



Linee guida

PRESERVAZIONE DELLA FERTILITÀ NEI PAZIENTI ONCOLOGICI

Edizione 2017

Aggiornamento 27 ottobre 2017



Coordinatore	Lucia Del Mastro	U.O. Sviluppo Terapie Innovative - Ospedale Policlinico San Martino-IRCCS per l'Oncologia - Genova	
Segretario	Matteo Lambertini	Oncologia Medica - Institut Jules Bordet - Bruxelles (Belgio)	
Estensori	Paola Anserini	S.S. Fisiopatologia della Riproduzione Umana - Ospedale Policlinico San Martino-IRCCS per l'Oncologia - Genova	
	Fedro Alessandro Peccatori	Fertilità e Procreazione, Div. Oncologia Ginecologica - Istituto Europeo di Oncologia - Milano	
	Mario Valenzano Menada	Clinica Ostetrica e Ginecologica, Università di Genova DINOEMI - Genova	
Revisori	Saverio Cinieri	AIOM	Oncologia - ASL Brindisi - Brindisi
	Giuseppe De Placido	SIOG / SIGO	Dipartimento di Neuroscienze e Scienze riproduttive ed odontostomatologiche - Università degli Studi di Napoli Federico II - Napoli
	Cristofaro De Stefano	SIOG / SIGO	Fisiopatologia della riproduzione e sterilità di coppia - Ospedale San Giuseppe Moscati - Avellino
	Giancarlo Morrone	SIA	Fisiopatologia della Riproduzione, Procreazione Medicalmente Assistita e Andrologia - Azienda Ospedaliera di Cosenza - Cosenza
	Giuseppina Peluso	SIA	Fisiopatologia della Riproduzione, Procreazione Medicalmente Assistita e Andrologia - Azienda Ospedaliera di Cosenza - Cosenza
	Paolo Scollo	SIOG / SIGO	Dipartimento Materno-Infantile - Azienda Ospedaliera 'Cannizzaro' - Catania

Indice


1. Introduzione	7
2. Diventare genitori dopo il cancro.....	9
3. Rischio di infertilità correlato ai trattamenti antitumorali.....	11
3.1 Chemioterapia e terapia endocrina	13
3.2 Radioterapia	14
4. Tecniche di preservazione della fertilità.....	15
4.1 Il quadro legislativo Italiano	16
4.2 Tecniche di preservazione della fertilità nell'uomo	16
4.2.1 Crioconservazione del seme	17
4.2.2 Protezione gonadica con trattamenti ormonali.....	19
4.2.3 Altri metodi di preservazione della fertilità nell'uomo.....	19
4.3 Tecniche di preservazione della fertilità nella donna	20
4.3.1 Trasposizione ovarica (ooforopessi).....	21
4.3.2 Crioconservazione di tessuto ovarico.....	22
4.3.3 Crioconservazione ovocitaria	24
4.3.4 Crioconservazione dell'embrione.....	27
4.3.5 Utilizzo di tecniche di PMA dopo trattamento di neoplasia maligna.....	28
4.3.6 Utilizzo di LHRH analoghi in concomitanza a chemioterapia	29
5. Trattamenti conservativi per tumori ginecologici.....	35
6. Figure.....	44
7. Raccomandazioni prodotte con metodologia GRADE	46
8. Bibliografia	47

Allegato: Tabelle GRADE evidence profile

Come leggere le raccomandazioni *

Le raccomandazioni cliniche fondamentali vengono presentate in tabelle e vengono corredate dalla qualità delle evidenze a supporto e dalla forza della raccomandazione

Nel caso in cui la qualità delle evidenze è stata valutata con metodologia SIGN (Scottish Intercollegiate Guidelines Network) la riga d'intestazione della tabella è **verde**, mentre è in **arancione** nel caso di applicazione del metodo GRADE (v. capitolo specifico alla fine di ogni linea guida).

Qualità dell'evidenza SIGN (1)	Raccomandazione clinica (3)	Forza della raccomandazione clinica (2)
B 	Nel paziente oncologico in fase avanzata di malattia, con dolore di diversa etiologia, la somministrazione di FANS e paracetamolo dovrebbe essere effettuata per periodi limitati e con attenzione ai possibili effetti collaterali.	Positiva debole

(1) Qualità dell'evidenza SIGN: PRECEDE LA RACCOMANDAZIONE

Nell'approccio SIGN, la qualità delle evidenze a sostegno della raccomandazione veniva valutata tenendo conto sia del disegno dello studio sia di come esso era stato condotto: il *Livello di Evidenza* veniva riportato nel testo a lato della descrizione dei soli studi ritenuti rilevanti a sostegno o contro uno specifico intervento.

Livelli di Evidenza SIGN

1	Revisioni sistematiche e meta-analisi di RCT o singoli RCT
1 ++	Rischio di bias molto basso.
1 +	Rischio di bias basso.
1 -	Rischio di Bias elevato -> i risultati dello studio non sono affidabili.
2	Revisioni sistematiche e meta-analisi di studi epidemiologici di caso/controllo o di coorte o singoli studi di caso/controllo o di coorte.
2 ++	Rischio di bias molto basso, probabilità molto bassa di fattori confondenti, elevata probabilità di relazione causale tra intervento e effetto.
2 +	Rischio di bias basso, bassa probabilità presenza fattori di confondimento, moderata probabilità di relazione causale tra intervento e effetto.
2 -	Rischio di Bias elevato -> i risultati dello studio non sono affidabili, esiste un elevato rischio che la relazione intervento/effetto non sia causale.
3	Disegni di studio non analitici come report di casi e serie di casi.
4	Expert opinion.

La *Qualità Globale delle Evidenze SIGN* veniva quindi riportata con lettere (A, B, C, D) che sintetizzavano il disegno dei singoli studi, unitamente all'indicazione sulla diretta applicabilità delle evidenze e alla eventuale estrapolazione delle stesse dalla casistica globale.

Ogni lettera indicava la "**fiducia**" nell'intero corpo delle evidenze valutate a sostegno della raccomandazione; **NON** riflettevano l'importanza clinica della stessa e **NON** erano sinonimo della forza della raccomandazione clinica.

Qualità Globale delle Evidenze SIGN

A	Almeno una meta-analisi o revisione sistematica o RCT valutato 1++ e direttamente applicabile alla popolazione target <i>oppure</i>
	Il corpo delle evidenze disponibili consiste principalmente in studi valutati 1+ direttamente applicabili alla popolazione target e con risultati coerenti per direzione e dimensione dell'effetto
B	Il corpo delle evidenze include studi valutati 2++ con risultati applicabili direttamente alla popolazione target e con risultati coerenti per direzione e dimensione dell'effetto.
	Evidenze estrapolate da studi valutati 1++ o 1+
C	Il corpo delle evidenze include studi valutati 2+ con risultati applicabili direttamente alla popolazione target e con risultati coerenti per direzione e dimensione dell'effetto.
	Evidenze estrapolate da studi valutati 2++
D	Evidenze di livello 3 o 4
	Evidenze estrapolate da studi valutati 2+

Dal 2016 le LG AIOM hanno abbandonato il SIGN in quanto quest'ultimo ha deciso di integrare il GRADE come metodo per la sola valutazione della qualità delle evidenze suddivisa in quattro livelli: MOLTO BASSA, BASSA, MODERATA, ALTA*.

Per raccomandazioni prodotte dal 2016, infatti, la tabella delle raccomandazioni subisce delle leggere modifiche e si avvicina a quella derivante da tutto il processo formale GRADE.

Qualità Globale delle evidenze	Raccomandazione	Forza della raccomandazione clinica
ALTA	I pazienti con tumore pN+ oppure sottoposti a intervento resettivo senza adeguata linfadenectomia (<D2) o anche R1 devono essere sottoposti a radiochemioterapia adiuvante (68,73)	Positiva forte

(2) LA FORZA DELLA RACCOMANDAZIONE CLINICA

La forza della raccomandazione clinica viene graduata in base all'importanza clinica, su 4 livelli:

Forza della raccomandazione clinica	Terminologia	Significato
Positiva Forte	“Nei pazienti con (criteri di selezione) l'intervento xxx dovrebbe essere preso in considerazione come opzione terapeutica di prima intenzione”	L'intervento in esame dovrebbe essere considerato come prima opzione terapeutica (evidenza che i benefici sono prevalenti sui danni)
Positiva Debole	“Nei pazienti con (criteri di selezione) l'intervento xxx può essere preso in considerazione come opzione terapeutica di prima intenzione, in alternativa a yyy”	L'intervento in esame può essere considerato come opzione di prima intenzione, consapevoli dell'esistenza di alternative ugualmente proponibili (incertezza riguardo alla prevalenza dei benefici sui danni)

Forza della raccomandazione clinica	Terminologia	Significato
Negativa Debole	“Nei pazienti con (criteri di selezione) l’intervento xxx non dovrebbe essere preso in considerazione come opzione terapeutica di prima intenzione, in alternativa a yyy”	L’intervento in esame non dovrebbe essere considerato come opzione di prima intenzione; esso potrebbe comunque essere suscettibile di impiego in casi altamente selezionati e previa completa condivisione con il paziente (incertezza riguardo alla prevalenza dei danni sui benefici)
Negativa Forte	“Nei pazienti con (criteri di selezione) l’intervento xxx non deve essere preso in considerazione come opzione terapeutica di prima intenzione”	L’intervento in esame non deve essere in alcun caso preso in considerazione (evidenza che i danni sono prevalenti sui benefici)

(3) LA RACCOMANDAZIONE CLINICA

Deve esprimere l’importanza clinica di un intervento/procedura. Dovrebbe essere formulata sulla base del P.I.C.O.* del quesito (popolazione, intervento, confronto, outcome). In alcuni casi può contenere delle specifiche per i sottogruppi, indicate con il simbolo √.

* La descrizione complete delle metodologie applicate alle LG AIOM e la modalità di formulazione del quesito clinico sono reperibili sul sito www.aiom.it

SIGN= *Scottish Intercollegiate Guidelines Network*

GRADE= *Grading of Recommendations Assessment, Development and Evaluation*

Le informazioni complete relative al processo GRADE sono riportate nel capitolo successivo a quello delle FIGURE.

1. Introduzione

Ogni giorno in Italia vengono diagnosticati almeno 30 nuovi casi di tumore in pazienti di età inferiore ai 40 anni, pari al 3% della casistica generale (364.000 nuovi casi nel 2012 - stima AIRTUM)¹. Riferendosi per maggior precisione ai soli casi registrati, su un totale di 254.979 nuovi iscritti nei Registri Tumori nel 2010, i pazienti al di sotto dei 40 anni sono 7.828, con netta prevalenza per il sesso femminile (4.897 donne vs. 2.931 uomini)². 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 uterina, e carcinoma del colon-retto¹.

La possibile comparsa di sterilità o 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 giovanile³⁻⁶, ma anche a causa dello spostamento in avanti dell'età alla prima gravidanza nei paesi occidentali^{7,8}. 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 2025⁹. Un recente studio australiano ha evidenziato come il timore di sterilità secondaria non sia strettamente legato a un progetto concreto di procreazione, ma abbia più ampiamente a che fare con la sfera profonda dell'identità sessuale nel suo complesso¹⁰. 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%)^{11,12}. 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 (maternità surrogata)^{13,14}. 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^{15,16}. 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^{13,14,17}.

