stato dimostrato che gli analoghi LHRH proteggono le cellule della granulosa dalla tossicità della doxorubicina in modelli in vitro <sup>267</sup>.

Il potenziale ruolo degli analoghi LH-RH nella prevenzione della perdita della funzione ovarica indotta da chemioterapia, è stato valutato in diversi studi clinici, la maggior parte dei quali sono stati studi di fase II <sup>172,268-283</sup>. Globalmente i dati che emergono da questi studi suggeriscono un ruolo potenzialmente importante degli analoghi LH-RH nella preservazione della funzione ovarica, ma non costituiscono l'evidenza definitiva di tale ruolo essendo la maggioranza studi di fase II o osservazionali. Come già sottolineato, la preservazione della funzione ovarica non necessariamente significa preservazione della fertilità, ma rappresenta comunque un obiettivo importante per molte donne.



Quattro studi di fase III sono stati recentemente pubblicati <sup>284-287</sup>. In questi studi pazienti con carcinoma mammario e normale funzione ovarica, sono state randomizzate a ricevere chemioterapia adiuvante o neoadiuvante in combinazione con LH-RHa oppure chemioterapia da sola. Gli end-point degli studi prevedevano principalmente il mantenimento della funzione mestruale, ma in alcuni sono stati riportati anche i dosaggi di FSH, estradiolo o AMH che correlano con la residua riserva ovarica dopo il trattamento chemioterapico. La popolazione trattata è piuttosto eterogenea, con diversa età al trattamento, differenti regimi chemioterapici utilizzati, diversa selezione delle pazienti (alcuni studi prevedevano esclusivamente pazienti con recettori estrogenici negativi) e diversa durata del follow-up.

Nel primo studio <sup>284</sup>, 78 donne sono state assegnate in maniera casuale a ricevere goserelin o nessun trattamento durante un trattamento chemioterapico che prevedeva fluoro uracile, doxorubicina e ciclofosfamide (FAC) per un numero medio di 6 cicli. L'età media delle pazienti era 30 anni. Dopo 3 mesi dalla fine della chemioterapia, l'89% delle pazienti trattate con goserelin vs il 34% delle pazienti nel gruppo di controllo, aveva ripreso un ciclo mestruale normale. Inoltre, nel gruppo trattato è stata osservata una più alta incidenza di ovulazione (69% vs. 25%) e livelli più elevati di estradiolo (279 vs. 75 pg/ml). La maggior critica di questo lavoro risiede nella breve durata del follow-up, che potrebbe aver inficiato i risultati del gruppo di controllo.

Il secondo studio <sup>285</sup>, il più numeroso pubblicato fino ad ora, ha arruolato 281 pazienti candidate a diversi regimi di chemioterapia adiuvante o neoadiuvante, comprese pazienti con elevata espressione di recettori estrogenici che erano quindi candidate a proseguire il trattamento con successiva terapia endocrina. Le pazienti ricevevano 3.75 mg di triptorelina ogni 28 gg durante la chemioterapia. L'età media delle pazienti era 39 anni. Il 91.1% delle pazienti trattate con triptorelina vs il 74.1% delle pazienti del gruppo controllo ha avuto una ripresa del ciclo mestruale dopo la fine della chemioterapia. Tamoxifen diminuiva il tasso di ripresa mestruale in entrambi i gruppi, e l'effetto del trattamento con triptorelina era meno evidente nella pazienti con recettori estrogenici positivi (55% del gruppo trattato vs. 45% del gruppo controllo) rispetto a quelle con recettori negativi (93% vs. 74%).

Il terzo studio <sup>286</sup> ha arruolato 60 pazienti di età inferiore di 46 anni, tutte con malattia non endocrinoreponsiva. La ripresa del ciclo mestruale dopo 6 mesi si è verificata nel 70% delle pazienti trattate con goserelin vs il 56.7% delle pazienti del gruppo controllo, ma a 2 anni dalla fine del trattamento tutte le pazienti salvo una, avevano ripreso un ciclo mestruale normale.

Il quarto studio <sup>287</sup> ha arruolato pazienti con età inferiore a 44 anni, stratificate per età, tipo di trattamento ricevuto e stato recettoriale. Lo studio è stato sospeso dopo l'arruolamento di 49 pazienti. Nelle pazienti trattate con triptorelina la ripresa del ciclo mestruale è stata osservata nel 88% delle pazienti vs il 90% delle pazienti del gruppo controllo.

Nessuno degli studi pubblicati ha avuto sufficienti eventi gravidici per poter affermare che l'utilizzo degli LH-RH analoghi aumenti il tasso di gravidanze.

La somministrazione di LH-RH analoghi può essere eseguita contestualmente alla chemioterapia in qualsiasi ospedale oncologico, non comporta elevati livelli estrogenici (se non nella fase successiva alla prima somministrazione) e non necessita né una stimolazione ovarica né interventi chirurgici, con i possibili rinvii della terapia oncologica. I costi per 6 mesi di terapia (circa 1000 euro) sono inferiori alle procedure di stimolazione ovarica o crioconservazione ovarica. La somministrazione di LH-RH analoghi può essere associata a sintomi da deprivazione estrogenica, comprese vampate di calore, secchezza vaginale, alterazione del tono dell'umore. Tali sintomi sono reversibili alla sospensione del trattamento. Le alterazioni del metabolismo osseo non sono di solito clinicamente significative per somministrazioni inferiori a 6 mesi. L'utilizzo degli LHRH analoghi può essere dunque indicato per le pazienti di età inferiore a 45 anni desiderose di preservare la funzione ovarica.

La soppressione ovarica con LHRH analoghi durante la chemioterapia e le strategie di criopreservazione non sono tecniche mutualmente esclusive, e possono essere usate insieme per aumentare la possibilità di preservare la funzione ovarica e la fertilità in giovani donne con malattia neoplastica candidate a ricevere chemioterapia.

**Il potenziale ruolo degli LH-RH analoghi nella prevenzione della perdita della funzione ovarica indotta da chemioterapia, è stato valutato in 4 studi clinici di fase III. Globalmente i dati che emergono da questi studi suggeriscono un ruolo potenzialmente importante degli LH-RH analoghi nella preservazione della funzione ovarica, ma non sono ancora sufficienti da costituire l'evidenza definitiva della loro efficacia (Livello di evidenza: 1+; Grado di raccomandazione: raccomandazione positiva debole)**

#### **4.3.6 Trattamenti conservativi per tumori ginecologici**

Una terapia conservativa nei tumori ginecologici (cervice, ovaio e endometrio), è proponibile in casi selezionati a buona prognosi solo nelle seguenti circostanze (Tabella 8):

- 1) possibilità di eseguire una accurata e completa stadiazione e selezione dei casi;
- 2) pazienti in età riproduttiva desiderose di concepimento, molto motivate e disponibili a uno stretto follow-up;
- 3) centri oncologici con esperienza e protocolli di follow-up adeguati.

#### **CARCINOMA DELLA CERVICE:**

Il carcinoma microinvasivo (invasione < 3 mm estensione < 7mm FIGO IA1) può essere trattato con una conizzazione della cervice uterina con margini di resezione sufficientemente ampi nel tessuto sano.

Nelle pazienti desiderose di prole con carcinoma squamoso o adenocarcinoma o adenosquamoso limitato alla cervice con lesione di diametro inferiore ai 2 cm e con estensione dell'invasione inferiore a 10 mm<sup>288,289</sup> (stadio FIGO IA2-IB1), si può proporre un intervento "fertility-sparing". E' stato stimato che circa il 50 % delle donne con diagnosi di carcinoma della cervice con età inferiore a 40 anni sia candidato all'intervento di trachelectomia (asportazione del collo uterino)<sup>290</sup>. La trachelectomia radicale eseguita per via vaginale, addominale o più recentemente robotica è la procedura chirurgica con la maggiore casistica.

La trachelectomia va preceduta da linfodectomia pelvica per escludere casi a linfonodi positivi<sup>291</sup>. Il tasso di recidiva dopo trachelectomia sembra essere sovrapponibile a quello dopo isterectomia radicale anche se non esistono studi randomizzati di confronto<sup>292,293</sup>. Al 2008, circa 906 donne sono andate incontro a intervento di trachelectomia (790 per via vaginale e 116 per via addominale) con molte nascite riportate anche se non senza alcuni potenziali rischi ostetrici<sup>294-298</sup>. In particolare, si è osservato un aumentato rischio di aborti sia nel primo sia nel secondo trimestre (rispettivamente fino a 19% e 9,5 %) <sup>299</sup> e di parti pretermine. Per evitare quest'ultima complicazione sono state proposte tecniche di cerchiaggio che mantengano la continenza a livello del segmento uterino inferiore durante la successiva gravidanza<sup>300,301</sup>; inoltre si è osservata una più alta incidenza di infertilità a causa di anomalie cervicali che hanno reso necessario l'impiego di tecniche di riproduzione assistita<sup>288,302</sup>. La trachelectomia radicale è un intervento complesso eseguibile solo in centri con adeguata preparazione di ginecologia oncologica. Nelle pazienti candidabili a terapia conservativa (stadio IA2-IB1) sono stati proposti interventi alternativi alla trachelectomia radicale riguardo ai quali tuttavia la casistica disponibile è molto più ridotta. La chemioconizzazione prevede la somministrazione di una chemioterapia neoadiuvante seguita da conizzazione e linfodectomia pelvica. La maggiore esperienza di questo approccio è di gruppi Italiani ma i casi riportati sono solo alcune decine<sup>303</sup>.

Per quanto riguarda il ricorso a tecniche di trachelectomia semplice nelle pazienti con cancro della cervice a buona prognosi ci sono dati inglesi incoraggianti, ma molto preliminari, su 15 pazienti<sup>304</sup>.

**Si può proporre un intervento chirurgico “fertility sparing” alle pazienti con carcinoma microinvasivo (invasione < 3 mm estensione < 7mm FIGO IA1) candidate alla conizzazione, e alle pazienti con carcinoma squamoso o adenocarcinoma o adenosquamoso limitato alla cervice con lesione di diametro inferiore ai 2 cm e con estensione dell’invasione inferiore a 10 mm (stadio FIGO IA2-IB1) candidate alla trachelectomia.**

### TUMORI DELL’OVAIO

La terapia conservativa (tumorectomia o salpingoovariectomia monolaterale) può essere proposta alle pazienti in età riproduttiva con **tumore borderline** confinato alle ovaie o con impianti extraovarici non invasivi che possono essere completamente asportati ma va associata ad attenta ispezione dell’ovaio controlaterale, a biopsie peritoneali multiple, ad appendicectomia in caso di mucinosi e a omentectomia infracolica per una corretta stadiazione. In confronto all’intervento demolitivo di istero-annessiectomia bilaterale, la sopravvivenza nei casi di borderline non è diminuita dopo intervento conservativo ma la frequenza di recidive ovariche tuttavia è maggiore <sup>305</sup>.

Per quanto riguarda i tumori borderline, il problema di preservazione della fertilità è prevalentemente legato alla gestione delle recidive. Una terapia chirurgica conservativa è proponibile anche in caso di recidiva, ma certamente il reintervento, specie se coinvolge l’ovaio residuo è destinato a ridurre la riserva ovarica e quindi il potenziale riproduttivo. Sebbene ci siano alcune segnalazioni sulla possibilità di effettuare un ciclo di stimolazione per riproduzione assistita in “emergenza” prima di un re-intervento per recidiva di borderline (7 casi) con un buon successo riproduttivo (4 gravidanze, 57%), non è ancora possibile definire l’impatto di tale approccio sull’evoluzione della malattia <sup>96</sup>.

Possono essere sottoposte a chirurgia ovarica conservativa le pazienti con **carcinoma epiteliale dell’ovaio** stadio FIGO Ia dopo stadiazione chirurgica ottimale e istologia favorevole: in questo caso l’intervento può non essere seguito da alcun trattamento chemioterapico adiuvante <sup>306</sup>. La chirurgia conservativa può anche essere proposta alle pazienti con carcinoma ovarico in stadio Ia e istologia a cellule chiare, e a quelle in stadio Ic con interessamento ovarico unilaterale e istologia favorevole: in questi casi però l’intervento dovrà essere seguito da un trattamento chemioterapico adiuvante a base di platino <sup>306</sup>. Questo tipo di chirurgia non deve essere proposta alle pazienti con malattia in stadio Ia e grado G3 o in stadio Ic e istologia a cellule chiare o grado G3 <sup>306</sup>. Per quanto riguarda la chirurgia conservativa nei tumori epiteliali dell’ovaio, i lavori con il maggior numero di casi pubblicati non mettono in evidenza un aumentato rischio di ripresa di malattia in confronto ai controlli nelle pazienti sottoposte a chirurgia conservativa <sup>307,308</sup>. La terapia adiuvante necessaria in alcuni casi può essere responsabile di una riduzione della riserva ovarica e della fertilità post-trattamento. Ci sono rarissimi casi riportati in letteratura di stimolazione ovarica e riproduzione assistita in pazienti trattate per carcinoma epiteliale dell’ovaio. Dai dati disponibili non si può trarre alcuna indicazione <sup>309-311</sup>.

Esiste qualche preoccupazione sulla possibilità che la manipolazione strumentale della regione pelvica per poter effettuare le tecniche di preservazione della fertilità, possa risultare in una diffusione locale della malattia: in un caso riportato in letteratura, una donna con adenocarcinoma cervicale ha sviluppato una metastasi a livello della parete addominale in corrispondenza del sito di inserimento del trocar per la laparoscopia effettuata per eseguire la trasposizione ovarica al fine di preservare la fertilità <sup>312</sup>; non è chiaro quanto spesso ciò possa avvenire.

**Sono candidate a trattamento chirurgico conservativo tutte le pazienti con tumore borderline confinato alle ovaie o con impianti extraovarici non invasivi, anche in caso di recidiva. Può essere proposta una chirurgia ovarica conservativa alle pazienti con carcinoma epiteliale dell’ovaio stadio FIGO Ia, stadiazione chirurgica ottimale e istologia favorevole, alle pazienti con carcinoma ovarico in stadio Ia e istologia a cellule chiare, e alle pazienti in stadio Ic con interessamento ovarico unilaterale e istologia favorevole: negli ultimi due casi l’intervento deve essere seguito da un trattamento chemioterapico adiuvante a base di platino.**

## CARCINOMA ENDOMETRIALE

Sebbene l'incidenza di carcinoma dell'endometrio in età riproduttiva sia bassa (14% di tutti i casi), alle donne desiderose di gravidanza con questo tumore può essere proposto, in casi selezionati (tipo 1 ben differenziato, senza segni di invasione degli spazi linfovascolari alle biopsie, con RM negativa per invasione miometriale e dopo esclusione di patologia ovarica e/o metastatica), dopo adeguato counselling, un trattamento ormonale. La revisione dei preparati istologici da parte di un patologo esperto di ginecologia andrebbe considerato stante la variabilità interosservatoria della diagnosi di adenocarcinoma ben differenziato vs iperplasia atipica complessa. L'incidenza di risposta al trattamento in una recentissima revisione dei 253 casi pubblicati di carcinoma dell'endometrio trattato con progestinici è del 74.6% ma una risposta completa duratura si è avuta solo nel 48.2%. Il tempo medio per la risposta completa nei vari studi varia da 1 a 18 mesi (media 6 mesi). Una recidiva della malattia è stata osservata nel 35.4 % dei casi fra il 4° e il 72° mese di terapia (media 24 mesi). Fra le pazienti trattate in modo conservativo che hanno ricercato una gravidanza il 34.8% ha concepito. Molti sono i quesiti ancora aperti riguardo questo approccio terapeutico. Non ci sono dati per preferire uno degli approcci farmacologici fino ad ora impiegati che sono il medrossiprogesterone acetato (MAP) e il megestrolo a dosaggi molto elevati o lo IUD al levonorgestrel da solo in associazione con progestinici orali a dosi più basse. La durata del trattamento prima di ricercare la gravidanza dopo la verifica della remissione potrebbe essere di 6-9 mesi. Il follow up prevede la diagnosi istologica su campionamento adeguato con isteroscopia ogni 3 mesi. Le pazienti giovani con tumore dell'endometrio hanno in genere patologie associate (obesità, PCOS e anovularietà) che possono determinare problemi di infertilità. In questi casi è necessario un tempestivo riferimento a specialisti della riproduzione per poter abbreviare i tempi del concepimento sebbene non siano ancora chiari gli effetti dell'applicazione delle Tecniche di Riproduzione Assistita in queste pazienti. In pazienti giovani con tumore dell'endometrio, prima di iniziare una stimolazione ovarica, dovrebbe essere presa in considerazione la ricerca genetica perché nelle pazienti giovani senza fattori di rischio (PCOS, obesità ecc) la presenza di sindromi genetiche è elevata e le pazienti affette necessitano di follow-up specifico (es. sindrome di Lynch associata nel 3-5% dei casi con maggior rischio di tumore ovarico)<sup>95,313,314</sup>.

**Un trattamento conservativo ormonale può essere proposto a donne fortemente desiderose di gravidanza dopo adeguato counselling, ma solo in casi selezionati (tipo 1 ben differenziato, senza segni di invasione degli spazi linfovascolari al curettage, con RM negativa per invasione miometriale e dopo esclusione di patologia ovarica e/o metastatica).**

E' possibile consultare on-line all'indirizzo <http://www.iss.it/rpma/index.php?lang=1> l'elenco di tutti i centri italiani autorizzati che applicano le tecniche di Procreazione Medicalmente Assistita divisi per regione, con i relativi referenti e contatti.

**Tabella 8.** Riassunto dei trattamenti conservativi per tumori ginecologici

TUMORE	ISTOTIPO	STADIO	ALTRI PARAMETRI	INTERVENTO	DATI DISPONIBILI
CERVICIA	Carcinoma squamoso o adenocarcinoma o carcinoma adenosquamoso	IA1	-invasione stromale < 3 mm; -spazi linfovascolari non coinvolti; -margini negativi; -curettaggio negativo.	Conizzazione	Ampia e dettagliata
		-IA1 con LVSI -IA2-IB1	-diametro < 2 cm; -invasione stromale < 10 mm; -diametri superficie maggiori con invasione minore e LVSI negativo	Trachelectomia radicale	≥ 900 casi
				Chemioconizzazione Trachelectomia semplice	21 casi 15 casi
OVAIO BORDERLINE	Borderline	Tutti gli stadi	-impianti non invasivi completamente resecabili; -parte di ovaio sano.	Tumorectomia o salpingo-ovariectomia monolaterale	Ampie casistiche
OVAIO INVASIVO	Tumori non epiteliali	Tutti gli stadi	Monolaterale	Ovariectomia monolaterale + staging	
	Tumori epiteliali	Ia	G1 (G2)	Salpingoovariectomia monolaterale + staging	≥500casi
		Ic	Interessamento ovarico unilaterale e istologia favorevole G1	Salpingoovariectomia monolaterale + staging + trattamento chemioterapico adiuvante a base di platino	
ENDOMETRIO	Tipo 1 ben differenziato	Assenza di invasione miometriale. Assenza di lesioni ovariche. Assenza di coinvolgimento linfovascolare nel campione del curettaggio.	Recettori positivi per estrogeni e progesterone all'immunoistochimica	Elevati dosaggi di progesterone	≥ 100 casi

LVSI: invasione spazi linfovascolari

## 5. Bibliografia

1. AIOM-AIRTUM. I numeri del cancro in Italia 2011. Intermedia editore.
2. Lee SJ, Schover LR, Patridge AH, et al. American Society of Clinical Oncology Recommendations on fertility preservation in cancer patients. *J Clin Oncol* 2006, 24(18):917-931.
3. Schover LR. Patient attitudes toward fertility preservation. *Pediatr Blood Cancer* 2009, 53(2):281-284.
4. Berkowitz GS, Skovron ML, Lapinski RH, et al. Delayed childbearing and the outcome of pregnancy. *N Engl J Med* 1990, 322:639-664.
5. Balasch J, Gratacós E. Delayed childbearing: effects on fertility and the outcome of pregnancy. *Fetal Diagn Ther* 2011, 29(4):263-273.
6. Johnson JA, Tough S. Delayed child-bearing. *J Obstet Gynaecol Can* 2012, 34(1):80-93.
7. Astolfi P, Zonta LA. Delayed maternity and risk at delivery. *Paediatr Perinat Epidemiol* 2002, 16(1):67-72.
8. Penrose R, Beatty L, Mattiske J, Koczwara B. Fertility and cancer-a qualitative study of Australian cancer survivors. *Support Care Cancer* 2012, 20:1259-1265.
9. Saito K, Suzuki K, Iwasaki A, et al. Sperm cryopreservation before cancer chemotherapy helps in the emotional battle against cancer. *Cancer* 2005, 104:521-524.
10. Girasole CR, Cookson MS, Smith JA Jr, et al. Sperm banking: use and outcomes in patients treated for testicular cancer. *BJU Int* 2007, 99(1):33-36.
11. Rosen A. Third-party reproduction and adoption in cancer patients. *J Natl Cancer Inst Monogr* 2005, 91-93.
12. Fossa SD, Aass N, Molne K. Is routine pretreatment cryopreservation of semen worthwhile in the management of patients with testicular cancer? *Br J Urol* 1989, 64:524-529.
13. Schover LR, Brey K, Lichtin A, et al. Knowledge and experience regarding cancer, infertility, and sperm banking in younger male survivors. *J Clin Oncol* 2002, 20:1880-1889.
14. Schover LR, Rybicki LA, Martin BA, et al. Having children after cancer: a pilot survey of survivors' attitudes and experiences. *Cancer* 1999, 86:697-709.
15. Fossa SD, Magelsses H, Melve K, et al. Parenthood in survivors after adulthood cancer and parinatal health in their offspring: a preliminary report. *J Natl Cancer Inst Monogr* 2005, (34):77-82.
16. Reinmuth S, Liebeskind AK, Wickmann L, et al. Having children after surviving cancer in childhood or adolescence - results of a Berlin survey. *Klin Padiatr* 2008, 220(3):159-165.
17. Zebrack BJ, Casillas J, Nohr L, et al. Fertility issues for young adult survivors of childhood cancer. *Psychooncology* 2004, 13:689-699.
18. Wenzel L, Dogan-Ates A, Habbal R, et al. Defining and measuring reproductive concerns of female cancer survivors. *J Natl Cancer Inst Monogr* 2005, (34):94-98.
19. King RB. Subfecundity and anxiety in a nationally representative sample. *Soc Sci Med* 2003, 56(4):739-751.
20. Bryson CA, Sykes DH, Traub AI. In vitro fertilization: a long-term follow-up after treatment failure. *Hum Fertil (Camb)* 2000, 3(3):214-220.
21. Leiblum SR, Aviv A, Hamer R. Life after infertility treatment: a long-term investigation of marital and sexual function. *Hum Reprod* 1998, 13:3569-3574.
22. Carter J, Raviv L, Applegarth L, et al. A cross-sectional study of the psychosexual impact of cancer-related infertility in women: third-party reproductive assistance. *J Cancer Surviv* 2010, 4(3):236-246.
23. Carter J, Rowland K, Chi D, et al. Gynecologic cancer treatment and the impact of cancer related infertility. *Gynecol Oncol* 2005, 97:90-95.
24. Hartmann JT, Albrecht C, Schmoll HJ, et al. Long-term effects on sexual function and fertility after treatment of testicular cancer. *Br J Cancer* 1999, 80:801-807.
25. Partridge AH, Gelber S, Peppercorn J, et al. Web-based survey of fertility issues in young women with breast cancer. *J Clin Oncol* 2004, 22:4174-4183.
26. Rieker PP, Fitzgerald EM, Kalish LA. Adaptive behavioral responses to potential infertility among survivors of testis cancer. *J Clin Oncol* 1990, 8:347-355.
27. Sutton R, Buzdar AU, Hortobagyi GN. Pregnancy and offspring after adjuvant chemotherapy in breast cancer patients. *Cancer* 1990, 65:847-850.
28. Rosen A, Rodriguez-Wallberg KA, Rosenzweig L. Psychosocial distress in young cancer survivors. *Semin Oncol Nurs* 2009, 25(4):268-277.
29. Schover LR, Brey K, Lichtin A, et al. Oncologists' attitudes and practices regarding banking sperm before cancer treatment. *J Clin Oncol* 2002, 20(7):1890-1897.
30. Duffy CM, Allen SM, Clark MA. Discussions regarding reproductive health for young women with breast cancer undergoing chemotherapy. *J Clin Oncol* 2005, 23(4):766-773.