Alcuni dati evidenziano che i pazienti infertili con pregressa diagnosi di cancro, presentano, rispetto a pazienti infertili per altri motivi, qualità di vita (depressione¹⁸, ansia¹⁹) e funzione sessuale meno soddisfacenti²⁰⁻²².

Sebbene evidenze suggeriscano come alcuni pazienti preferirebbero ricevere trattamenti anche meno efficaci pur di prevenire complicazioni a lungo termine^{22,23} 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 letteratura²⁴⁻²⁶.

Studi anche recenti indicano che il tema della fertilità non sempre viene trattato in maniera adeguata^{10,14,17,27-30} e che i/le pazienti vengono così privati/e della possibilità di accedere a metodiche/procedure efficaci; il dato è fortunatamente in miglioramento. Uno studio tedesco 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 tempo³¹: nel periodo 1980-1984 tale proporzione rappresentava il 67% mentre nel quadriennio 2000-2004 era scesa al 50% ($p < .001$)³¹, ma siamo ancora lontani³²⁻³⁴ da una applicazione sistematica di un counselling adeguato e tempestivo secondo le raccomandazioni di Barcellona³⁵ e le indicazioni dei Comitati Etici della Società Americana di Medicina Riproduttiva (ASRM)^{36,37}. A questo proposito si fa espresso riferimento alla nuova edizione del 2013 delle linee guida della Società Americana di Oncologia Medica (ASCO)⁵. Il documento, attraverso la revisione e la discussione della più recente letteratura, conclude riconfermando i contenuti già espressi nella versione 2006³, sottolineando ancora una volta come la discussione degli aspetti legati alla preservazione della fertilità debbano essere parte integrante della valutazione specialistica e del colloquio medico-paziente non solo nell'ambito dell'Oncologia Medica ma anche nel settore della specialistica d'organo orientata in senso oncologico.

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^{38,39}; altri studi segnalano l'effetto negativo della mancanza di team multidisciplinari ad hoc^{27,40}. Rieker descriveva già vent'anni orsono che gli oncologi sono più propensi a discutere la possibilità di criopreservare il seme con i pazienti di livello di istruzione più elevato⁴¹; elementi favorevoli al dialogo sono l'interesse scientifico o il sesso (femminile > maschile) del medico, la consuetudine ad operare all'interno di équipes multidisciplinari⁴², la richiesta diretta dei/delle pazienti⁴⁰. Fattori in grado di influenzare il livello di comunicazione sono la prognosi del paziente stesso^{11,27,38}, il sesso^{38,39}, lo stato genitoriale³⁸, lo stato civile²⁷, l'età e lo stato puberale³⁹, le possibilità economiche²⁷, l'eventuale omosessualità o l'infezione da HIV^{27,38}. Nel caso particolare di una prognosi quoad vitam da subito sfavorevole, solo il 16.2% degli oncologi americani propone ai pazienti la possibilità di una criopreservazione finalizzata all'ipotesi di una genitorialità postuma (in Italia non consentita) mentre il 51.5% non ha una opinione in proposito⁴³. Per quanto attiene le differenze di genere, va rilevato come la comunicazione sia rivolta ai maschi in percentuale maggiore (80%) rispetto alle femmine (48%)^{44,45}.

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 fertilità⁴⁶.

Accenniamo solamente in questa sede all'ambito del tutto peculiare dei trattamenti oncologici in età pediatrica, tema che meriterà una trattazione a parte¹⁷. Uno studio recente, condotto su oltre 3.500 giovani donne sopravvissute a tumori infantili, documenta come esista un rischio di infertilità significativamente più alto rispetto al gruppo di controllo (rischio relativo [RR]: 1.48)⁴⁷. Tuttavia, per i pazienti in età prepuberale, le modalità a disposizione per preservare la fertilità sono limitate e sostanzialmente sperimentali sia sul versante tecnico⁴⁸⁻⁵¹ sia sul versante del consenso^{52,53}. Tecniche di trapianto autologo di tessuto testicolare immaturo potrebbero in questo ambito aprire nuove prospettive⁵⁴. Uno studio multicentrico americano ha preso in considerazione la comunicazione della preservazione della fertilità tra oncologi e pazienti pediatrici⁵⁵. Sono emersi fattori relativi al personale medico (disagio nel discutere il tema della 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). Comincia peraltro, specie tra i pediatri oncologi del Nord Europa, a farsi strada una sempre maggiore sensibilità e competenza sull'argomento^{56,57}.

Lo scopo di queste raccomandazioni è favorire un buon counselling come momento chiave nel processo decisionale del paziente. È importante che tutti i/le pazienti con diagnosi di tumore in età riproduttiva vengano adeguatamente e tempestivamente informati/e del rischio di riduzione della fertilità, in seguito ai trattamenti antitumorali e, al tempo stesso, delle strategie oggi disponibili per ridurre tale rischio⁵⁸⁻⁶⁵. 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^{30,66}. È altrettanto noto che disparità socio-demografiche (etnia, orientamento sessuale, età superiore o inferiore ai 35 anni) sono associate a differenti opportunità di accesso ai servizi di preservazione della fertilità⁶⁷.

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 familiare⁶⁸⁻⁷⁰.

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 giovani pazienti oncologici è rappresentato dalla possibile comparsa d'infertilità secondaria ai trattamenti antiproliferativi e il disagio psico-sociale ad essa legato. Tutti i/le 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 terapie⁷¹.

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^{72,73}. È stato segnalato che il seme di pazienti oncologici ancora non trattati potrebbe presentare una integrità ridotta del DNA rispetto all'atteso^{74,75}; tuttavia, uno studio europeo su 2.362 pazienti affetti da malattia di Hodgkin ha evidenziato che, nel 90% dei pazienti, il seme era di qualità idonea⁷⁶. Una serie di piccoli studi ha messo poi in evidenza un transitorio aumento del rischio di aneuploidia dopo trattamento chemioterapico e radiante⁷⁷⁻⁸⁰, benché l'integrità del DNA seminale in una coorte di pazienti oncologici pediatrici sia risultata simile a quella dei controlli sani della stessa età⁸¹. 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 ("intra cytoplasmic sperm injection": 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 chemioterapizzati^{80,82}. È 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 fecondazione in vitro (entrambe potrebbero essere associate a un aumento di difetti alla nascita rispetto ai concepimenti naturali^{83,84}). Una recente valutazione, 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-up⁸⁵. La tecnica ICSI è tuttavia ancora relativamente nuova ed è opportuno un follow-up più lungo della progenie^{29,86}.

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^{82,87}. 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 mammario⁸⁸⁻⁹¹. In verità, due studi di coorte su un'ampia popolazione di donne precedentemente trattate per una neoplasia mammaria sono rassicuranti^{92,93}; 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 controlli⁹³. È 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 che ha considerato 472 lungosopravvissuti oncologici sottoposti a radioterapia e/o chemioterapia e le rispettive 1.037 gravidanze⁹⁴. Non è stata evidenziata alcuna associazione statisticamente significativa tra le malattie genetiche occorse e i trattamenti antiproliferativi subiti⁹⁴.

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 ormonali⁹⁵). 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.

Al contrario, i risultati di una recente metanalisi – condotta su 1.244 donne e 18.145 controlli – segnalerebbero addirittura un effetto protettivo della gravidanza, con una significativa riduzione del rischio di morte (hazard ratio [HR]=0.59; 95% Intervalli di Confidenza [CI], 0.50-0.70)⁹⁶. 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; 95% CI, 0.53-1.35)⁹⁶. Inoltre, in un recente studio di coorte retrospettivo che aveva come obiettivo quello di valutare l’impatto della gravidanza sulla sopravvivenza libera da malattia specificatamente in donne con storia di carcinoma mammario ormonosensibile, non è stata riscontrata nessuna differenza in sopravvivenza libera da malattia tra le pazienti che hanno avuto una gravidanza e quelle che non l’hanno avuta, sia nel gruppo di pazienti con malattia estrogeno-responsiva (HR=0.91; 95% CI, 0.67-1.24) sia nel gruppo di pazienti con malattia senza espressione dei recettori ormonali (HR=0.75; 95% CI, 0.51-1.08)⁹⁷. Tuttavia, le pazienti che hanno avuto una gravidanza hanno dimostrato una migliore sopravvivenza globale (HR=0.72; 95% CI, 0.54-0.97) senza nessuna differenza in base allo stato recettoriale⁹⁷. E’ quindi da ritenersi definitivamente caduta la storica pregiudiziale controindicazione alla gravidanza nelle pazienti con pregresso carcinoma mammario sebbene non si conosca ancora l’intervallo di tempo ideale tra il termine dei trattamenti antitumorali e il concepimento⁹⁸. E’ consuetudine diffusa suggerire di attendere almeno due anni⁹⁹: 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 paziente⁸⁹. Una più recente revisione della letteratura suggerisce, nelle pazienti sottoposte a chemioterapia adiuvante, un periodo “di sicurezza” minimo di 6 mesi prima del concepimento¹⁰⁰. E’ attualmente in corso uno studio prospettico nelle pazienti con carcinoma mammario ormono-responsivo volto a valutare la sicurezza e fattibilità di una sospensione temporanea della terapia endocrina adiuvante per una durata massima di due anni per permettere alle pazienti di avere una gravidanza (lo studio “POSITIVE”)¹⁰¹. 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)^{89,102,103,104}. Un studio norvegese 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 generale¹⁰⁵. 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 fertilità¹⁰⁵. In ambito femminile, un recente studio retrospettivo statunitense ha evidenziato come donne lungo sopravvissute dopo chemioterapia o radioterapia abbiano una percentuale più elevata di insuccessi quando sottoposte a tecniche di riproduzione assistita⁷¹. 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 (“polycystic ovary syndrome”: 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)¹⁰⁶. 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 malattia¹⁰⁷.

In conclusione, in tutti i casi in cui si decida di applicare una tecnica di Procreazione Medicalmente Assistita (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 anormalità 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 precedentemente 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 infertilità³.

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 germinali³. 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 vettori³.

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 assistita³.

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 abbreviata³. Bassi valori plasmatici di ormone anti-mulleriano (AMH) pre-trattamento possono assumere valore predittivo per una maggior probabilità di perdita di funzione ovarica a lungo termine¹⁰⁸.

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 riproduttivi¹⁰⁹.

Le due tabelle seguenti (Tabella 1 e Tabella 2), riassumono in forma sinottica il rischio associato ai trattamenti farmacologici¹¹⁰⁻¹¹⁴.

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 (modificato rispetto all'originale ³).

AGENTI (DOSE CUMULATIVA PER AVERE L'EFFETTO)	EFFETTO
-Radiazioni (2.5 Gy al testicolo) -Clorambucil (1.4 g/m ²) -Ciclofosfamide (19 g/m ²) -Procarbazina (4 g/m ²) -Melphalan (140 mg/m ²) -Cisplatino (500 mg/m ²)	Azoospermia prolungata
-BCNU (carmustina) (1 g/m ²) -CCNU (lomustina) (500 mg/m ²)	Azoospermia nell'età adulta dopo trattamento in età prepuberale
-Busulfano (600 mg/kg) -Ifosfamide (42 g/m ²) -BCNU (300 mg/m ²) -Mostarde azotate -Actinomicina D	Azoospermia probabile, in genere data da altri agenti altamente sterilizzanti associati
-Carboplatino (2 g/m ²)	Azoospermia prolungata non sempre osservata a questa dose
-Doxorubicina (adriamicina) (770 mg/m ²) -Tiotepa (400 mg/m ²) -Citosina arabinoside (1 g/m ²) -Vinblastina (50 g/m ²) -Vincristina (8 g/m ²)	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 tirosin chinasi (erlotinib, imatinib), taxani	Rischi sconosciuti sulla produzione spermatica

Tabella 2. Rischio di amenorrea permanente nelle donne trattate con chemioterapia e radioterapia (modificato rispetto all'originale ³).