31. Bonduelle M, Wennerholm UB, Loft A, et al. A multi-centre cohort study of the physical health of 5-year-old children conceived after intracytoplasmic sperm injection, in vitro fertilization and natural conception. *Hum Reprod* 2005, 20:413-419.
32. Quinn GP, Vadaparampil ST, Gwede CK, et al. Developing a referral system for fertility preservation among patients with newly diagnosed cancer. *J Natl Compr Canc Netw* 2011, 9(11):1219-1225.
33. Hohmann C, Borgmann-Staudt A, Rendtorff R, et al. Patient counselling on the risk of infertility and its impact on childhood cancer survivors: results from a national survey. *J Psychosoc Oncol* 2011, 29(3):274-285.
34. Quinn GP, Vadaparampil ST, Gwede CK, et al. Discussion of fertility preservation with newly diagnosed patients: oncologists' views. *J Cancer Surviv* 2007, 1(2):146-155.
35. Kohler TS, Kondapalli LA, Shah A, et al. Results from the Survey for Preservation of Adolescent Reproduction (SPARE) study: gender disparity in delivery of fertility preservation message to adolescents with cancer. *J Assist Reprod Genet* 2010, 28(3):269-277.
36. Quinn GP, Vadaparampil ST, Lee JH, et al. Physician referral for fertility preservation in oncology patients: a national study of practice behaviors. *J Clin Oncol* 2009, 27(35):5952-5957.
37. Sait KH. Conservative treatment of ovarian cancer. Safety, ovarian function preservation, reproductive ability, and emotional attitude of the patients in Saudi Arabia. *Saudi Med J* 2011, 32(9):913-918.
38. Rosner F. Medical research in children: ethical issues. *Cancer Invest* 2006, 24:218-220.
39. Burns JP. Research in children. *Crit Care Med* 2003, 31:S131-S136.
40. Hirtz DG, Fitzsimmons LG. Regulatory and ethical issues in the conduct of clinical research involving children. *Curr Opin Pediatr* 2002, 14:669-675.
41. Klapowiczczak D, Bertozzi-Salamon AI, Grandjean H, Arnaud C. Fertility preservation in adolescent cancer patients. *Bull Cancer* 2007, 94(7):636-646.
42. Poirot C, Schubert B. Fertility preservation in prepubertal children. *Bull Cancer* 2011, 98:489-499.
43. Behadur G. Ethics of testicular stem cell medicine. *Hum Reprod* 2004, 19:2702-2710.
44. Grundy R, Gosden RG, Hewitt M, et al. Fertility preservation for children treated for cancer: scientific advances and research dilemmas. *Arch Dis Child* 2001, 84:355-359.
45. Vadaparampil S, Gwendolyn Quinn, Lindsey King, et al. Barriers to fertility preservation among pediatric oncologists. *Patient Educ Couns* 2008, 72:402-410.
46. Letourneau JM, Ebbel EE, Katz PP, et al. Pretreatment fertility counseling and fertility preservation improve quality of life in reproductive age women with cancer. *Cancer* 2012, 118(6):1710-1717.
47. Peate M, Meiser B, Friedlander M, et al. It's now or never: fertility-related knowledge, decision-making preferences, and treatment intentions in young women with breast cancer--an Australian fertility decision aid collaborative group study. *J Clin Oncol* 2011, 29(13):1670-1677.
48. Levine J, Canada A, Stern CJ. Fertility preservation in adolescents and young adults with cancer. *J Clin Oncol* 2010, 28(32):4831-4841.
49. Hawkins MM, Draper GJ, Winter DL. Cancer in the offspring of survivors of childhood leukaemia and non-Hodgkin lymphomas. *Br J Cancer* 1995, 71(6):1335-1339.
50. Hudson MM. Reproductive outcomes for survivors of childhood cancer. *Obstet Gynecol* 2010, 116(5):1171-1183.
51. Hawkins MM, Draper GJ, Smith RA. Cancer among 1,348 offspring of survivors of childhood cancer. *Int J Cancer* 1989, 43:975-978.
52. Kobayashi H, Larson K, Sharma RK, et al. DNA damage in patients with untreated cancer as measured by the sperm chromatin structure assay. *Fertil Steril* 2001, 75:469-475.
53. O'Donovan M. An evaluation of chromatin condensation and DNA integrity in the spermatozoa of men with cancer before and after therapy. *Andrologia* 2005, 37:83-90.
54. van der Kaaij MA, Heutte N, van Echten-Arends J, et al. Sperm quality before treatment in patients with early stage Hodgkin's lymphoma enrolled in EORTC-GELA Lymphoma Group trials. *Haematologica* 2009, 94(12):1691-1697.
55. Arnon J, Meirrow D, Lewis-Roness H, et al. Genetic and teratogenic effects of cancer treatments on gametes and embryos. *Hum Reprod Update* 2001, 7:394-403.
56. Frias S, Van Hummelen P, Meistrich ML, et al. NOVP chemotherapy for Hodgkin's disease transiently induces sperm aneuploidies associated with the major clinical aneuploidy syndromes involving chromosomes X, Y, 18, and 21. *Cancer Res* 2003, 63:44-51.
57. Kamiguchi Y, Tateno H. Radiation- and chemical-induced structural chromosome aberrations in human spermatozoa. *Mutat Res* 2002, 504:183-191.
58. Tempest HG, Ko E, Chan P, et al. Sperm aneuploidy frequencies analysed before and after chemotherapy in testicular cancer and Hodgkin's lymphoma patients. *Hum Reprod* 2008, 23(2):251-258.
59. Thomson AB, Campbell AJ, Irvine DC, et al. Semen quality and spermatozoal DNA integrity in survivors of childhood cancer: a case-control study. *Lancet* 2002, 360:361-367.

60. Boyle KE, Vlahos N, Jarow JP. Assisted reproductive technology in the new millennium: part II. *Urology* 2004, 63:217-224.
61. Hansen M, Kurinczuk JJ, Bower C, et al. The risk of major birth defects after intracytoplasmic sperm injection and in vitro fertilization. *N Engl J Med* 2002, 346:725-730.
62. Olson CK, Keppler-Noreuil KM, Romitti PA, et al. In vitro fertilization is associated with an increase in major birth defects. *Fertil Steril* 2005, 84(5):1308-1315.
63. Leunens L, Celestin-Westreich S, Bonduelle M, et al. Follow-up of cognitive and motor development of 10-year-old singleton children born after ICSI compared with spontaneously conceived children. *Hum Reprod* 2008, 23(1):105-111.
64. Ponjaert-Kristoffersen I, Bonduelle M, Barnes J, et al. International collaborative study of intracytoplasmic sperm injection-conceived, in vitro fertilization-conceived, and naturally conceived 5-year-old child outcomes: cognitive and motor assessments. *Pediatrics* 2005, 115:e283-e289.
65. Howell S, Shalet S. Gonadal damage from chemotherapy and radiotherapy. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1998, 27(4):927-943.
66. Kroman N, Jensen MB, Melbye M, et al. Should women be advised against pregnancy after breast cancer treatment? *Lancet* 1997, 350:319-322.
67. Valentgas P, Daling JR, Malone KE, et al. Pregnancy after breast carcinoma: outcomes and influence on mortality. *Cancer* 1999, 85:2424-2432.
68. Gelber S, Coates AS, Goldhirsch A, et al. Effect of pregnancy on overall survival after the diagnosis of early-stage breast cancer. *J Clin Oncol* 2001, 19:1671-1675.
69. Blakely LJ, Buzdar AU, Lozada JA, et al. Effects of pregnancy after treatment for breast carcinoma on survival and risk of recurrence. *Cancer* 2004, 100:465-469.
70. Lawrenz B, Henes M, Neunhoeffler E, et al. Pregnancy after successful cancer treatment: what needs to be considered? *Onkologie* 2012, 35(3):128-132.
71. Córdoba O, Bellet M, Vidal X, et al. Pregnancy after treatment of breast cancer in young women does not adversely affect the prognosis. *Breast* 2012, 21:272-275.
72. Langagergaard V, Gislum M, Skriver MV, et al. Birth outcome in women with breast cancer. *Br J Cancer* 2006, 94:142-146.
73. Dalberg K, Eriksson J, Holmberg L. Birth outcome in women with previously treated breast cancer—a population – based cohort study from Sweden. *PLoS Med* 2006, 3(9):e336.
74. Winther JF, Olsen JH, Wu H, et al. Genetic disease in the children of Danish survivors of childhood and adolescent cancer. *J Clin Oncol* 2012, 30(1):27-33.
75. Aebi S, Gelber S, Castiglione-Gertsch M, et al. Is chemotherapy alone adequate for young women with oestrogen-receptor-positive breast cancer? *Lancet* 2000, 355:1869-1874.
76. Pujol P, Hilsenbeck SG, Chamness GC, et al. Rising levels of estrogen receptor in breast cancer over 2 decades. *Cancer* 1994, 75:1601-1606.
77. Kroman N, Jensen MB, Wohlfahrt J, et al. Factors influencing the effect of age on prognosis in breast cancer: population based study. *BMJ* 2000, 320:474-478.
78. Li CI, Daling JR, Malone KE. Incidence of invasive breast cancer by hormone receptor status from 1992 to 1998. *J Clin Oncol* 2003, 21:28-34.
79. Kroman N, Jensen MB, Wohlfahrt J, Ejlersen B. Pregnancy after treatment of breast cancer—a population-based study on behalf of Danish Breast Cancer Cooperative Group. *Acta Oncol* 2008, 47(4):545-549.
80. Del Mastro L, Catzeddu T, Venturini M. Infertility and pregnancy after breast cancer: current knowledge and future perspectives. *Cancer Treat Rev* 2006, 32:417-422.
81. Ives A, Saunders C, Bulgara M, et al. Pregnancy after breast cancer: population-based study. *BMJ* 2007, 334:194 - 198.
82. Von Schoultz E, Johansson H, Wilking N, et al. Influence of prior and subsequent pregnancy on breast cancer prognosis. *J Clin Oncol* 1995, 13:430-434.
83. Sankila R, Heinavaara S, Hakulinen T. Survival of breast cancer patients after subsequent term pregnancy: healthy mother effect. *Am J Obstet Gynecol* 1994, 70:818-823.
84. Malamos NA, Stathopoulos GP, Keramopoulos A, et al. Pregnancy and offspring after the appearance of breast cancer. *Oncology* 1996, 53:471-475.
85. Ariel IM, Kempner R. The prognosis of patients who become pregnant after mastectomy for breast cancer. *Int Surg* 1989, 74:185-187.
86. Kranick JA, Schaefer C, Rowell S, et al. Is pregnancy after breast cancer safe? *Breast J* 2010, 16(4):404-411.
87. Pagani O, Partridge A, Korde L, et al. Pregnancy after breast cancer: if you wish, ma'am. *Breast Cancer Res Treat* 2011, 129(2):309-317.



88. Azim HA Jr, Santoro L, Pavlidis N, et al. Safety of pregnancy following breast cancer diagnosis: a meta-analysis of 14 studies. *Eur J Cancer* 2011, 47:74-83.
89. Litton JK. Breast Cancer and Fertility. *Curr Treat Options Oncol* 2012, 13:137-145.
90. Royal College of obstetricians and gynaecologists. Pregnancy and breast cancer. Guideline No. 12; Jan 2004 <http://www.rcog.org.uk/index.sap?PageID=529>.
91. Lawrenz B, Banys M, Henes M, et al. Pregnancy after breast cancer: case report and review of the literature. *Arch Gynecol Obstet* 2011, 283(4):837-843.
92. Muller BA, Simon MS, Deapen D, et al. Childbearing and survival after breast carcinoma in young women. *Cancer* 2003, 98:1131-1140.
93. Cvancarova M, Samuelsen SO, Magelssen H, Fosså SD. Reproduction rates after cancer treatment: experience from the Norwegian radium hospital. *J Clin Oncol* 2009, 27(3):334-343.
94. Barton SE, Missmer SA, Berry KF, Ginsburg ES. Female cancer survivors are low responders and have reduced success compared with other patients undergoing assisted reproductive technologies. *Fertil Steril* 2012, 97(2):381-386.
95. Gunderson CC, Fader AN, Carson KA, Bristow RE. Oncologic and reproductive outcomes with progestin therapy in women with endometrial hyperplasia and grade 1 adenocarcinoma: a systematic review. *Gynecol Oncol* 2012, 125:477-482.
96. Fortin A, Morice P, Thoury A, et al. Impact of infertility drugs after treatment of borderline ovarian tumors: results of a retrospective multicenter study. *Fertil Steril* 2007, 87(3):591-596.
97. Ginsberg JP. Educational paper: the effect of cancer therapy on fertility, the assessment of fertility and fertility preservation options for pediatric patients. *Eur J Pediatr* 2011, 170(6):703-708.
98. United Kingdom Children's Cancer Study Group (UKCCSG). Subfertility Risk Consensus Document, 2005. <http://www.ukccsg.org>
99. Children's Oncology Group (COG). Long-term follow-up guidelines for survivors of childhood cancer, 2005. <http://www.survivorshipguidelines.org>.
100. Scottish Intercollegiate Guidelines Network. Long-term follow-up of survivors of childhood cancer, 2005. <http://www.sign.ac.uk>.
101. Burstein HJ, Winer EP. Primary care for survivors of breast cancer. *N Engl J Med* 2000, 343:1086-1094.
102. Goodwin PJ, Ennis M, Pritchard KI, et al. Risk of menopause during the first year after breast cancer diagnosis. *J Clin Oncol* 1999, 17:2365-2370.
103. Grigg A. The impact of conventional and high-dose therapy for lymphoma on fertility. *Clin Lymphoma* 2004, 5:84-88.
104. Howell SJ, Shalet SM. Spermatogenesis after cancer treatment: damage and recovery. *J Natl Cancer Inst Monogr* 2005, 12-17.
105. Meistrich ML, Vassilopoulou-Selin R, Lipshultz LI. Gonadal dysfunction. *Cancer: Principles & Practice of Oncology* (ed 7). Philadelphia, PA, Lippincott Williams & Wilkins, 2005, pp 2560-2572.
106. Wallace WH, Anderson RA, Irvine DS. Fertility preservation for young patients with cancer: who is at risk and what can be offered? *Lancet Oncol* 2005, 6:209-218.
107. Green DM, Kawashima T, Stovall M, et al. Fertility of male survivors of childhood cancer: a report from the Childhood Cancer Survivor Study. *J Clin Oncol* 2010, 28(2):332-339.
108. Green DM, Kawashima T, Stovall M, et al. Fertility of female survivors of childhood cancer: a report from the childhood cancer survivor study. *J Clin Oncol* 2009, 27(16):2677-2685.
109. Howell SJ, Shalet SM. Spermatogenesis after cancer treatment: damage and recovery. *J Natl Cancer Inst Monogr* 2005, 12-17.
110. Meirrow D, Biederman H, Anderson RA, Wallace WH. Toxicity of chemotherapy and radiation on female reproduction. *Clin Obstet Gynecol* 2010, 53(4):727-739.
111. Yarbrow CH, Perry MC. The effect of cancer therapy on gonadal function. *Semin Oncol Nurs* 1985, 1(1):3-8.
112. Fisher B, Dignam J, Mamounas EP, et al. Sequential methotrexate and fluorouracil for the treatment of node-negative breast cancer patients with estrogen receptor-negative tumors: eight years results from National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project (NSABP) B-13 and first report of findings from NSABP B-19 comparing methotrexate and fluorouracil with conventional cyclophosphamide, methotrexate and fluorouracil. *J Clin Oncol* 1996, 14(7):1982-1992.
113. Longhi A, Macchiagodena M, Vitali G, et al. Fertility in male patients treated with neoadjuvant chemotherapy for osteosarcoma. *J Pediatr Hematol Oncol* 2003, 25(4):292-296.
114. Simon B, Lee SJ, Partridge AH et al. Preserving fertility after cancer. *CA Cancer J Clin* 2005, 55(4):211-228.
115. Fornier MN, Modi S, Panageas KS, et al. Incidence of chemotherapy-induced, long-term amenorrhea in patients with breast carcinoma age 40 years and younger after adjuvant anthracycline and taxane. *Cancer* 2005, 104(8):1575-1579.

116. Okanami Y, Ito Y, Watanabe C, et al. Incidence of chemotherapy-induced amenorrhea in premenopausal patients with breast cancer following adjuvant anthracycline and taxane. *Breast Cancer* 2011, 18(3):182-188.
117. Behringer K, Thielen I, Mueller H, et al. Fertility and gonadal function in female survivors after treatment of early unfavorable Hodgkin lymphoma (HL) within the German Hodgkin Study Group HD14 trial. *Ann Oncol* 2012, 23:1818-1825.
118. van der Kaaij MA, Heutte N, Meijnders P, et al. Premature ovarian failure and fertility in long-term survivors of Hodgkin's lymphoma: a European Organisation for Research and Treatment of Cancer Lymphoma Group and Groupe d'Etude des Lymphomes de l'Adulte Cohort Study. *J Clin Oncol* 2012, 30(3):291-299.
119. Kiserud CE, Fosså A, Bjørø T, et al. Gonadal function in male patients after treatment for malignant lymphomas, with emphasis on chemotherapy. *Br J Cancer* 2009, 100(3):455-463.
120. Chaudhary UB, Haldas JR. Long-term complications of chemotherapy for germ cell tumours. *Drugs* 2003, 63(15):1565-1577.
121. DeSantis M, Albrecht W, Holth W, et al. Impact of cytotoxic treatment on long-term fertility in patients with germ-cell cancer. *Int J Cancer* 1999, 83(6):864-865.
122. Bines J, Oleske DM, Cobleigh MA. Ovarian function in premenopausal women treated with adjuvant chemotherapy for breast cancer. *J Clin Oncol* 1996, 14:1718-1729.
123. Lee S, Kil WJ, Chun M, et al. Chemotherapy-related amenorrhea in premenopausal women with breast cancer. *Menopause* 2009, 16(1):98-103.
124. Jonat W, Kaufmann M, Sauerbrei W, et al. Goserelin versus cyclophosphamide, methotrexate, and fluorouracil as adjuvant therapy in premenopausal patients with node-positive breast cancer: the Zoladex early breast cancer research association study. *J Clin Oncol* 2002, 20:4628-4635.
125. Schover LR. *Sexuality and Fertility After Cancer*. New York, NY 1997, John Wiley and Sons.
126. Gandini L, Sgrò P, Lombardo F, et al. Effect of chemo- or radiotherapy on sperm parameters of testicular cancer patients. *Hum Reprod* 2006, 21(11):2882-2889.
127. Soloway CT, Soloway MS, Kim SS, et al. Sexual, psychological and dyadic qualities of the prostate cancer "couple". *BJU Int* 2005, 95(6):780-785.
128. Felicetti F, Manicone R, Corrias A, et al. Endocrine late effects after total body irradiation in patients who received hematopoietic cell transplantation during childhood: a retrospective study from a single institution. *J Cancer Res Clin Oncol* 2011, 137(9):1343-1348.
129. Borgmann-Staudt A, Rendtorff R, Reinmuth S, et al. Fertility after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation in childhood and adolescence. *Bone Marrow Transplant* 2012, 47(2):271-276.
130. Socié G, Salooja N, Cohen A, et al. Nonmalignant late effects after allogeneic stem cell transplantation. *Blood* 2003, 101(9):3373-3385.
131. Gradishar WJ, Schilsky RL. Effects of cancer treatment on the reproductive system. *Crit Rev Oncol Hematol* 1988, 8(2):153-171.
132. Donnez J, Bassil S. Indications for cryopreservation of ovarian tissue. *Hum Reprod Update* 1998, 4(3):248-259.
133. Fleischer RT, Vollenhoven BJ, Weston GC. The effects of chemotherapy and radiotherapy on fertility in premenopausal women. *Obstet Gynecol Surv* 2011, 66(4):248-254.
134. Nakagawa K, Kanda Y, Yamashita H, et al. Preservation of ovarian function by ovarian shielding when undergoing total body irradiation for hematopoietic stem cell transplantation: a report of two successful cases. *Bone Marrow Transplant* 2006, 37(6):583-587.
135. Wallace WH, Thomson AB, Saran F, et al. The radiosensitivity of the human oocyte. *Hum Reprod* 2003, 18:117-121.
136. Wallace WH, Thomson AB, Saran F, et al. Predicting age of ovarian failure after radiation to a field that includes the ovaries. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2005, 62:738-744.
137. Loren AW, Chow E, Jacobsohn DA, et al. Pregnancy after hematopoietic cell transplantation: a report from the late effects working committee of the Center for International Blood and Marrow Transplant Research (CIBMTR). *Biol Blood Marrow Transplant* 2011, 17(2):157-166.
138. Sudour H, Chastagner P, Claude L, et al. Fertility and pregnancy outcome after abdominal irradiation that included or excluded the pelvis in childhood tumor survivors. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2010, 76(3):867-873.
139. Wallace WH, Shalet SM, Crowne EC, et al. Ovarian failure following abdominal irradiation in childhood: natural history and prognosis. *Clin Oncol (R Coll Radiol)* 1989, 1(2):75-79.
140. Green DM, Nolan VG, Kawashima T, et al. Decreased fertility among female childhood cancer survivors who received 22-27 Gy hypothalamic/pituitary irradiation: a report from the Childhood Cancer Survivor Study. *Fertil Steril* 2011, 95(6):1922-1927.
141. Braverman AS, Sawhney H, Tendler A, et al. Pre-menopausal serum estradiol (E2) levels may persist after chemotherapy (CT)-induced amenorrhea in breast cancer (BC). *Proc Am Soc Clin Oncol* 2002, 21: 42a (Abstract 164).