GRADO DEL RISCHIO	TRATTAMENTO
Rischio elevato (> 80%)	-Trapianto di cellule staminali ematopoietiche con ciclofosfamide/irradiazione corporea totale o con ciclofosfamide/busulfano. -Radioterapia esterna che includa nel campo d'irradiazione le ovaie. -CMF, CAF, CEF, 6 cicli in una donna con età > 40 anni.
Rischio intermedio	-CMF, CAF, CEF, per 6 cicli in una donna tra 30 e 39 anni. -AC, per 4 cicli in una donna con età ≥ 40 anni. -AC o EC → Taxani

GRADO DEL RISCHIO	TRATTAMENTO
Rischio basso ($< 20\%$)	-ABVD (doxorubicina/bleomicina/vinblastina/dacarbazina). -CHOP per 4-6 cicli (ciclofosfanide/doxorubicina/vincristina/prednisone). -CVP (ciclofosfamide/vincristina/prednisone). -AML (antraciline/citarabina). -ALL (polichemioterapia). -CMF, CAF, CEF, 6 cicli in una donna con età < 30 anni. -AC 4 cicli in una donna di età < 40 anni.
Rischio molto basso o assente	-Vincristina. -Metotrexate. -Fluorouracile.
Rischio sconosciuto	-Taxani. -Oxaliplatino. -Irinotecan. -Anticorpi monoclonali (trastuzumab, bevacizumab, cetuximab). -Inibitori delle tirosino-chinasi (erlotinib, imatinib).

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 individuale⁸⁷. Recenti dati provenienti da revisioni di grandi casistiche su lungo sopravvivenuti possono essere di ausilio agli oncologi nella pianificazione del programma di cura^{115,116}.

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^{87,113}. 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^{117,118}.

In entrambi i sessi, il maggior rischio è associato agli agenti alchilanti (in particolare: ciclofosfamide, ifosfamide, nitrosouree, clorambucil, melfalan, busulfan, procarbazine, carmustina, lomustina)^{87,119,120} ed è probabilmente dose-dipendente¹²¹; altrettanto noto è l'effetto negativo di carboplatino e cisplatino¹²². Al contrario, un basso rischio è associato a metotrexate, fluorouracile, vincristina, vinblastina, bleomicina e dactinomicina. Da segnalare l'esperienza del Memorial Sloan-Kettering relativa all'aggiunta di taxani ad una chemioterapia contenente antraciline: in una casistica di 230 donne non si è evidenziato un rischio di amenorrea più alto rispetto ai controlli storici¹²³. Tuttavia i dati relativi al rischio da taxani non sono ancora conclusivi¹²⁴.

I regimi utilizzati per il trattamento del linfoma non Hodgkin sono generalmente ritenuti meno gonadotossici di quelli usati nella malattia di Hodgkin⁸⁷. Nello studio di Behringer, la probabilità ed il tempo alla ripresa del ciclo mestruale in 579 donne affette da linfoma di Hodgkin 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 ormone follicolo-stimolante (FSH) e AMH erano significativamente più favorevoli nel gruppo di pazienti trattate con il solo ABVD¹²⁵. L'analisi multivariata ha mostrato che l'utilizzo durante la chemioterapia di LHRH analoghi è stato, in questa coorte di pazienti, un fattore ad alto significato prognostico per la preservazione della fertilità (odds ratio [OR]=12.87; p=0.001)¹²⁵. A conferma di quanto già da tempo noto, un recente studio EORTC in donne con pregressa malattia di Hodgkin conferma la minore gonadotossicità 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 alchilanti¹²⁶. Nei maschi lungo sopravvivenuti da linfoma sembra opportuno un monitoraggio del livello sierico degli ormoni sessuali nel corso del follow up, specialmente se trattati con chemioterapia ad alte dosi¹²⁷. In ogni caso, una tossicità gonadica dopo trattamento per linfoma di Hodgkin è più frequente nel sesso femminile (25-34% delle pazienti) rispetto ai pazienti maschi a parità di trattamento^{128,129}.

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 anni¹³⁰. Il tasso di infertilità permanente sembra prevedibile sulla base della dose cumulativa di cisplatino somministrata: a dosi inferiori a 400 mg/m² gli effetti a lungo termine sono improbabili, mentre dosi maggiori sono associate a una disfunzione endocrinogonadica permanente¹³¹.

Riguardo alla terapia endocrina adiuvante, è noto che tamoxifene comporta un rischio di menopausa precoce basso e correlato all'età: oltre i 45 anni il rischio è del 10% superiore al controllo¹¹¹. L'impegno di tamoxifene sequenziale alla chemioterapia provoca un aumento statisticamente significativo del rischio di menopausa rispetto alla sola chemioterapia^{132,133}.

Gli LHRH analoghi 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^{102,134}.

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 dactinomicina. 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)¹¹⁸. 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 seminoma¹³¹. La conta spermatica è più bassa a 4-6 mesi, per poi tornare tipicamente ai livelli pretrattamento in 10-24 mesi¹²²; solo il 3-6% rimane azospermico a 2 anni¹³⁵. A differenza dell'epitelio germinale, le cellule di Leydig sono meno suscettibili al danno radioindotto, soprattutto in età adulta^{87,136}. 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 casi¹³⁷ ma il danno sulla linea germinale è molto rilevante, fino all'80% dei pazienti^{138,139}.

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 sostitutiva¹⁴⁰.

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^{141,142}. 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 trattate¹⁴³, con una incidenza di gravidanza post-trattamento inferiore al 3%^{122,144-146 122,144,145,146}. Uno studio francese 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 pelvica¹⁴⁷. 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^{142,148}. Un recupero della funzione ovarica per trattamenti ricevuti prima della pubertà è più frequente in caso di maggior frazionamento della dose¹³⁹. 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 controlli¹¹⁵, dato confermato anche da studi più recenti per dosi di 22-27 Gy¹⁴⁹.

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 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)¹⁵⁰. 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, ormone luteinizzante [LH], estradiolo, progesterone e di inibina B) possono essere d'aiuto¹⁵¹⁻¹⁵³.

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 ed estradiolo nel sangue, 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'ASCO^{3,5} e dell'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 fertilità¹⁵⁴.

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 disponibili sia di crioconservazione (gameti e tessuto) che di riduzione farmacologica della tossicità gonadica.

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 e prima dell'inizio dei trattamenti. 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 (modificata rispetto all'originale³).

- 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.
- I pazienti interessati a una delle strategie di preservazione della fertilità dovrebbero accedervi il prima possibile per aumentare le probabilità di successo delle stesse. 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.
- I metodi di preservazione della fertilità disponibili sono la criopreservazione del seme per l'uomo, la criopreservazione di embrioni o ovociti e la criopreservazione di tessuto ovarico 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.
- 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.
- 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.
- L'infertilità come conseguenza dei trattamenti antitumorali ricevuti può essere associata a un importante distress psicosociale.

4.1 Il quadro legislativo Italiano

La crioconservazione di embrioni 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.

Il 9 Aprile 2014 la Corte Costituzionale ha dichiarato incostituzionale il divieto di fecondazione assistita eterologa (l'articolo 4 comma 3), contenuto nella legge 40 e in vigore dal 2004. La fecondazione eterologa non sarà oggetto di questa trattazione perché, pur essendo una possibile soluzione per i/le pazienti che hanno subito un irreversibile danno gonadico dopo terapie oncologiche, non rientra propriamente nelle tecniche di "preservazione della fertilità".

4.2 Tecniche di preservazione della fertilità 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 spermatozoni con reimpianto e lo xenotrapianto testicolare sono in fase di sperimentazione e non sono ancora stati testati con successo nell'uomo¹⁵⁵.

La raccolta di spermatozoi per la crioconservazione è semplice e, se adeguatamente programmata, 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 (modificata rispetto all'originale ³).

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 le dose di radiazioni ricevuta dal testicolo.	Serie di casi.
Criopreservazione di tessuto testicolare; xenotrapianto testicolare; isolamento degli spermatozoni (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 LHRH analoghi 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

4.2.1 Crioconservazione del seme

La criopreservazione 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 ¹⁵⁶.

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'ejaculato è molto scarsa come può succedere anche in rapporto al tipo di neoplasia (soprattutto neoplasie del testicolo e linfoma di Hodgkin ^{157,158}) 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 criopreservazione di sperma non è stata possibile ^{157,159}.

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 ^{79,160-162}.

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. Quando un paziente viene inviato alla Banca del Seme, l'oncologo dovrebbe richiedere l'esecuzione di questi esami o consegnare ai pazienti copia dei risultati, se già disponibili. Sebbene nell'uomo la preservazione dei gameti non richieda tempi lunghi, alcuni pazienti che devono iniziare molto velocemente il trattamento antitumorale, non riescono ad eseguire raccolte plurime per le quali sono necessari, ovviamente, più giorni, limitando così i campioni di ejaculato 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 paillette 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 ¹⁶³.

L'efficacia della crioconservazione di spermatozoi come strategia per preservare la fertilità nei pazienti che devono sottoporsi a terapie gonadotossiche è stata dimostrata da molti lavori che riportano i risultati ottenuti con l'utilizzo del seme scongelato in cicli di riproduzione assistita ("intrauterine insemination/in vitro fertilization" [IUI/IVF] e ICSI) ¹⁶⁴ (**Livello di evidenza 2+**).

Qualità globale dell'evidenza SIGN	Raccomandazione clinica	Forza della raccomandazione clinica
C	La cripreservazione del seme rappresenta una strategia efficace di preservazione della fertilità e deve essere offerta a tutti gli uomini desiderosi di preservare la fertilità prima di iniziare trattamenti potenzialmente gonadotossici ¹⁶⁴ .	Positiva forte

Utilizzo/Gravidanze e nati con spermatozoi cripreservati

Non è mai stato definito un limite per la durata della crioconservazione: sono riportate gravidanze ottenute con seme scongelato dopo 21 e 28 anni ¹⁶⁵.

Per utilizzare gli spermatozoi crioconservati è quasi sempre necessario effettuare un ciclo di stimolazione ovarica sulla 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 (IUI) in alcuni casi non è possibile per la ridotta qualità del seme e comunque, anche quando possibile, è meno efficace (Tabella 5) ^{159,166-177}.

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 (Tabella 5) e 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 ¹⁶⁴.

Giovane età al momento della cripreservazione e diagnosi di cancro testicolare sono i fattori associati a una minor utilizzazione del seme ^{159,168,171,172,178}.