142. Letourneau JM, Ebbel EE, Katz PP, et al. Acute ovarian failure underestimates age-specific reproductive impairment for young women undergoing chemotherapy for cancer. *Cancer* 2012, 118:1933-1939.
143. Lobo RA. Potential options for preservation of fertility in women. *N Engl J Med* 2005, 353: 64-73.
144. La Marca A, Broekmans FJ, Volpe A, et al. ESHRE Special Interest Group for Reproductive Endocrinology--AMH Round Table. Anti-Mullerian hormone (AMH): what do we still need to know? *Hum Reprod* 2009, 24(9):2264-2275.
145. Williams DH. Sperm banking and the cancer patient. *Ther Adv Urol* 2010, 2(1):19-34.
146. Lass A, Akagbosu F, Abusheikha N, et al. A programme of semen cryopreservation for patients with malignant disease in a tertiary infertility centre: lessons from 8 years' experience. *Hum Reprod* 1998, 13:3256-3261.
147. Williams DH 4th, Karpman E, Sander JC, et al. Pretreatment semen parameters in men with cancer. *J Urol* 2009, 181(2):736-740.
148. Ragni G, Somigliana E, Restelli L, et al. Sperm banking and rate of assisted reproduction treatment: insights from a 15-year cryopreservation program for male cancer patients. *Cancer* 2003, 97(7):1624-1629.
149. Wyrobek AJ, Schmid TE, Marchetti F. Relative susceptibilities of male germ cells to genetic defects induced by cancer chemotherapies. *J Natl Cancer Inst Monogr* 2005, (34):31-35.
150. Frias S, Van Hummelen P, Meistrich ML, et al. NOVP chemotherapy for Hodgkin's disease transiently induces sperm aneuploidies associated with the major clinical aneuploidy syndromes involving chromosomes X, Y, 18, and 21. *Cancer Res* 2003, 63(1):44-51.
151. De Mas P, Daudin M, Vincent MC, et al. Increased aneuploidy in spermatozoa from testicular tumour patients after chemotherapy with cisplatin, etoposide and bleomycin. *Hum Reprod* 2001, 16(6):1204-1208.
152. Robbins WA, Meistrich ML, Moore D, et al. Chemotherapy induces transient sex chromosomal and autosomal aneuploidy in human sperm. *Nat Genet* 1997, 16(1):74-78.
153. Schrader M, Müller M, Sofikitis N, et al. "Onco-tese": testicular sperm extraction in azoospermic cancer patients before chemotherapy--new guidelines? *Urology* 2003, 61(2):421-425.
154. Feldschuh J, Brassel J, Durso N, et al. Successful sperm storage for 28 years. *Fertil Steril* 2005; 84:1017.
155. Kelleher S, Wishart SM, Liu PY, et al. Long-term outcomes of elective human sperm cryostorage. *Hum Reprod* 2001, 16(12):2632-2639.
156. Blackhall FH, Atkinson AD, Maaya MB, et al. Semen cryopreservation, utilisation and reproductive outcome in men treated for Hodgkin's disease. *Br J Cancer* 2002, 87:381-384.
157. Schmidt KL, Larsen E, Bangsbøll S, et al. Assisted reproduction in male cancer survivors: fertility treatment and outcome in 67 couples. *Hum Reprod* 2004, 19(12):2806-2810.
158. Agarwal A, Ranganathan P, Kattal N, et al. Fertility after cancer: a prospective review of assisted reproductive outcome with semen specimens. *Fertil Steril* 2004, 81:342-348.
159. Hourvitz A, Goldschlag DE, Davis OK, et al. Intracytoplasmic sperm injection (ICSI) using cryopreserved sperm from men with malignant neoplasm yields high pregnancy rates. *Fertil Steril* 2008, 90(3):557-563.
160. van Casteren NJ, van Santbrink EJ, van Inzen W, et al. Use rate and assisted reproduction technologies outcome of cryopreserved semen from 629 cancer patients. *Fertil Steril* 2008, 90(6):2245-2250.
161. Freour T, Mirallie S, Jean M, Barriere P. Sperm banking and assisted reproductive outcome in men with cancer: a 10 years' experience. *Int J Clin Oncol* 2011 Oct 7 [Epub ahead of print].
162. Bizet P, Saias-Magnan J, Jouve E, et al. Sperm cryopreservation before cancer treatment: a 15-year monocentric experience. *Reprod Biomed Online* 2012, 24(3):321-330.
163. Sanger WG, Olson JH, Sherman JK. Semen cryobanking for men with cancer--criteria change. *Fertil Steril* 1992, 58:1024-1027.
164. Audrins P, Holden CA, McLachlan RI, et al. Semen storage for special purposes at Monash IVF from 1977 to 1997. *Fertil Steril* 1999, 72:179-181.
165. Hallak J, Sharma RK, Thomas AJ Jr, et al. Why cancer patients request disposal of cryopreserved semen specimens posttherapy: a retrospective study. *Fertil Steril* 1998, 69:889-893.
166. Kliesch S, Behre HM, Jurgens H, et al. Cryopreservation of semen from adolescent patients with malignancies. *Med Pediatr Oncol* 1996, 26:20-27.
167. Kamischke A, Jurgens H, Hertle L, et al. Cryopreservation of sperm from adolescents and adults with malignancies. *J Androl* 2004, 25(4):586-589.
168. Stensvold E, Magelssen H, Oskam IC. Fertility-preserving measures for boys and young men with cancer. *Tidsskr Nor Laegeforen* 2011, 131(15):1433-1435.
169. Schmiegelow ML, Sommer P, Carlsen E, et al. Penile vibratory stimulation and electroejaculation before anticancer therapy in two pubertal boys. *J Pediatr Hematol Oncol* 1998, 20(5):429-430.
170. Jeruss JS, Woodruff TK. Preservation of fertility in patients with cancer. *N Engl J Med* 2009, 360(9):902-911.

171. Johnson DH, Linde R, Hainsworth JD, et al. Effect of a luteinizing hormone releasing hormone agonist given during combination chemotherapy on posttherapy fertility in male patients with lymphoma: preliminary observations. *Blood* 1985, 65:832-836.
172. Waxman JH, Ahmed R, Smith D, et al. Failure to preserve fertility in patients with hodgkin's disease. *Cancer Chemother Pharmacol* 1987, 19:159-162.
173. Brennemann W, Brensing KA, Leipner N, et al. Attempted protection of spermatogenesis from irradiation in patients with seminoma by D-Tryptophan-6 luteinizing hormone releasing hormone. *Clin Investig* 1994, 72:838-842.
174. Kreuser ED, Hetzel WD, Hautmann R, et al. Reproductive toxicity with and without LHRHA administration during adjuvant chemotherapy in patients with germ cell tumors. *Horm Metab Res* 1990, 22:494-498.
175. Thomson AB, Anderson RA, Irvine DS, et al. Investigation of suppression of the hypothalamic-pituitary-gonadal axis to restore spermatogenesis in azoospermic men treated for childhood cancer. *Hum Reprod* 2002, 17:1715-1723.
176. Masala A, Faedda R, Alagna S, et al. Use of testosterone to prevent cyclophosphamide-induced azoospermia. *Ann Intern Med* 1997, 126:292-295.
177. Brook PF, Radford JA, Shalet SM, et al. Isolation of germ cells from human testicular tissue for low temperature storage and autotransplantation. *Fertil Steril* 2001, 75:269-274.
178. Nagano M, Patrizio P, Brinster RL. Long-term serviva of human spermatogonial stem cells in mouse testes. *Fertil Steril* 2002, 78:1225-1233.
179. Schlatt S, Honaramooz A, Ehmcke J, et al. Limited survival of adult human testicular tissue as ectopic xenograft. *Human reproduction* 2006, 21(1):384-389.
180. Holoch P, Wald M. Current options for preservation of fertility in the male. *Fertil Steril* 2011, 96(2):286-290.
181. Demeestere I, Moffa F, Peccatori F, et al. Multiple approaches for individualized fertility protective therapy in cancer patients. *Obstet Gynecol Int* 2012, 2012:961232.
182. Kim CH, Jeon GH. Fertility preservation in female cancer patients. *ISRN Obstet Gynecol* 2012, 2012:807302.
183. Morris SN, Ryley D. Fertility preservation: nonsurgical and surgical options. *Semin Reprod Med* 2011, 29(2):147-154.
184. von Wolff M, Montag M, Dittrich R, et al. Fertility preservation in women--a practical guide to preservation techniques and therapeutic strategies in breast cancer, Hodgkin's lymphoma and borderline ovarian tumours by the fertility preservation network FertiPROTEKT. *Arch Gynecol Obstet* 2011, 284(2):427-435.
185. Clough KB, Goffinet F, Labib A, et al. Laparoscopic unilateral ovarian transposition prior to irradiation: prospective study of 20 cases. *Cancer* 1996, 77:2638-2645.
186. Covens AL, Van der Putten HW, Fyles AW, et al. Laparoscopic ovarian transposition. *Eur J Gynaecol Oncol* 1996, 17:177-182.
187. Visvanathan DK, Cutner AS, Cassoni AM, et al. A new technique of laparoscopic ovariopexy before irradiation. *Fertil Steril* 2003, 79:1204-1206.
188. Williams RS, Littell RD, Mendenhall NP. Laparoscopic oophoropexy and ovarian function in the treatment of Hodgkin disease. *Cancer* 1999, 86:2138-2142.
189. Haie-Meder C, Mlika-Cabanne N, Michel G, et al. Radiotherapy after ovarian transposition: ovarian function and fertility preservation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1993, 25:419-424.
190. Morice P, Thiam-Ba R, Castaigne D, et al. Fertility results after ovarian transposition for pelvic malignancies treated by external irradiation or brachytherapy. *Hum Reprod* 1998, 13:660-663.
191. Ferrari S, Persico P, Di Puppo F, et al. Laparoscopic lateral ovarian transposition: a fertility sparing procedure. *Minerva Ginecol* 2009, 61(5):465-468.
192. Bisharah M, Tulandi T. Laparoscopic preservation of ovarian function: an underused procedure. *Am J Obstet Gynecol* 2003, 188:367-370.
193. Martin JR, Kodaman P, Oktay K, Taylor HS. Ovarian cryopreservation with transposition of a contralateral ovary: a combined approach for fertility preservation in women receiving pelvic radiation. *Fertil Steril* 2007, 87:189e5-189e7.
194. Pahisa J, Martinez-Roman S, Martinez-Zamora MA, et al. Laparoscopic ovarian transposition in patients with early cervical cancer. *Int J Gynecol Cancer* 2008, 18:584-589.
195. von Wolff M, Donnez J, Hovatta O, et al. Cryopreservation and autotransplantation of human ovarian tissue prior to cytotoxic therapy-a technique in its infancy but already successful in fertility preservation. *Eur J Cancer* 2009, 45(9):1547-1553.
196. Donnez J, Dolmans MM. Cryopreservation and transplantation of ovarian tissue. *Clin Obstet Gynecol* 2010, 53(4):787-796.
197. Oktay K. Evidence for limiting ovarian tissue harvesting for the purpose of transplantation to women younger than 40 years of age. *J Clin Endocrinol Metab* 2002, 87:1907-1908.

198. Gosden RG, Rutherford AJ, Norfolk DR. Transmission of malignant cells in ovarian grafts. *Hum Reprod* 1997, 12(3):403.
199. Oktay K, Karlikaya G. Ovarian function after transplantation of frozen, banked autologous ovarian tissue. *N Engl J Med* 2000, 342:1919.
200. Demeestere I, Simon P, Emiliani S, et al. Orthotopic and heterotopic ovarian tissue transplantation. *Hum Reprod Update* 2009, 15(6):649-665.
201. Kim SS, Lee WS, Chung MK, et al. Long-term ovarian function and fertility after heterotopic autotransplantation of cryobanked human ovarian tissue: 8-year experience in cancer patients. *Fertil Steril* 2009, 91:2349-2354.
202. Kim SS, Radford J, Harris M, et al. Ovarian tissue harvested from lymphoma patients to preserve fertility may be safe for autotransplantation. *Hum Reprod* 2001, 16:2056-2060.
203. Oktay K, Rodriguez-Wallberg K, Schover L. Preservation of fertility in patients with cancer. *N Engl J Med* 2009, 360(25):2681; author reply 2682-2683.
204. Meirou D, Hardan I, Dor J, et al. Searching for evidence of disease and malignant cell contamination in ovarian tissue stored from hematologic cancer patients. *Hum Reprod* 2008, 23(5):1007-1013.
205. Sánchez-Serrano M, Novella-Maestre E, Roselló-Sastre E, et al. Malignant cells are not found in ovarian cortex from breast cancer patients undergoing ovarian cortex cryopreservation. *Hum Reprod* 2009, 24(9):2238-2243.
206. Azem F, Hasson J, Ben-Yosef D, et al. Histologic evaluation of fresh human ovarian tissue before cryopreservation. *Int J Gynecol Pathol* 2010, 29(1):19-23.
207. Rosendahl M, Timmermans Wielenga V, Nedergaard L, et al. Cryopreservation of ovarian tissue for fertility preservation: no evidence of malignant cell contamination in ovarian tissue from patients with breast cancer. *Fertil Steril* 2011, 95(6):2158-2161.
208. Fabbri R, Venturoli S, D'Errico A, et al. Ovarian tissue banking and fertility preservation in cancer patients: histological and immunohistochemical evaluation. *Gynecol Oncol* 2003, 89(2):259-266.
209. Bittinger SE, Nazaretian SP, Gook DA, et al. Detection of Hodgkin lymphoma within ovarian tissue. *Fertil Steril* 2011, 95(2):803.e3-6.
210. Fabbri R, Pasquinelli G, Keane D, et al. Optimization of protocols for human ovarian tissue cryopreservation with sucrose, 1,2-propanediol and human serum. *Reprod Biomed Online* 2010, 21(6):819-28.
211. Fabbri R, Vicenti R, Macciocca M, et al. Cryopreservation of ovarian tissue in pediatric patients. *Obstet Gynecol Int* 2012, 2012:910698.
212. Moffa F, Biacchiardi CP, Fagioli F, et al. Ovarian tissue cryostorage and grafting: an option to preserve fertility in pediatric patients with malignancies. *Pediatr Hematol Oncol* 2007, 24(1):29-44.
213. Dittrich R, Lotz L, Keck G, et al. Live birth after ovarian tissue autotransplantation following overnight transportation before cryopreservation. *Fertil Steril* 2012, 97(2):387-390.
214. Varghese AC, Du Plessis SS, Falcone T, Agarwal A. Cryopreservation/ transplantation of ovarian tissue and in vitro maturation of follicles and oocytes: challenges for fertility preservation. *Reprod Biol Endocrinol* 2008, 6:47.
215. Johnson J, Patrizio P. Ovarian cryopreservation strategies and the fine control of ovarian follicle development in vitro. *Ann N Y Acad Sci* 2011, 1221:40-46.
216. Revelli A, Molinari E, Salvagno F, et al. Oocyte cryostorage to preserve fertility in oncological patients. *Obstet Gynecol Int* 2012, 2012:525896.
217. Noyes N, Knopman JM, Melzer K, et al. Oocyte cryopreservation as a fertility preservation measure for cancer patients. *Reprod Biomed Online* 2011, 23(3):323-333.
218. Michaan N, Ben-David G, Ben-Yosef D, et al. Ovarian stimulation and emergency in vitro fertilization for fertility preservation in cancer patients. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2010, 149(2):175-177.
219. Sönmezer M, Türkçüoğlu I, Coşkun U, Oktay K. Random-start controlled ovarian hyperstimulation for emergency fertility preservation in letrozole cycles. *Fertil Steril* 2011, 95(6):2125.e9-11.
220. Bedoschi GM, de Albuquerque FO, Ferriani RA, Navarro PA. Ovarian stimulation during the luteal phase for fertility preservation of cancer patients: case reports and review of the literature. *J Assist Reprod Genet* 2010, 27(8):491-494.
221. Oktay K. Further evidence on the safety and success of ovarian stimulation with letrozole and tamoxifen in breast cancer patients undergoing in vitro fertilization to cryopreserve their embryos for fertility preservation. *J Clin Oncol* 2005, 23:3858-3859.
222. Oktay K, Buyuk E, Libertella N, et al. Fertility preservation in breast cancer patients: a prospective controller comparison of ovarian stimulation with tamoxifen and letrozole for embryo cryopreservation. *J Clin Oncol* 2005, 23:4347-4353.
223. Oktay K, Buyuk E, Rosenwaks Z. Novel use of an aromatase inhibitor for fertility preservation via embryo cryopreservation in endometrial cancer: a case report. *Fertility and Sterility* 2003, 80:144.
224. Biljan MM, Hemmings R, Brassard N. The outcome of 150 babies following the treatment with letrozole or letrozole and gonadotropins. *Fertil Steril* 2005; 84 (supp.1); O-231 (Abstract 1033).

225. Tulandi T, Martin J, Al-Fadhli, et al. Congenital malformations among 911 newborns conceived after infertility treatment with letrozole or clomiphene citrate. *Fertil Steril* 2006, 85:1761-1765.
226. Friedler S, Koc O, Gidoni Y, et al. Ovarian response to stimulation for fertility preservation in women with malignant disease: a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril* 2012, 97(1):125-133.
227. Das M, Shehata F, Moria A, et al. Ovarian reserve, response to gonadotropins, and oocyte maturity in women with malignancy. *Fertil Steril* 2011, 96(1):122-125.
228. Justice HM, Counselman FL. Ovarian hyperstimulation syndrome: an important complication of in vitro fertilization. *Am J Emerg Med* 2008, 26(1):115.e3-4.
229. Humaidan P, Quartarolo J, Papanikolaou EG. Preventing ovarian hyperstimulation syndrome: guidance for the clinician. *Fertil Steril* 2010, 94(2):389-400.
230. Oktay K, Türkçüoğlu I, Rodriguez-Wallberg KA. GnRH agonist trigger for women with breast cancer undergoing fertility preservation by aromatase inhibitor/FSH stimulation. *Reprod Biomed Online* 2010, 20(6):783-788.
231. Griesinger G, Diedrich K, Devroey P, Kolibianakis EM. GnRH agonist for triggering final oocyte maturation in the GnRH antagonist ovarian hyperstimulation protocol: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update* 2006, 12(2):159-168.
232. Fabbri R, Porcu E, Marsella T, et al. Human oocyte cryopreservation: new perspectives regarding oocyte survival. *Hum Reprod* 2001, 16:411-416.
233. Bianchi V, Coticchio G, Fava L, et al. Meiotic spindle imaging in human oocytes frozen with a slow freezing procedure involving high sucrose concentration. *Hum Reprod* 2005, 20:1078-1083.
234. Tatone C, Di Emidio G, Barbaro R, et al. Effects of reproductive aging and postovulatory aging on the maintenance of biological competence after oocyte vitrification: insights from the mouse model. *Theriogenology* 2011, 76(5):864-873.
235. De Santis L, Cino I, Coticchio G, et al. Objective evaluation of the viability of cryopreserved oocytes. *Reprod Biomed Online* 2007, 15:338-345.
236. Parmegiani L, Cognigni GE, Bernardi S, et al. Freezing within 2 h from oocyte retrieval increases the efficacy of human oocyte cryopreservation when using a slow freezing/rapid thawing protocol with high sucrose concentration. *Hum Reprod* 2008, 23:1771-1777.
237. Magli MC, Lappi M, Ferraretti AP, et al. Impact of oocyte cryopreservation on embryo development. *Fertil Steril* 2010, 93:510-516.
238. Smith GD, Serafini PC, Fioravanti J, et al. Prospective randomized comparison of human oocyte cryopreservation with slow-rate freezing or vitrification. *Fertil Steril* 2010, 94(6):2088-2095.
239. Cobo A, Diaz C. Clinical application of oocyte vitrification: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Fertil Steril* 2011, 96(2):277-285.
240. Chen SU, Yang YS. Slow freezing or vitrification of oocytes: their effects on survival and meiotic spindles, and the time schedule for clinical practice. *Taiwan J Obstet Gynecol* 2009, 48(1):15-22.
241. Cao YX, Xing Q, Li L, et al. Comparison of survival and embryonic development in human oocytes cryopreserved by slow-freezing and vitrification. *Fertil Steril* 2009, 92(4):1306-1311.
242. Azim AA, Costantini-Ferrando M, Oktay K. Safety of fertility preservation by ovarian stimulation with letrozole and gonadotropins in patients with breast cancer: a prospective controlled study. *J Clin Oncol* 2008, 26(16):2630-2635.
243. Yun-Xia Cao, Ri-Cheng Chian. Fertility Preservation with Immature and in Vitro Matured Oocytes. *Semin Reprod Med* 2009, 27(6):456-464.
244. Fadini R, Dal Canto MB, Mignini Renzini M, et al. Effect of different gonadotrophin priming on IVM of oocytes from women with normal ovaries: a prospective randomized study. *Reprod Biomed Online* 2009, 19(3):343-351.
245. Borini A, Levi Setti PE, Anserini P, et al. Multicenter observational study on slow-cooling oocyte cryopreservation: clinical outcome. *Fertil Steril* 2010, 94(5):1662-1668.
246. La Sala GB, Vicoli A, Villani MT, et al. Outcome of 518 salvage oocyte-cryopreservation cycles performed as a routine procedure in an in vitro fertilization program. *Fertil Steril* 2006, 86:1423-1427.
247. Levi Setti PE, Albani E, Novara PV, et al. Cryopreservation of supernumerary oocytes in IVF/ICSI cycles. *Hum Reprod* 2006, 21:370-375.
248. Porcu E, Bazzocchi A, Notarangelo L, et al. Human oocyte cryopreservation in infertility and oncology. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 2008, 15(6):529-535.
249. Parmegiani L, Bertocci F, Garello C, et al. Efficacy of human oocyte slow freezing: results from five assisted reproduction centres. *Reprod Biomed Online* 2009, 18:352-359.
250. Ubaldi F, Anniballo R, Romano S, et al. Cumulative ongoing pregnancy rate achieved with oocyte vitrification and cleavage stage transfer without embryo selection in a standard infertility program. *Hum Reprod* 2010, 25(5):1199-1205.