La cripreservazione del seme dovrebbe essere proposta anche ai pazienti oncologici di età inferiore ai 15 anni. Nel 2015 sono stati pubblicati i risultati ottenuti da un network di 23 banche del seme francesi su un'ampia popolazione di 4345 ragazzi e giovani adulti di età compresa fra gli 11 e i 20 anni avviati alla preservazione della fertilità prima dell'inizio dei trattamenti chemioterapici ¹⁷⁹. In questo studio il paziente più giovane cui è stato crioconservato liquido seminale raccolto per masturbazione aveva 12 anni e complessivamente nei ragazzi fra 11 e 14 anni è stato possibile crioconservare il seme nell'81% dei casi ¹⁷⁹. Soprattutto per i pazienti più giovani, dove la raccolta del seme può presentare maggiori difficoltà sono state proposte tecniche di stimolazione del pene con vibrator o di elettroeiaculazione con il 60% di successo ¹⁸⁰.

La tecnica ICSI con seme crioconservato è una procedura consolidata con buone possibilità di successo anche quando la qualità dell'eiaculato 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	N° COPPIE	IUI	IVF	ICSI
Kelleher et al. 2001 ¹⁶⁶	91	60	11/35 (31.4%)	6/28 (21.4%)	12/28 (42.8%)
Ragni et al. 2003 ¹⁵⁹	88	28	3/40 (7.5%)	0/6 (0%)	11/42 (26.2%)
Schmidt et al. 2004 ¹⁶⁷	151	67	4/24 (16.7%)	-	19/49 (34.7%)
Agarwal et al. 2004 ¹⁶⁸	87	29	7/42 (7%)	5/26 (19%)	4/19 (21%)
Revel et al. 2005 ¹⁷³	62	21	5.9	-	42%
Mesequer et al. 2006 ¹⁷⁴	35	-	1/5 (20%)	-	15/30 (50%)
Hourvitz et al. 2008 ¹⁶⁹	169	118 + 54	-	13/54 (24.1%)	85/169 (50.3%)
Van Casteren et al. 2008 ¹⁷⁰	101	37	1/7 (14%)	8/32 (25%)	16/53 (30%)
Crha et al. 2009 ¹⁷⁵	44	28	-	-	29.5%
Freour et al. 2011 ¹⁷¹	178	-	8/66 (12%)	-	26/112 (23.2%)
Bizet et al 2012 ¹⁷²	127	-	5/39 (12.8%)	2/7 (12.8%)	23/71 (32.4%)
Botchan et al. 2014 ¹⁷⁶	148	62	9/81 (11.1%)	0/12 (0%)	34/91 (37.6%)
Garcia et al. 2015 ¹⁷⁷	50	29	-	20/50 (40%)	-

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

NB: le percentuali di gravidanza sono espresse per ciclo e non per paziente.

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 LHRH analoghi non ha dimostrato essere nell'uomo una strategia di preservazione della fertilità efficace soprattutto quando usata con chemioterapici altamente gonadotossici¹⁸¹⁻¹⁸⁴: in particolare, lo studio di Waxman, 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 controlli¹⁸² (**Livello di evidenza 1-**).

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 trattati¹⁸⁵. Al contrario, un piccolo studio che ha valutato l'efficacia del testosterone in pazienti non oncologici trattati con ciclofosfamide per glomerulonefriti ha dimostrato qualche beneficio¹⁸⁶.

Qualità globale dell'evidenza SIGN	Raccomandazione clinica	Forza della raccomandazione clinica
D*	Al contrario della donna, nell'uomo la protezione gonadica attraverso la manipolazione ormonale non risulta efficace e pertanto non dovrebbe essere proposta.	Negativa debole

*Opinione espressa dal panel.

4.2.3 Altri metodi di preservazione della fertilità nell'uomo

Metodi quali la criopreservazione di tessuto testicolare con reimpianto¹⁸⁷ o l'innesto di tessuto testicolare umano in topi SCID per facilitare la spermatogenesi^{188,189}, rimangono ad oggi del tutto sperimentali e non devono essere utilizzati nell'uomo al di fuori di sperimentazioni controllate.

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 ovaie¹⁹⁰⁻¹⁹³.

Le principali tecniche di preservazione della fertilità, standard e sperimentali, nelle giovani pazienti oncologiche sono rappresentate da: criopreservazione di embrioni o ovociti, criopreservazione di tessuto ovarico, soppressione gonadica con LHRH analoghi, 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.

Rispetto a quanto succede nell'uomo, bisogna sottolineare come nella donna l'utilizzo di alcune di queste tecniche necessitano di alcune settimane prima dell'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, criopreservazione di tessuto ovarico, soppressione gonadica con analogo LHRH, 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 antiblastico.	Con questa metodica la letteratura riporta la nascita di 90 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.

TECNICA	DEFINIZIONE	COMMENTI	CONSIDERAZIONI
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 poco 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 LHRH analoghi o antagonisti (St e Sp)	Utilizzo di terapie ormonali per proteggere il tessuto ovarico durante chemioterapia.	Studi clinici di fase III disponibili con risultati promettenti, in particolare nelle pazienti con carcinoma mammario.	-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.

St: standard; Sp: sperimentale

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. I principali tumori che richiedono la trasposizione ovarica nelle pazienti adulte sono il tumore della cervice e del retto, pertanto nella maggior parte dei casi le ovaie devono essere spostate lateralmente e in alto. La procedura può essere effettuata per via laparoscopica se una laparotomia non è necessaria per il trattamento primario della neoplasia¹⁹⁴⁻¹⁹⁶. Per la trasposizione laterale, i legamenti utero-ovarici vanno sezionati per permettere la mobilizzazione delle ovaie il più in alto possibile fuori dalla pelvi: è stata, infatti, dimostrata una associazione fra la sede della trasposizione delle ovaie e la ripresa della funzione ovarica^{197,198}. Le ovaie vengono in genere fissate nelle logge paracoliche con sutura non riassorbibile. È 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 crioconservazione¹⁹⁹.

A causa di un possibile spostamento delle ovaie precedentemente trasposte, questa procedura dovrebbe essere eseguita quanto più possibile vicino al momento del trattamento radiante stesso²⁰⁰.

Il tasso di successo di questa tecnica, valutato come preservazione della funzione mestruale, varia dal 33% al 91% nelle varie casistiche. 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'ovaio²⁰¹. Anche l'età della paziente influenza il successo della metodica: non è indicato eseguire la trasposizione ovarica dopo i 38 anni.

Per ciò che riguarda la preservazione della funzione riproduttiva esistono piccole serie di casi in letteratura che dimostrano gravidanze dopo trasposizione ovarica. I risultati migliori, con 14 gravidanze e 12 nascite su

11 pazienti trattate sono riportati in uno studio italiano²⁰². In questo studio però, le ovaie erano state spostate medialmente, dietro l'utero prima di una irradiazione a Y invertita per linfoma Hodgkin e l'età media al trattamento era 13 anni (range 9-22)²⁰². Le gravidanze riportate dopo trasposizione ovarica laterale in pazienti adulte sono poche. Una revisione di 8 studi con un follow up a lungo termine di 347 donne adulte sottoposte a trasposizione ovarica per varie indicazioni, quali cancro della cervice uterina, cancro del retto, linfoma di Hodgkin, ependimoma e cancro della vagina, segnala solo 9 gravidanze²⁰³ (**Livello di evidenza 4**). Non c'è accordo sulla necessità di eseguire un intervento per riposizionare le ovaie alla fine dei trattamenti. In caso si debba ricorrere a tecniche di riproduzione assistita dopo trasposizione ovarica, il riposizionamento delle ovaie potrebbe essere indicato per facilitare il recupero degli ovociti per via transvaginale perché il prelievo ovocitario è più complicato per via percutanea trans-addominale.

Una possibile complicanza della trasposizione ovarica è una disfunzione ovarica dovuta allo sviluppo di cisti con una incidenza del 14% come mostrato da un recente lavoro italiano²⁰⁴. Altro limite della tecnica è la ipotetica maggiore difficoltà a diagnosticare un eventuale sede ovarica di metastasi o di tumore primitivo dal momento che le ovaie non sono più palpabili clinicamente e non adeguatamente valutabile con ecografia trans-vaginale^{199,205}.

Una recente revisione della letteratura che ha incluso 23 studi e 892 casi di trasposizione ovarica prevalentemente in pazienti con carcinoma della cervice riporta un rischio per la formazione di cisti variabile dal 5 al 16% e 2 casi di di metastasi ovariche²⁰⁶.

Qualità globale dell'evidenza SIGN	Raccomandazione clinica	Forza della raccomandazione clinica
D	La trasposizione ovarica deve essere proposta a tutte le giovani donne candidate a irradiazione pelvica: il tasso di successo di questa tecnica, valutato come preservazione della funzione mestruale a breve termine, varia dal 33% al 91% a seconda delle casistiche ²⁰³ .	Positiva forte

4.3.2 Crioconservazione di tessuto ovarico

Questa tecnica, sebbene sia ancora considerata sperimentale, è applicata nei casi in cui non sia possibile ricorrere alla stimolazione per crioconservazione di ovociti o embrioni per età della paziente o per tempistiche relative al trattamento oncologico. Non richiede né un partner né una stimolazione ormonale, e 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 ovarica²⁰⁷. 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 residui²⁰⁸. Controindicazioni assolute sono patologie ad elevato rischio di metastasi ovariche (leucemie, tumori ovarici, tumori solidi metastatici al peritoneo) ed elevato rischio chirurgico.

Per la crioconservazione di tessuto ovarico è necessario eseguire un intervento chirurgico laparoscopico in anestesia generale che richiede circa un'ora di tempo. Può essere asportato un intero ovaio o eseguita un'ampia biopsia ovarica bilaterale (almeno un terzo di ciascun ovaio). La corticale ovarica con i follicoli primordiali viene crioconservata in sottili striscioline. 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; per questo la quantità di tessuto ovarico da asportare deve essere ampia. Il reimpianto delle striscioline di corticale ovarica viene comunemente effettuato ortotopicamente (nella sede ovarica dove è stato effettuato il prelievo o in una tasca peritoneale). Per l'autotrapianto, effettuato per la prima volta 15 anni fa²⁰⁹, sono 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 nel 90-100% dei casi ma la sua durata è ancora limitata (media 5 anni). Ad oggi sono nati più di 90 bambini dopo autotrapianto di tessuto ovarico²¹⁰, di cui uno anche in Italia²¹¹. Circa il 50% dei bambini nati dopo autotrapianto ortotopico di tessuto sono stati concepiti spontaneamente, mentre l'altra metà con tecniche di fecondazione assistita. La maggior parte delle gravidanze spontanee insorge nei primi anni dopo l'autotrapianto ma sono state riportate gravidanze spontanee anche a 5 e 6 anni²¹⁰.

Una preoccupazione circa l'autotrapianto di tessuto ovarico nelle pazienti oncologiche è rappresentato dalla potenziale reintroduzione di cellule cancerose²¹². Un recente ampio studio riporta una incidenza del 1.3% (5/391) di riscontri positivi per cellule maligne in campioni istologici di tessuto ovarico analizzati prima della crioconservazione²¹³. In questo studio, tutti i campioni positivi appartenevano a pazienti con tumori ematologici. Né in questo né in altri studi sono stati riscontrati campioni positivi all'immunoistochimica in pazienti con carcinoma mammario²¹⁴⁻²¹⁶. Sono state riportate due ricorrenze di malattia in una paziente con cancro della cervice e in una con cancro della mammella che hanno fatto un reimpianto autologo di tessuto²¹⁷. Sebbene queste recidive potrebbero non essere dovute al trapianto, 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^{217,218}.