251. Bianchi V, Lappi M, Bonu MA, Borini A. Oocyte slow freezing using a 0.2-0.3 M sucrose concentration protocol: is it really the time to trash the cryopreservation machine? *Fertil Steril* 2012, 97:1101-1107.
252. Kim TJ, Laufer LR, Hong SW. Vitrification of oocytes produces high pregnancy rates when carried out in fertile women. *Fertil Steril* 2010, 93(2):467-474.
253. Cobo A, Domingo J, Pérez S, et al. Vitrification: an effective new approach to oocyte banking and preserving fertility in cancer patients. *Clin Transl Oncol* 2008, 10(5):268-273.
254. Grifo JA, Noyes N. Delivery rate using cryopreserved oocytes is comparable to conventional in vitro fertilization using fresh oocytes: potential fertility preservation for female cancer patients. *Fertil Steril* 2010, 93(2):391-396.
255. [www.iss.it/rpma/](http://www.iss.it/rpma/) Dati Italiani 2009
256. Wennerholm UB, Söderström-Anttila V, Bergh C, et al. Children born after cryopreservation of embryos or oocytes: a systematic review of outcome data. *Hum Reprod* 2009, 24(9):2158-2172.
257. Noyes N, Porcu E, Borini A. Over 900 oocyte cryopreservation babies born with no apparent increase in congenital anomalies. *Reprod Biomed Online* 2009, 18:769-776.
258. Chian RC, Huang JY, Tan SL, et al. Obstetric and perinatal outcome in 200 infants conceived from vitrified oocytes. *Reprod Biomed Online* 2008, 16(5):608-610.
259. Scaravelli G, Vigilano V, Mayorga JM, et al. Analysis of oocyte cryopreservation in assisted reproduction: the Italian National Register data from 2005 to 2007. *Reprod Biomed Online* 2010, 21(4):496-500.
260. Noyes N, Boldt J, Nagy ZP. Oocyte cryopreservation: is it time to remove its experimental label? *J Assist Reprod Genet* 2010, 27:69-74.
261. Rivkees AS, Crawford JD. The relationship of gonadal activity and chemotherapy-induced gonadal damage. *JAMA* 1988, 259:2123-2125.
262. Bokser L, Szende B, Schally AV. Protective effects of D-Trp6-luteinising hormone releasing hormone microcapsules against cyclophosphamide-induced gonadotoxicity in female rats. *Br J Cancer* 1990, 61:861-865.
263. Ataya KM, McKanna JA, Weintraub AM, et al. A luteinizing hormone-releasing hormone agonist for the prevention of chemotherapy-induced ovarian follicular loss in rats. *Cancer Res* 1985, 45(8):3651-3656.
264. Ataya K, Rao LV, Lawrence E, Kimmel R. Luteinizing hormone-releasing hormone agonist inhibits cyclophosphamide-induced ovarian follicular depletion in rhesus monkeys. *Biol Reprod* 1995, 52(2):365-372.
265. Blumenfeld Z. How to preserve fertility in young women exposed to chemotherapy? The role of GnRH agonist cotreatment in addition to cryopreservation of embryo, oocytes or ovaries. *Oncologist* 2007, 12:1044-1054.
266. Kitajima Y, Endo T, Nagasawa K, et al. Hyperstimulation and a gonadotropin-releasing hormone agonist modulate ovarian vascular permeability by altering expression of the tight junction protein claudin-5. *Endocrinology* 2006, 147: 725-748.
267. Imai A, Sugiyama M, Furui T, et al. Direct protection by a gonadotropin-releasing hormone analog from doxorubicin-induced granulose cell damage. *Gynecol Obstet Invest* 2007, 63:102-106.
268. Franke HR, Smit WM, Vermes I. Gonadal protection by a gonadotropin-releasing hormone agonist depot in young women with Hodgkin's disease undergoing chemotherapy. *Gynecol Endocrinol* 2005, 20:274-278.
269. Pereyra Pacheco B, Méndez Ribas JM, Milone G, et al. Use of GnRH analogs for functional protection of the ovary and preservation of fertility during cancer treatment in adolescents: A preliminary report. *Gynecol Oncol* 2001, 81:391-397.
270. Oktay K, Sonmezer M, Oktem O, et al. Absence of conclusive evidence for the safety and efficacy of Gonadotropin-Releasing Hormone Analogue treatment in protecting against chemotherapy-induced gonadal injury. *Oncologist* 2007, 12:1055-1066.
271. Blumenfeld Z, Avivi I, Linn S, et al.: Prevention of irreversible chemotherapy- induced ovarian damage in young women with lymphoma by a gonadotrophin-releasing hormone agonist in parallel to chemotherapy. *Hum Reprod* 1996, 11:1620 -1626.
272. Blumenfeld Z, Shapiro D, Shteinberg M, et al. Preservation of fertility and ovarian function and minimizing gonadotoxicity in young women with systemic lupus erythematosus treated by chemotherapy. *Lupus* 2000, 9:401-405.
273. Somers EC, Marder W, Christman GM, et al. Use of a gonadotropin-releasing hormone analog for protection against premature ovarian failure during cyclophosphamide therapy in women with severe lupus. *Arthritis Rheum* 2005, 52:2761-2767.
274. Dann EJ, Epelbaum R, Avivi I, et al.: Fertility and ovarian function are preserved in women treated with an intensified regimen of cyclophosphamide, adriamycin, vincristine and prednisone (Mega-CHOP) for non-Hodgkin lymphoma. *Hum Reprod* 2005, 20:2247-2249.
275. Elis A, Tevet A, Yerushalmi R, et al. Fertility status among women treated for aggressive non Hodgkin's lymphoma. *Leuk Lymphoma* 2006, 47:623- 627.
276. Del Mastro, Catzeddu T, Boni L, et al. Prevention of chemotherapy-induced menopause by temporary ovarian suppression with goserelin in young, early breast cancer patients. *Ann Oncol* 2006, 17:74-78.