Sebbene questa tecnica di preservazione della fertilità sia in rapida diffusione è ancora considerata sperimentale e dovrebbe essere attuata solo in centri con adeguate competenze di crioconservazione ma soprattutto con un'organizzazione in grado di offrire le più sensibili e aggiornate tecniche di analisi istologica del tessuto prima del reimpianto.

E' stato dimostrato che il luogo dove si effettua il prelievo e quello in cui si procede alla crioconservazione di tessuto possono essere diversi perché il trasporto della biopsia, in adeguate condizioni, non riduce l'efficienza della tecnica. Sono già nati bambini dopo trapianto di tessuto ovarico che era stato espantato in una città e trasportato per essere crioconservato in un'altra²¹⁹. Per questi motivi, sebbene sono sempre più numerosi i centri Italiani che hanno un programma di crioconservazione del tessuto ovarico (che viene proposto anche in casi di patologie non oncologiche) nelle pazienti oncologiche, la crioconservazione di tessuto ovarico andrebbe limitata a pochi Centri di riferimento.

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 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^{220,221}.

Tre importanti Centri Europei hanno pubblicato i risultati dei primi 60 trapianti ortotopici di tessuto ovarico dopo crioconservazione con metodo slow-cooling²²². La ripresa della funzionalità endocrina è stata osservata nel 93% delle 56 pazienti con follow-up > 3 mesi ed è avvenuta da 3,5 a 6,5 mesi dopo il reimpianto²²². In 3 delle 4 pazienti che non hanno ripreso a menstruare, il congelamento di tessuto era avvenuto in un Centro con minore esperienza²²². Undici pazienti hanno concepito (due sono alla 24° e 30° settimana di gravidanza al momento della pubblicazione) e sei hanno partorito 12 bambini sani²²² (**Livello di evidenza 3**). Delle 20 pazienti che si sono sottoposte a reimpianto di tessuto ovarico in un unico Centro Israeliano di riferimento, si è ottenuta la ripresa della ciclicità mestruale nel 93% e un concepimento nel 53% delle pazienti²²³. Il 32% delle pazienti sottoposte a trapianto di corticale ovarica ha avuto almeno un figlio²²³ (**Livello di evidenza 3**).

Qualità globale dell'evidenza SIGN	Raccomandazione clinica	Forza della raccomandazione clinica
D	La crioconservazione di tessuto ovarico è una tecnica ancora sperimentale, ma con buoni risultati in Centri altamente specializzati. Non richiede un partner può essere effettuata in qualsiasi momento del ciclo mestruale, senza necessità di stimolazione ormonale. Dovrebbe essere proposta in casi	Positiva debole

selezionati a pazienti giovani che non possono effettuare la crioconservazione di ovociti e che devono effettuare terapie con elevato rischio gonadotossico ^{222,223} .
--

4.3.3 Crioconservazione ovocitaria

Dal gennaio 2013 la crioconservazione di ovociti non è più considerata una tecnica sperimentale²²⁴. Questo approccio rappresenta un'importante strategia di preservazione della fertilità nei paesi come l'Italia dove la crioconservazione dell'embrione è vietata in questi casi 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^{225,226}.

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 LHRH analogo. 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 seriati 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 riducendo notevolmente i tempi di attesa nei casi in cui la paziente sia in fase follicolare tardiva o luteale al momento della decisione di intraprendere una preservazione della fertilità con congelamento ovocitario. E' stato dimostrato che il recupero ovocitario è adeguato anche nei cicli in cui la stimolazione inizia lontano dalla fase post-mestruale²²⁷⁻²²⁹. Per donne con tumori ormono-responsivi (mammella, endometrio), sono stati sviluppati approcci alternativi di stimolazione ormonale utilizzando tamoxifene o letrozolo, così da ridurre il rischio potenziale di esposizione ad elevate concentrazioni di estrogeni²³⁰⁻²³². L'utilizzo di letrozolo nei cicli di stimolazione è molto limitato, specialmente in Italia, perché "off label"²³³. Il farmaco è stato controindicato in donne in stato ormonale premenopausale 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 2005²³⁴. 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%²³⁵) ma la nota AIFA non è mai stata ritirata²³⁶.

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 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 differente²³⁷. Altri lavori successivi alla meta-analisi non hanno osservato differenze significative²³⁸⁻²⁴¹. Uno studio monocentrico che ha valutato la risposta alla stimolazione in 306 pazienti con vari tipi di tumori (ematologici, mammella, ginecologici), ha osservato un minor recupero ovocitario nelle pazienti con tumori ginecologici²⁴². Questo studio, tuttavia non aveva un gruppo di controllo di pazienti non oncologiche e non ha corretto i risultati per età²⁴².

Un altro argomento controverso riguarda la possibile associazione fra le mutazioni BRCA 1/2 e la riduzione della riserva ovarica e della risposta alle stimolazioni. Alcuni lavori riportano una diminuzione dei livelli di AMH nelle pazienti portatrici di mutazione BRCA1²⁴³ o BRCA2²⁴⁴ mentre altri non confermano questo dato²⁴⁵. Analogamente, in uno studio è stata segnalata una minore risposta alle stimolazioni nelle pazienti BRCA1 positive²⁴⁶; risultato non confermato in un altro studio²⁴⁷.

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, emoconcentrazione con possibile rischio trombotico, sofferenza epatica e renale, e necessita di ricovero e terapie intensive^{248,249}. 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 LHRH analoghi per indurre la maturazione finale degli ovociti sono i principali approcci preventivi²⁵⁰. 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 oncologica²⁵¹.

2) **Prelievo eco guidato di ovociti**: è una procedura invasiva della durata di circa 10 minuti che può essere eseguita 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 essere 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, diffusamente utilizzata, soprattutto in Italia fra il 2004 e il 2009 quando, per legge, non potevano essere utilizzati più di 3 ovociti per le tecniche di PMA, ha subito molte evoluzioni e perfezionamenti fino ad ottenere tassi di sopravvivenza del 60-70%. Più recentemente è stata messa a punto la vitrificazione degli ovociti (prima gravidanza ottenuta nel 1999 ma applicata con maggiore continuità dal 2003). L’efficienza delle due metodiche di congelamento (slow-freezing e vitrificazione) sia per gli embrioni che per gli ovociti è stata messa a confronto in una revisione sistematica e meta-analisi degli studi randomizzati disponibili²⁵². I risultati di questo lavoro suggeriscono una superiorità della vitrificazione sia sugli outcome clinici (livello di evidenza basso) che sui tassi di sopravvivenza (livello di evidenza moderato)²⁵². Questa metodica sta sostituendo il congelamento lento in quasi tutti i laboratori. L’efficacia del congelamento ovocitario nelle pazienti infertili è stata dimostrata nelle sue due modalità applicative (slow-colling e vitrificazione) su ampie casistiche. Con il protocollo di congelamento lento, uno studio monocentrico italiano riporta su 443 cicli di scongelamento: una sopravvivenza ovocitari del 71.8%, una percentuale di gravidanza per trasferimento embrionario del 22,8% e 77 nati, una anomalia congenita (atresia anale)²⁵³ (**Livello di evidenza 2+**). Con la vitrificazione, uno studio multicentrico a cui hanno partecipato 2 Centri Italiani, ha riportato, su 486 cicli di scongelamento, una sopravvivenza ovocitaria del 84.7%, una percentuale di parti per trasferimento embrionario del 29.4% e 147 nati, con due anomalie congenite (un caso di palatoschisi e un caso di craniosinostosi)²⁵⁴ (**Livello di evidenza 2+**).

L’efficacia del congelamento ovocitario come strategia di preservazione della fertilità nelle pazienti oncologiche, per il momento, è supportata solo da case report e da piccole serie di casi²⁵⁵, in quanto sono ancora poche le pazienti che hanno richiesto di utilizzare gli ovociti congelati per iniziare una gravidanza. Tuttavia, le prime due piccole serie di casi riportano tassi di successo molto soddisfacenti. Sia un gruppo spagnolo²⁵⁶ che il gruppo della Noyes²⁵⁷ hanno ottenuto 4 gravidanze evolutive su 11 casi di scongelamento ovocitario post-terapia (tasso di successo del 36.4%).

Qualità globale dell'evidenza SIGN	Raccomandazione clinica	Forza della raccomandazione clinica
C	La crioconservazione ovocitaria è una tecnica consolidata e rappresenta un'importante strategia di preservazione della fertilità. Deve 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 ^{253,254} .	Positiva forte

Stimolazione nelle pazienti con tumori ormono-sensibili

Nelle pazienti con tumori ormono-sensibili come quello della mammella, il timore che gli elevati livelli estrogenici della stimolazione ovarica possano avere un impatto negativo sull'evoluzione della malattia può costituire un limite al ricorso alla tecnica di criopreservazione degli ovociti.

La casistica più numerosa di donne con carcinoma mammario sottoposte a stimolazione per la crioconservazione di ovociti o embrioni, è quella riportata dal gruppo di Oktay ²⁵⁸. Lo studio riporta un follow-up di 5 anni in un gruppo di 120 pazienti sottoposte a stimolazione con letrozolo e gonadotropine e non evidenzia un peggioramento della sopravvivenza libera da progressione rispetto ai 217 controlli che non hanno ricevuto la stimolazione (rischio di ricorrenza = 0.77; 95% CI, 0.28-2.13).

Nel 2017 è stata pubblicata la prima revisione sistematica con l'obiettivo specifico di valutare se la stimolazione ovarica e gli elevati livelli estrogenici possano avere un impatto negativo sulla prognosi delle pazienti con tumore mammario ²⁵⁹. Sono stati inclusi 15 lavori di cui però solo 4 valutavano il rischio di ricorrenza e mortalità dopo stimolazione, il maggiore dei quali rimaneva quello di Oktay. Gli altri lavori inclusi nella revisione valutavano altri aspetti della stimolazione quali i livelli estrogenici nei protocolli con letrozolo o tamoxifene. Gli autori hanno concluso che non c'è evidenza di una diminuzione della sopravvivenza libera da ricorrenza nelle pazienti stimolate con il letrozolo rispetto alle pazienti non sottoposte a stimolazione ma che non ci sono ancora dati sufficienti sulle pazienti stimolate con il tamoxifene ²⁵⁹.

Un'altra perplessità circa l'applicazione di strategie che prevedono una stimolazione ovarica nelle pazienti oncologiche, incluse quelle con tumori ormono-responsivi è il timore di dover ritardare l'inizio della chemioterapia. In un recente lavoro, non sono state riscontrate differenze significative nei giorni trascorsi fra la diagnosi e l'inizio della chemioterapia neoadiuvante in 34 pazienti che si sono sottoposte a stimolazione e 48 controlli ²⁶⁰. In questo lavoro, il tempo intercorso dal giorno della diagnosi bioptica all'inizio della chemioterapia è stato di 40 giorni in entrambi i gruppi ²⁶⁰. I tempi di attesa prima dell'inizio della chemioterapia non si allungano nei centri dove esiste una rete ben funzionante fra oncologi e medici della riproduzione, se non c'è ritardo nell'invio della paziente al consulto riproduttivo e se vengono utilizzati, quando necessario, protocolli di stimolazione "random start".

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.

Criopreservazione 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 non maturi (MI) 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 ridotta²⁶¹. Solo pochi Centri hanno sviluppato la metodica della maturazione in vitro di ovociti nella pratica clinica della Riproduzione Assistita^{262,263}.

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^{230,231}.