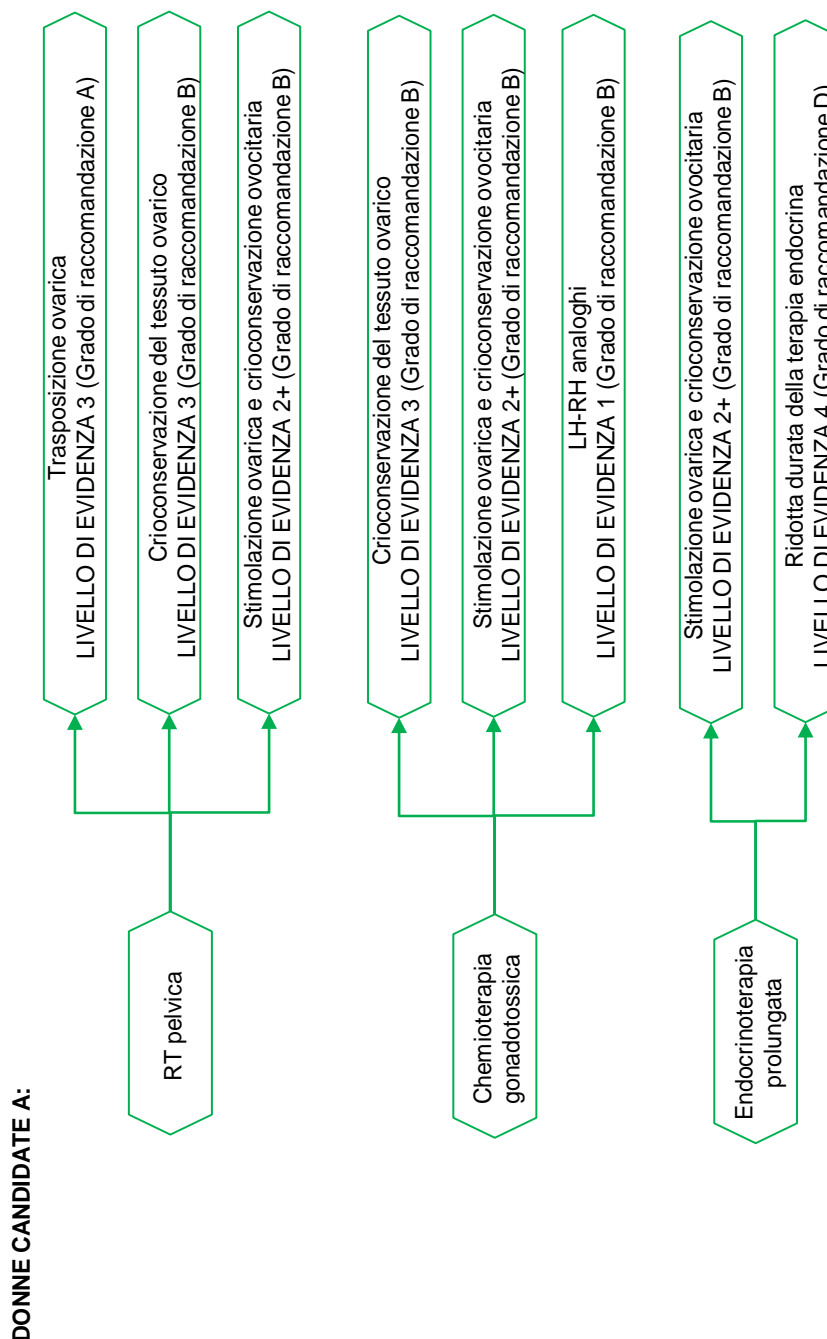
277. Recchia F, Saggio G, Amiconi G, et al. Gonadotropin-releasing hormone analogues added to adjuvant chemotherapy protect ovarian function and improve clinical outcomes in young women with early breast carcinoma. *Cancer* 2006, 106:514-523.
278. Giuseppe L, Attilio G, Edoardo DN, et al. Ovarian function after cancer treatment in young women affected by Hodgkin disease (HD). *Hematology* 2007, 12:141-147.
279. Castelo-Branco C, Nomdedeu B, Camus A, et al. Use of gonadotropin-releasing hormone agonists in patients with Hodgkin's disease for preservation of ovarian function and reduction of gonadotoxicity related to chemotherapy. *Fertil Steril* 2007, 87:702-705.
280. Blumenfeld Z, Avivi I, Eckman A, et al. Gonadotropin-releasing hormone agonist decreases chemotherapy-induced gonadotoxicity and premature ovarian failure in young female patients with Hodgkin lymphoma. *Fertil Steril* 2008, 89:166-173.
281. Huser M, Crha I, Ventruba P, et al. Prevention of ovarian function damage by a GnRH analogue during chemotherapy in Hodgkin lymphoma patients. *Hum Reprod* 2008, 23:863-868.
282. Fox KR, Scialla J, Moore H, et al. Preventing chemotherapy-related amenorrhea using leuprolide during adjuvant chemotherapy for early-stage breast cancer. *Proc Am Soc Clin Oncol* 2003, 22:13 (Abstract 50).
283. Urriticoechea A, Walsh G, Rigg A, et al. Ovarian function prevention with goserelin during adjuvant chemotherapy in premenopausal women with early breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2004, 88 (Suppl. 1): S229 (Abstract 6028).
284. Badawy A, Elnashar A, El-Ashry M, Shahat M. Gonadotropin-releasing hormone agonists for prevention of chemotherapy-induced ovarian damage: prospective randomized study. *Fertility and sterility* 2009, 91(3):694-697.
285. Del Mastro L, Boni L, Michelotti A, et al. Effect of the gonadotropin-releasing hormone analogue triptorelin on the occurrence of chemotherapy-induced early menopause in premenopausal women with breast cancer: a randomized trial. *JAMA* 2011, 306(3):269-276.
286. Gerber B, von Minckwitz G, Stehle H, et al. German Breast Group Investigators. Effect of luteinizing hormone-releasing hormone agonist on ovarian function after modern adjuvant breast cancer chemotherapy: the GBG 37 ZORO study. *J Clin Oncol* 2011, 29(17):2334-2341.
287. Munster PN, Moore AP, Ismail-Khan R, et al. Randomized trial using gonadotropin-releasing hormone agonist triptorelin for the preservation of ovarian function during (neo)adjuvant chemotherapy for breast cancer. *J Clin Oncol* 2012, 30(5):533-538.
288. Dargent D, Martin X, Sacchetoni A, Mathevet P. Laparoscopic vaginal radical trachelectomy: a treatment to preserve the fertility of cervical carcinoma patients. *Cancer* 2000, 88:1877-1882.
289. Plante M, Renaud MC, Francois H, et al. Vaginal radical trachelectomy: an oncologically safe fertility-preserving surgery. An updated series of 72 cases and review of the literature. *Gynecol Oncol* 2004, 94:614-623.
290. Sonoda Y, Abu-Rustum NR, Gemignani ML, et al. A fertility-sparing alternative to radical hysterectomy: how many patients may be eligible? *Gynecol Oncol* 2004, 95:534-538.
291. Schneider A, Erdemoglu E, Chiantera V, et al. Clinical Recommendation Radical Trachelectomy for Fertility Preservation in Patients With Early-Stage Cervical Cancer. *Int J Gynecol Cancer* 2012, 22:659-666.
292. Covens A, Shaw P, Murphy J, et al. Is radical trachelectomy a safe alternative to radical hysterectomy for patients with stage IA-B carcinoma of the cervix? *Cancer* 1999, 86:2273-2279.
293. Diaz J, Sonoda Y, Leitao M, et al. Oncologic outcome of fertility-sparing radical trachelectomy versus radical hysterectomy for stage IB1 cervical carcinoma. *Gynecol Oncol* 2008, 111:255-260.
294. Morice P, Dargent D, Haie-Meder C, et al. First case of a centropelvic recurrence after radical trachelectomy: literature review and implications for the preoperative selection of patients. *Gynecol Oncol* 2004, 92:1002-1005.
295. Shepherd J, Milliken D. Conservative surgery for carcinoma of the cervix. *Clin Oncol* 2008, 20:395-400.
296. Rob L, Pluta M, Strnad P, et al. A less radical treatment option to the fertility-sparing radical trachelectomy in patients with stage I cervical cancer. *Gynecol Oncol* 2008, 111:S116-120.
297. Pareja R, Ramirez P, Borrero M, Angel G. Abdominal radical trachelectomy for invasive cervical cancer: a case series and literature review. *Gynecol Oncol* 2008, 111:555-560.
298. Speiser D, Mangler M, Kohler C, et al. Fertility outcome after radical vaginal trachelectomy: a prospective study of 212 patients. *Int J Gynecol Cancer* 2011, 21:1635-1639.
299. Jolley J, Battista L, Wing DA. Management of pregnancy after radical trachelectomy: case reports and systematic review of the literature. *Am J Perinatol* 2007, 24:531-539.
300. Koliopoulos G, Sotiriadis A, Kyrgiou M, et al. Conservative surgical methods for FIGO stage IA2 squamous cervical carcinoma and their role in preserving women's fertility. *Gynecol Oncol* 2004, 93:469-473.
301. Shepherd JH, Mould T, Oram DH. Radical trachelectomy in early stage carcinoma of the cervix: outcome as judged by recurrence and fertility rates. *BJOG* 2001, 108:882-885.
302. Bernardini M, Barrett J, Seaward G, et al. Pregnancy outcomes in patients after radical trachelectomy. *Am J Obstet Gynecol* 2003, 189:1378-1382.



303. Maneo A, Chiari S, Bonazzi C, Mangioni C. Neoadjuvant chemotherapy and conservative surgery for stage IB1 cervical cancer. *Gynecol Oncol* 2008, 11:438-43.
304. Raju SK, Papadopoulos AJ, Montalto SA, et al. Fertility-sparing surgery for early cervical cancer-approach to less radical surgery. *Int J Gynecol Cancer* 2012, 22(2):311-317.
305. Nam JH. Borderline ovarian tumors and fertility. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2010, 22(3):227-234.
306. Satoh T, Hatae M, Watanabe Y, et al. Outcomes of fertility-sparing surgery for stage I epithelial ovarian cancer: a proposal for patient selection. *J Clin Oncol* 2010, 28:1727-1732.
307. Shusterman S, Meadows AT. Long term survivors of childhood leukemia. *Curr Opin Hematol* 2000, 7:217-222.
308. Zanetta G, Bonazzi C, Cantu M, et al. Survival and reproductive function after treatment of malignant germ cell ovarian tumors. *J Clin Oncol* 2001, 19:1015-1020.
309. Morice P, Denschlag D, Rodolakis A, et al. Fertility Task Force of the European Society of Gynecologic Oncology. Recommendations of the Fertility Task Force of the European Society of Gynecologic Oncology about the conservative management of ovarian malignant tumors. *Int J Gynecol Cancer* 2011, 21(5):951-963.
310. Hu J, Zhu LR, Liang ZQ, et al. Clinical outcomes of fertility-sparing treatments in young patients with epithelial ovarian carcinoma. *J Zhejiang Univ Sci B* 2011, 12(10):787-795.
311. Kajiyama H, Shibata K, Mizuno M, et al. Long-term survival of young women receiving fertility-sparing surgery for ovarian cancer in comparison with those undergoing radical surgery. *Br J Cancer* 2011, 105(9):1288-1294.
312. Picone O, Aucoeurier JS, Louboutin A, et al. Abdominal wall metastasis of a cervical adenocarcinoma at the laparoscopic trocar insertion site after ovarian transposition: case report and review of the literature. *Gynecol Oncol* 2003, 90:446-449.
313. Ramirez PT, Frumovitz M, Bodurka DC, et al. Hormonal therapy for the management of grade 1 endometrial adenocarcinoma: a literature review. *Gynecol Oncol* 2004, 95(1):133-138.
314. Han AR, Kwon YS, Kim DY, et al. Pregnancy outcomes using assisted reproductive technology after fertility-preserving therapy in patients with endometrial adenocarcinoma or atypical complex hyperplasia. *Int J Gynecol Cancer* 2009, 19(1):147-151.

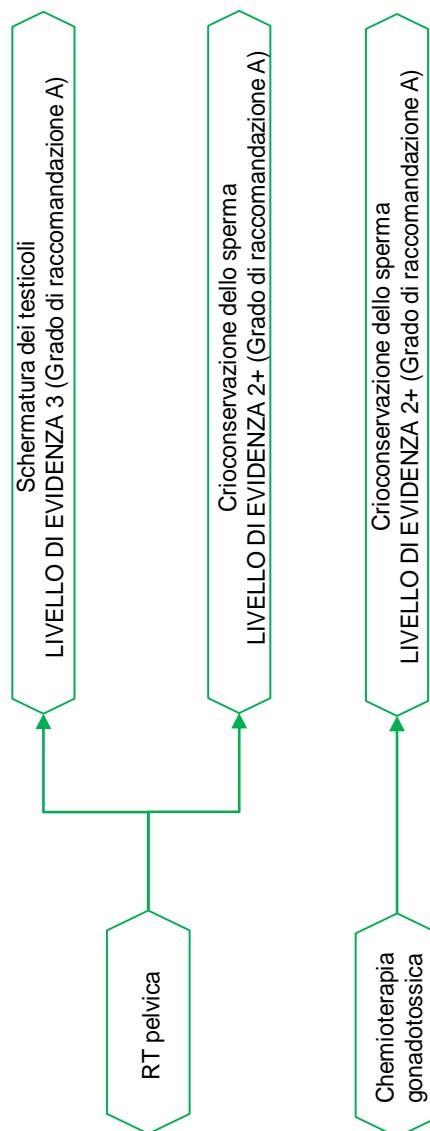
## 6. Algoritmi

### ALGORITMO 1 - PRESERVAZIONE DELLA FERTILITA' NELLE PAZIENTI ONCOLOGICHE



## ALGORITMO 2 - PRESERVAZIONE DELLA FERTILITA' NEI PAZIENTI ONCOLOGICI

UOMINI CANDIDATI A:



## 7. Raccomandazioni prodotte con metodologia GRADE

**QUESITO:** Nelle pazienti in premenopausa candidate a trattamento chemioterapico per neoplasia mammaria sono raccomandabili gli analoghi LH-RH per la preservazione della funzionalità ovarica?

**La raccomandazione:** Nelle pazienti in premenopausa candidate a trattamento chemioterapico per neoplasia mammaria gli analoghi LH-RH **possono essere utilizzati**

**Forza della raccomandazione:** positiva debole

**Motivazioni/commenti:** I rischi legati al trattamento (LH-RH analoghi), non riportati nella maggior parte degli studi, sono noti e da considerarsi clinicamente poco rilevanti rispetto al beneficio atteso.

**Qualità delle evidenze:** La qualità globale delle evidenze è stata giudicata **MODERATA** per le seguenti motivazioni: tre studi sui quattro valutati avevano un sample size inadeguato e serie problematiche metodologiche: alcuni risultati derivavano da analisi ad interim non pianificate e sono stati riscontrati problemi di allocation concealment.

E' stata rilevata una certa quota di eterogeneità tra gli studi (anche se non è stata effettuata una meta-analisi di essi) per quanto riguarda la lunghezza dei follow-up, sbilanciamenti sull'età delle pazienti arruolate, differenti numerosità campionarie analizzate e definizioni degli outcome.

Questa raccomandazione è stata prodotta con metodo GRADE.

In appendice online: quesito clinico all'origine della raccomandazione, votazione della criticità degli outcome, tabella GRADE completa e caratteristiche del panel.