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	NOTE
Stimolazione ormonale di tumori ormonosensibili	Mammella (endometrio).	Protocolli di stimolazione con inibitori dell’aromatasi o tamoxifene.	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.	Recupero ovocitario adeguato. Durata della stimolazione lievemente più lunga. Riduzione dei tempi di attesa.
Rischio elevato di Iperstimolazione	Giovane età, molti follicoli, elevati livelli di estrogeni.	Induzione dell’ovulazione con LHRH analogo.	Ridotti livelli di estrogeni in fase luteale nei cicli indotti con LHRH analogo.

Utilizzo degli ovociti o degli embrioni crioconservati

Sebbene i dati sull’utilizzo degli ovociti o embrioni crioconservati non siano ancora così numerosi come quelli sull’utilizzo degli spermatozoi, sembra che anche per le donne le percentuali di riutilizzo siano molto basse. Un lavoro monocentrico spagnolo riporta che, per il momento, solo 11 pazienti su 357 sono tornate per utilizzare gli ovociti che avevano crioconservato prima delle terapie oncologiche²⁵⁶; un altro studio belga mostra che la percentuale di pazienti che richiede l’utilizzo degli embrioni crioconservati prima della terapia è del 23%²⁶⁴. In un recente studio inglese che ha esaminato retrospettivamente 14 anni di attività (2000-2014), solo 22 pazienti su 306 (7.1 %) sono tornate per utilizzare gli embrioni crioconservati²⁴².

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^{253,265-273}. Per questo la ASRM suggerisce che quando si informa la paziente riguardo all'efficacia della preservazione di ovociti durante il counselling, si tenga presente l'ampia variabilità di risultati fra i diversi laboratori²²⁴.

Secondo l'ultimo report del "Registro Italiano delle Tecniche di Procreazione Medicalmente Assistita", che fa riferimento ai dati cumulativi di tutti i Centri Nazionali di PMA per l'anno 2015, la percentuale media di gravidanze per embryo transfer è stata del 28.5% su 12903 cicli di scongelamento di embrioni e complessivamente del 20.8% su 1529 cicli di scongelamento di ovociti (21.6% con congelamento lento, 20.7% con vitrificazione)²⁷⁴. Una analisi più dettagliata dei cicli di scongelamento ovocitario effettuati in Italia da quando è stato istituito il Registro Nazionale viene effettuata in due pubblicazioni. La prima riporta i dati sulle prime 582 nascite ottenute fra il 2005 e il 2007 e la seconda riporta i dati su 1342 nascite ottenute fra il 2007 e il 2011^{275,276}. I principali fattori che influenzano i risultati del congelamento ovocitario sono l'età della paziente al momento del congelamento e il numero di ovociti crioconservati. Uno studio multicentrico riporta una percentuale di bambini nati per scongelamento ovocitario che varia dal 12.6% al 46.4% in relazione all'età delle pazienti e al numero di ovociti vitrificati²⁵⁴.

In uno studio prospettico, è stato calcolato che il numero di ovociti necessari per ottenere un bambino è 12 fra i 30 e i 36 anni ma sale a 29,6 dai 36 ai 39 anni²⁷⁷.

L'outcome ostetrico e l'incidenza di malformazioni valutato su ampi numeri (11.000 vs 37.000) non è diverso fra i bambini nati da embrioni crioconservati o "con tecniche a fresco"²⁷⁸.

Analoghi risultati sono stati riportati con i bambini nati da ovociti crioconservati ma su casistiche ancora non così ampie (qualche centinaia)^{279,280}. Il tasso di malformazioni maggiori nei 1388 bambini nati in Italia da cicli di scongelamento ovocitario fra il 2007 e il 2011 è dello 0.8%, confrontabile con quello della popolazione generale²⁷⁶. Le gravidanze nelle pazienti oncologiche che hanno utilizzato embrioni o ovociti preservati prima delle cure riportate in letteratura sono poche decine²⁵⁵. Tuttavia, è presumibile che, sia per la sporadicità dell'evento sia per la mancanza di un registro, non tutte le gravidanze ottenute in pazienti oncologiche siano riportate in letteratura.

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

4.3.5 Utilizzo di tecniche di PMA dopo trattamento di neoplasia maligna

Di solito l'efficacia delle tecniche di PMA in donne precedentemente sottoposte a chemioterapia è limitata dal danno gonadico indotto dal precedente trattamento e dalla età della paziente al momento della ricerca di prole²⁸¹. I valori dell'AMH si riducono dopo chemioterapia e spesso la stimolazione ovarica non è efficace, con raccolta insufficiente di gameti²⁸². Anche nel caso in cui il ciclo mestruale sia ancora presente normalmente, la riserva ovarica è comunque ridotta²⁸³ ed è quindi importante valutare attentamente i parametri di riserva ovarica (AMH e conta dei follicoli preantrali) prima di cominciare un ciclo di FIVET/ICSI.

Un lavoro retrospettivo di coorte riporta i dati di 23 donne che hanno eseguito FIVET o IVM dopo chemioterapia²⁸⁴. Tutte le pazienti avevano livelli di estradiolo dopo stimolazione con gonadotropine inferiori ai controlli con numero di ovociti raccolti inferiori rispetto all'atteso (4.5 verso 12, rispettivamente) e una sola gravidanza a termine nel gruppo FIVET²⁸⁴. Chan e collaboratori hanno riportato i risultati della stimolazione in 35 pazienti già sottoposte a chemioterapia confrontandoli con 95 pazienti pre-trattamento, tutte affette da patologie oncologiche o autoimmuni²⁸⁵. I livelli di AMH e la conta di follicoli antrali erano

significativamente inferiori nelle pazienti già esposte e correlavano con un maggior tasso di cicli cancellati²⁸⁵. Tuttavia gli autori rilevano che il numero di ovociti recuperati nelle pazienti giunte al pick-up era sovrapponibile fra casi e controlli, implicitamente suggerendo di tentare cicli di preservazione ovocitaria anche in pazienti già chemiotratte²⁸⁵. Bisogna però considerare che non sono ancora nati bambini da ovociti o embrioni crioconservati dopo una chemioterapia e prudenzialmente sarebbe opportuno evitare di congelare ovociti dopo l'inizio del trattamento.

Dopo l'esposizione a trattamenti chemioterapici, quando la riserva ovarica è molto ridotta o la qualità ovocitaria insufficiente, l'unica alternativa rimane l'utilizzo di gameti da donatrice (ovodonazione). In questo caso, soprattutto in presenza di insufficienza luteinica, è indispensabile eseguire una "preparazione endometriale" con estrogeni. In letteratura non ci sono molti dati relativi all'utilizzo di ovodonazione nelle pazienti con cancro. In un lavoro pubblicato di recente che riporta le gravidanze ottenute con tecniche di fecondazione assistita dopo trattamento per neoplasia mammaria, solo 26 su 198 donne (12.6%) avevano utilizzato tecniche di fecondazione e di queste 13 su 26 avevano ricorso ad ovodonazione²⁸⁶. Anche se i numeri sono limitati, non è stata osservata differenza in termini di sopravvivenza libera da malattia o sopravvivenza globale nelle pazienti che hanno ottenuto gravidanza dopo tecniche di fecondazione artificiale²⁸⁶. In un altro lavoro, 441 donne sottoposte a riproduzione assistita dopo diagnosi oncologica, sono state paragonate a 52.985 donne che si erano sottoposte a ICSI o FIVET senza pregressa diagnosi di cancro²⁸⁷. Il tasso di gravidanze con nati vivi utilizzando oociti autologhi era statisticamente diverso a seconda della pregressa diagnosi oncologica (47.7% senza pregresso cancro versus 24.7% con pregresso cancro; $p=0.0001$), e tipo di diagnosi (53.5% per tumori cutanei non melanoma, 14.3% per tumore mammario; $p=0.0001$)²⁸⁷. Il tasso di nati vivi tra donne che invece avevano utilizzato ovociti donati non era diverso nei 2 gruppi (60.4% per donne con pregressa neoplasia versus 64.5% per donne senza pregressa neoplasia), o per tipo di tumore (da 57.9% per il tumore mammario a 63.6% per tumori endocrini)²⁸⁷.

Questi dati assumono grande importanza considerando che l'utilizzo di gameti da donatrice è pratica ammessa anche in Italia dopo la decisione della Corte Costituzionale del 9/4/2014 che di fatto ha eliminato dal corpo della legge 40 il divieto di ricorso a donatori di gameti al di fuori della coppia nei casi di infertilità assoluta. Attualmente è in corso uno studio internazionale di fase II, al quale partecipano anche centri italiani, che valuta l'impatto della gravidanza e della sospensione temporanea della terapia endocrina in pazienti con tumore mammario ed età inferiore a 43 anni (studio POSITIVE, ClinicalTrials.gov identifier: NCT02308085)¹⁰¹. Nello studio possono essere utilizzate tecniche di PMA anche dopo il trattamento per neoplasia mammaria e i risultati aiuteranno a chiarirne l'impatto in questa patologia

4.3.6 Utilizzo di LHRH analoghi in concomitanza a chemioterapia

Il razionale dell'utilizzo degli LHRH analoghi (triptorelin, goserelin, 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 chemioterapia²⁸⁸. La somministrazione cronica di LHRH analoghi, 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 LHRH analoghi durante il trattamento con ciclofosfamide ne riduce la tossicità a livello ovarico²⁸⁹⁻²⁹¹.

Gli LHRH analoghi possono proteggere le ovaie attraverso diversi meccanismi: interruzione della secrezione di FSH, riduzione del reclutamento ovocitario, riduzione della perfusione utero-ovarica e attivazione dei recettori per l'LHRH a livello gonadico²⁹². 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, delle inibine e dell'AMH, determinerà una riduzione della loro concentrazione plasmatica e, per il meccanismo di feedback negativo sull'ipotalamo e sull'ipofisi, aumentano i livelli di FSH²⁹². 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 FSH²⁹². 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 indotto dalla terapia. 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 di LHRH analoghi con un meccanismo dose-dipendente²⁹³. 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 LHRH, con quindi un qualche ruolo diretto dell'ormone ipotalamico direttamente a livello ovarico. E' stato inoltre dimostrato che gli LHRH analoghi proteggono le cellule della granulosa dalla tossicità della doxorubicina in modelli in vitro²⁹⁴.

Il potenziale ruolo degli LHRH analoghi 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 II²⁹⁵. Globalmente i dati che emergono da questi studi suggeriscono un ruolo potenzialmente importante degli LHRH analoghi 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.

Numerosi studi randomizzati sono stati pubblicati, sia in pazienti con neoplasia della mammella sia in pazienti con linfomi, con un piccolo studio in pazienti con neoplasia ovarica (Tabella 8)²⁹⁶⁻³¹⁰. In questi studi, pazienti con normale funzione ovarica, sono state randomizzate a ricevere chemioterapia in combinazione con LHRH analoghi 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 e diversa durata del follow-up.

Tabella 8. Principali caratteristiche degli studi di fase III che hanno valutato l'efficacia di LHRH analoghi nel prevenire la tossicità gonadica indotta da chemioterapia

AUTORE (disegno dello studio)	No. pazienti inclusi (Tipo di neoplasia)	Età mediana (anni) LHRHa + CT vs CT da sola	Bracci di trattamento	Definizione di insufficienza ovarica precoce	Incidenza di insufficienza ovarica precoce	Tempistica della valutazione dell'endpoint
Gilani ²⁹⁶ (Fase III)	30 (Carcinoma ovarico)	21 vs 22	CT + diferelina vs CT da sola	Assenza delle mestruazioni e livelli di FSH > 20 mIU/ml	0% vs 33%	6 mesi dopo la CT
Badawy ²⁹⁷ (Fase III)	78 (Carcinoma mammario)	30 vs 29.2*	FAC + goserelina vs FAC	Nessuna ripresa di ovulazione spontanea	10.2% vs 67%	8 mesi dopo la CT
Sverrisdottir ²⁹⁸ (Fase III)	94 (Carcinoma mammario)	45 vs 45	CMF + Tamoxifene + goserelina vs CMF + Tamoxifene	Assenza delle mestruazioni	63.6% vs 0.9% ^{3*} 93.1% vs 86.9% ^{4*}	36 mesi dopo la CT

AUTORE (disegno dello studio)	No. pazienti inclusi (Tipo di neoplasia)	Età mediana (anni) LHRHa + CT vs CT da sola	Bracci di trattamento	Definizione di insufficienza ovarica precoce	Incidenza di insufficienza ovarica precoce	Tempistica della valutazione dell' endpoint
Behringer ²⁹⁹ (Fase II, randomizzato)	19 (Linfoma di Hodgkin)	25.3 vs 25.9	BEACOPP + contraccettivi orali ^{1*} + goserelina vs BEACOPP + contraccettivi orali ^{1*}	Livelli post-menopausali di FSH	70% vs 78%	12 mesi dopo la CT
Del Mastro ³⁰⁰ Lambertini ³⁰⁹ (Fase III)	281 (Carcinoma mammario)	39 vs 39	CT + triptorelina vs CT	Nessuna ripresa dell'attività mestruale e livelli post-menopausali di FSH ed E2	8% vs 26%	12 mesi dopo la CT
Gerber ³⁰¹ (Fase III)	60 (Carcinoma mammario)	35 vs 38.5	CT + goserelina vs CT	Nessuna ripresa di due cicli mestruali consecutivi a distanza di 21-35 giorni	30% vs 43%	6 mesi dopo l'ultima somministrazione di goserelina
Demeestere ^{302,303} (Fase III)	84 (Linfoma di Hodgkin e linfoma non-Hodgkin)	25.6 vs 27.3*	CT+ contraccettivi orali ^{2*} + triptorelina vs CT+ contraccettivi orali ^{2*}	FSH >= 40 IU/L	20% vs 18%	12 mesi dopo la CT
Munster ³⁰⁴ (Fase III)	47 (Carcinoma mammario)	39 vs 38	CT + triptorelina vs CT	Assenza di attività mestruale e nessuna ripresa dell'attività mestruale	11.5% vs 9%	24 mesi dopo la CT
Elgindy ³⁰⁵ (Fase II)	93 (Carcinoma mammario)	Non riportata	CT + triptorelina +/- LHRH antagonisti vs CT	Nessuna ripresa dell'attività mestruale	13% vs 16.7 ^{5*} 9% vs 13% ^{6*}	12 mesi dopo la CT
Song ³⁰⁶ (Fase II)	183 (Carcinoma mammario)	40.3 vs 42.1	CT + leuprorelina vs CT	Nessuna ripresa dell'attività mestruale e livelli post-menopausali di FSH ed E2	19.9% vs 28.7%	12 mesi dopo la CT
Karimi-Zarchi ³⁰⁷ (Fase II ?)	42 (Carcinoma mammario)	37	CT + triptorelina vs CT	Nessuna ripresa dell'attività mestruale	9.5% vs 66.7%	6 mesi dopo la CT
Moore ³⁰⁸ (Fase III)	218 (Carcinoma mammario)	37.6 vs 38.7	CT + goserelina vs	Nessuna ripresa dell'attività mestruale e	8% vs 22%	24 mesi dopo la CT

AUTORE (disegno dello studio)	No. pazienti inclusi (Tipo di neoplasia)	Età mediana (anni) LHRHa + CT vs CT da sola	Bracci di trattamento	Definizione di insufficienza ovarica precoce	Incidenza di insufficienza ovarica precoce	Tempistica della valutazione dell'endpoint
			CT	livelli post-menopausali di FSH		
Leonard ³¹⁰ (Fase III)	227 (Carcinoma mammario)	37.9 vs 38.8	CT+ goserelina vs CT	Nessuna ripresa dell'attività mestruale e livelli post-menopausali di FSH	18% vs 34%	12-24 mesi dopo la CT

Abbreviazioni: CT, chemioterapia.

^{1*} Levonorgestrel + etinilestradiolo

^{2*} Noretisterone

^{3*} CMF + LHRHa vs CMF

^{4*} [CMF + LHRHa vs CMF] + Tamoxifene

^{5*} "Early" CT + LHRH analoghi e antagonisti vs "early" CT

^{6*} "Delayed" CT + LHRH analoghi vs "delayed" CT.

* Valori medi

I risultati degli studi sopra riportati, in aggiunta ad altri studi minori, sono stati recentemente analizzati in maniera cumulativa in varie metanalisi (Tabella 9)³¹¹⁻³²². In particolare, una recente metanalisi pubblicata ha analizzato un totale di 12 studi clinici randomizzati che hanno valutato l'efficacia della somministrazione di LHRH analoghi come strategia di preservazione della fertilità nelle giovani pazienti con carcinoma mammario³²¹. Un totale di 1231 pazienti sono entrate nell'analisi; complessivamente, è stata evidenziata una riduzione significativa di andare incontro a disfunzione ovarica precoce (OR=0.36; 95% CI, 0.23-0.57; p<0.001) e di amenorrea a 12 mesi dalla fine della chemioterapia (OR=0.55; 95% CI, 0.41-0.73; p<0.001) nelle pazienti trattate con LHRH analoghi durante la chemioterapia³²¹. L'uso di LHRH analoghi durante chemioterapia era anche associato ad un numero maggiore di gravidanze (OR=1.83; 95% CI, 1.02-3.28; p=0.041)³²¹.

I tre studi randomizzati con maggior numero di pazienti sono stati effettuati in donne con carcinoma mammario.

Lo studio americano POEMS-SWOG S0230 ha valutato l'efficacia dell'aggiunta di goserelina alla chemioterapia in 218 pazienti con tumore della mammella recettori ormonali negativi³⁰⁸. L'aggiunta dell'analogo ha determinato una riduzione assoluta del 14% nell'incidenza di menopausa precoce chemio-indotta (22% vs 8%; OR=0.30; 95% CI, 0.09-0.97; p=0.04), ma soprattutto un aumento significativo nel numero di gravidanze (12 vs 22; OR=2.45; p=0.03)³⁰⁸.

Lo studio italiano PROMISE-GIM6 ha arruolato 281 pazienti con neoplasia mammaria, sia con recettori positivi (80%) sia negativi (20%)³⁰⁰. Dopo un follow up mediano di 7.3 anni, si è osservata una maggiore incidenza cumulativa di ripresa dell'attività mestruale a 5 anni dal termine della chemioterapia (HR aggiustato=1.48; 95% CI, 1.12-1.95; p=0.006) e un numero maggiore di gravidanze (8 vs 3; HR aggiustato=2.40; 95% CI, 0.62-9.22; p=0.20) per le pazienti randomizzate nel braccio sperimentale (chemioterapia + LHRH analogo)³⁰⁹. Inoltre, non è stata osservata nessuna differenza in termini di sopravvivenza libera da malattia tra i due bracci di trattamento (HR=1.17; 95% CI, 0.72-1.92; p=0.52), confermando la sicurezza della procedura anche nelle pazienti con neoplasia endocrino-sensibile³⁰⁹.

Da ultimo, lo studio randomizzato di fase III del gruppo Anglo Celtico confronta gli outcome mestruali e di insufficienza ovarica in un collettivo di 227 pazienti trattate per carcinoma mammario in fase adiuvante o neoadiuvante dopo somministrazione o meno di goserelina durante la chemioterapia³¹⁰. Lo studio conferma i risultati degli altri 2 studi randomizzati nel carcinoma mammario, descrivendo una riduzione dell'amenorrea post-chemioterapia dal 38% al 22% nel gruppo trattato con goserelina e di amenorrea con FSH elevato dal

34% al 18%. Una analisi per sottogruppo in base all'età ha mostrato una differenza meno marcata e non significativa nel gruppo di pazienti con età > 40 anni.

Dopo la pubblicazione dei risultati di questi studi, secondo gli esperti della seconda consensus conference sul tumore della mammella nelle donne giovani (BCY2), l'uso di LHRH analoghi viene raccomandato nelle pazienti con carcinoma mammario interessate a preservare la funzione ovarica e/o la fertilità ³²³.

Nel corso del prossimo anno verranno probabilmente aggiornate le linee guida ASCO e ESMO che attualmente considerano l'uso di LHRH analogo in corso di chemioterapia come sperimentale ^{5,6}.

Tabella 9. Meta-analisi disponibili che hanno valutato il ruolo di LHRH analoghi nella preservazione dell'insufficienza ovarica precoce chemio-indotta.

AUTORE	No. pazienti inclusi	Tipo di malattie	No. di studi inclusi (randomizzati/no n randomizzati)	Principali risultati
Clowse ³¹¹	366 pazienti	Malattie autoimmuni, HL e NHL	9 (2/7)	Il co-trattamento con LHRH analoghi durante la CT è risultato associato con una maggiore probabilità di mantenere la funzione ovarica e avere una gravidanza (OR=1.68; 95% CI, 1.34–2.1).
Ben-Aharon ³¹²	411 pazienti	Malattie autoimmuni, HL e NHL	19 (5/14)	L'uso di LHRH analoghi durante la chemioterapia è risultato efficace nel ridurre il tasso di amenorrea (RR=0.26; 95% CI, 0.22–0.34), ma questo vantaggio è stato osservato solo in studi osservazionali. Considerando solo gli studi randomizzati: RR=0.88; 95% CI, 0.22–1.38.
Kim ³¹³	124 pazienti	Carcinoma mammario, HL e NHL	11 (3/8)	Considerando solo gli studi randomizzati non è stata evidenziata alcuna differenza statisticamente significativa tra il braccio LHRH analoghi e il gruppo di controllo (OR=5.76; 95% CI, 0.47–71.03). Considerando gli studi non randomizzati è stata evidenziata una maggiore probabilità di mantenere la funzione ovarica per le pazienti trattate con LHRH analoghi (OR=10.57; 95% CI, 5.22–21.39).
Bedaiwy ³¹⁴	340 pazienti	HL, carcinoma ovarico e carcinoma mammario	6 (6/0)	E' stata dimostrata una differenza statisticamente significativa in favore del gruppo trattato con LHRH analoghi nell'incidenza di donne con mestruazioni spontanee (OR=3.46; 95% CI, 1.13–10.57)
Chen ³¹⁵	157 pazienti	Carcinoma mammario e HL	4 (4/0)	La somministrazione di LHRH analoghi ha dimostrato un effetto protettivo sulla ripresa dell'attività mestruale dopo la chemioterapia (OR=1.90; 95% CI, 1.33–2.70).
Yang ³¹⁶	528 pazienti	Carcinoma mammario	5 (5/0)	Il tasso di amenorrea precoce nel gruppo LHRH analoghi è risultato 60% più basso rispetto a quello del gruppo di controllo (OR=0.40; 95% CI, 0.21–0.75). Al contrario, entrambi i gruppi di trattamento hanno dimostrato un tasso simile di ripresa dell'attività mestruale (OR=1.31; 95% CI, 0.93–1.85).
Wang ³¹⁷	677 pazienti	Carcinoma mammario	7 (7/0)	Il numero di pazienti con ripresa dell'attività mestruale è risultato statisticamente più alto nel braccio LHRH analoghi (OR=2.83; 95% CI, 1.52–5.25).
Del Mastro ³¹⁸	765 pazienti	Carcinoma mammario, carcinoma	9 (9/0)	Il trattamento con LHRH analoghi è risultato associate a una riduzione altamente significativa nel tasso di insufficienza ovarica precoce (OR=0.43;

AUTORE	No. pazienti inclusi	Tipo di malattie	No. di studi inclusi (randomizzati/non randomizzati)	Principali risultati
		ovarico, HL e NHL		95% CI, 0.22-0.84; p=0.013).
Vitek ³¹⁹	252 pazienti	Carcinoma mammario	4 (4/0)	Nella metanalisi sono state considerate solo le pazienti con carcinoma mammario con recettori ormonali negativi (che quindi non era candidato a terapia endocrina adiuvante). Non è stata dimostrata alcuna differenza significativa tra i due bracci di trattamento (OR=1.47; 95% CI, 0.60-3.62).
Sun ³²⁰	621 pazienti	Carcinoma mammario, carcinoma ovarico, HL e NHL	8 (8/0)	Una minor percentuale di pazienti trattate con LHRH analoghi durante chemioterapia ha sviluppato disfunzione gonadica post-trattamento (RR=0.45; 95% CI, 0.22-0.92).
Lambertini ³²¹	1231 pazienti	Carcinoma mammario	12 (12/0)	Riduzione del rischio di sviluppare disfunzione ovarica precoce (OR=0.36; 95% CI, 0.23-0.57; p<0.001) e amenorrea a un anno dal termine del trattamento chemioterapico (OR=0.55; 95% CI, 0.41-0.73; p<0.001) nel gruppo trattato con LHRH analoghi. L'uso di LHRH analoghi durante la chemioterapia era anche associato ad un numero maggiore di gravidanze (OR=1.83; 95% CI, 1.02-3.28; p=0.041)
Munhoz ³²²	1047 pazienti (856 valutabili)	Carcinoma mammario	7 (7/0)	Maggior probabilità di ripresa del ciclo mestruale dopo 6 e 12 mesi nel gruppo trattato con LHRH analogo (OR=2.41; 95% CI, 1.40-4.15; p=0.002 e OR=1.85; 95% CI, 1.33-2.59; p<0.001). L'uso di LHRH analoghi durante la chemioterapia era anche associato ad un numero maggiore di gravidanze (OR=1.85; 95% CI, 1.02-3.36; p=0.04)

Abbreviazioni: CT, chemioterapia; OR, odds ratio; RR, risk relative; HL: linfoma di Hodgkin; NHL: linfoma Non Hodgkin; n.r.: non riportato.

La somministrazione di LHRH 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. Da giugno 2016, l'uso di LHRH analoghi durante chemioterapia è stato approvato in Italia; triptorelina, goserelina e leuprolide sono state inserite nell'elenco istituito ai sensi della legge 648/96 con rimborsabilità relativa all'indicazione "preservazione della fertilità nelle pazienti oncologiche"

³²⁴

La somministrazione di LHRH 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, ma è utile un monitoraggio della massa ossea in pazienti che ricevono il trattamento per periodi più prolungati.

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.

Qualità globale delle evidenze GRADE	Raccomandazione clinica	Forza della raccomandazione clinica
Moderata	<p>Nelle pazienti in premenopausa candidate a trattamento chemioterapico per neoplasia mammaria e desiderose di preservare la funzionalità ovarica, gli LHRH analoghi dovrebbero essere proposti.</p> <p><i>* La valutazione complessiva della qualità delle evidenze ad oggi disponibili circa “l'utilizzo di LHRH analoghi per la preservazione della funzionalità ovarica nelle pazienti in premenopausa candidate a trattamento chemioterapico per neoplasia mammaria e desiderose di preservare la funzionalità ovarica”, la valutazione del rapporto tra i benefici ed i rischi correlati e la formulazione della raccomandazione relativa al quesito posto, sono state analizzate secondo metodologia GRADE (vedere capitolo 7).</i></p>	Positiva forte

5. 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 10):

- 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:

Per le sue caratteristiche epidemiologiche, il tumore della cervice uterina è quello maggiormente rappresentato e candidato a una chirurgia conservatrice della fertilità, ed è il settore clinico che ha subito notevoli cambiamenti e aggiornamenti negli ultimi anni.

Il carcinoma microinvasivo (invasione < 3 mm estensione < 7 mm 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 (stadio FIGO IA2-IB1)³²⁵, si può proporre un intervento “fertility-sparing”³²⁶ (**Livello di evidenza 3**). Smith e colleghi hanno valutato in una loro casistica interna di 507 pazienti sottoposte a isterectomia radicale per carcinoma della cervice stadi da IA1 a IB1 quanto poteva essere il volume di pazienti interessate³²⁷. Su oltre 200 pazienti interessate a mantenere la loro fertilità (età inferiori a 40 anni), circa il 26% aveva caratteristiche patologiche favorevoli per eseguire un tecnica conservatrice³²⁷. Ovviamente, nel considerare una chirurgia conservativa occorre valutare oltre a una accettabilità oncologica anche il potenziale di fertilità della paziente (presenza di infertilità, di patologie materne potenzialmente importanti, riserva ovarica ed età), in aggiunta alla volontà e alla possibilità della paziente ad intraprendere una gravidanza³²⁸. Una revisione sistematica della letteratura riporta i risultati di 6 approcci terapeutici “fertility sparing”: la procedura di trachelectomia vaginale radicale (procedura di Dargent), la trachelectomia addominale radicale (laparotomica o laparoscopica o robotica), la trachelectomia semplice o conizzazione e la chemioterapia neoadiuvante seguita da chirurgia conservativa³²⁶.

La trachelectomia radicale è un intervento complesso eseguibile solo in centri con adeguata preparazione di ginecologia oncologica soprattutto se eseguita per via vaginale essendo stata abbandonata da molte scuole l'isterectomia vaginale radicale (shauta) per la crescente popolarità della linfadenectomia. La trachelectomia radicale addominale (laparotomica o laparoscopica) in realtà ha i medesimi tempi della isterectomia radicale con la sola differenza dell'amputazione del collo per cui è alla portata di molti centri che si occupano di carcinoma della cervice; tuttavia, sia per via vaginale sia per via addominale, l'intervento sta avendo sempre maggiore diffusione. La trachelectomia radicale eseguita per via vaginale, addominale (laparotomica o laparoscopica anche con l'ausilio del robot) è la procedura chirurgica con la maggiore casistica^{325,329}. Attualmente i casi trattati con trachelectomia radicale sono più di 2000, 1523 effettuati per via vaginale, 866 per via laparotomica, 252 per via laparoscopica e 101 con chirurgia robotica³²⁶. La trachelectomia vaginale ha un maggior tasso di gravidanze rispetto alla via addominale (39.5% vs 8.8%) e di nati vivi (23.3% vs 8.8%)³³⁰. La trachelectomia radicale va preceduta da linfadenectomia pelvica per escludere casi a linfonodi positivi: quest'ultima può essere eseguita per via extra-peritoneale così da prevenire l'insorgenza di aderenze^{331,332}.

Il tasso di recidiva dopo trachelectomia sembra essere sovrapponibile a quello dopo isterectomia radicale^{333,334} anche se non esistono studi randomizzati di confronto e i criteri di inclusione comprendono casi a minor rischio di recidiva³³³. Viene riportato un maggior tasso di recidive nelle pazienti trattate per via vaginale³³⁰. In 13 studi vengono riportati un tasso di recidive comprese tra 1.7% e 4.5% e di queste oltre il 60% presentavano dei fattori intermedi di rischio quali l'invasione degli spazi linfovaskolari; nelle casistiche vi erano anche 189 casi di tumori maggiori ai 2 cm e in questo gruppo (non trattato con chemioterapia) le recidive furono dell'11%; su 1312 casi trattati 1190 conservarono la fertilità³²⁶. I problemi cronici legati alla trachelectomia radicale sono la dispareunia, la dismenorrea, perdite vaginali croniche e stenosi cervicale; le complicanze intraoperatorie sono circa del 4-5% e la mortalità cruda del 1.1-4.2%³³⁵. Considerando che le maggiori complicanze chirurgiche (e difficoltà) si hanno nella sportazione dei parametri e che in caso di tumori a basso rischio (vale a dire di volume inferiore ai 2 cm e con una profondità di invasione inferiore ai 10 mm e linfonodi negativi) il rischio di interessamento parametrico è inferiore al 1% e che nel 65% dei casi sottoposti a precedente conizzazione non presentavano residui di malattia si conclude che molte erano sopra trattate.

I tassi di concepimento delle pazienti sottoposte a trachelectomia radicale variano dal 48% al 69%³²⁶, sebbene esistano alcune problematiche solo parzialmente superate dalla apposizione di un cerchiaggio cervicale^{336,337}. In particolare, si è osservato un aumentato rischio di aborti sia nel primo sia nel secondo trimestre (rispettivamente, fino a 19% e 9.5%)³³⁷⁻³³⁹ e di parti pretermine. Più del 60% delle donne partorisce tra la 32° e la 37° settimana e solo il 24% supera la 37° settimana³³⁹. Per evitare quest'ultima complicazione sono state proposte tecniche di cerchiaggio cervicale che mantengano la continenza a livello del segmento uterino inferiore durante la successiva gravidanza^{340,341}; 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 assistita³³⁹. Il 25-30% delle pazienti operate con trachelectomia radicale rimangono comunque infertili³⁴².

Alcuni autori hanno proposto interventi meno invasivi come la conizzazione o la trachelectomia semplice + linfadenectomia anche nel cancro cervicale IA2-IB1 < 2 cm ma la casistica a riguardo è ancora ridotta: la recente revisione di Bentivegna e collaboratori riporta 242 casi in 13 serie con 6 recidive (2.4%)³²⁶. In un'altra casistica di 203 casi tutti a basso rischio viene riportata un tasso di recidive del 2.7% e un miglior tasso di fertilità e di nati vivi del 68%; il bias di questo confronto tra trachelectomia radicale e semplice è la selezione dei casi nel primo gruppo che essendo più numeroso e datato comprende casi con fattori di rischio differenti³²⁹. E' in corso uno studio randomizzato (NCT01658930) nei casi a basso rischio che dovrebbe fornire una risposta definitiva in materia; anche lo studio GOG 278 pur considerando un braccio di studio che considera isterectomia semplice vs radicale (finalizzato anche alla qualità di vita) nei tumori a basso rischio fornirà ulteriori indicazioni.

La chemio-conizzazione prevede la somministrazione di una chemioterapia neoadiuvante seguita da conizzazione e linfadenectomia pelvica. La maggiore esperienza di questo approccio è di gruppi italiani ma i casi riportati sono solo alcune decine^{341,343}.

Nella pratica clinica del trattamento del cervicocarcinoma, la chemioterapia neoadiuvante ha dimostrato di essere efficace nel ridurre il volume tumore, l'infiltrazione parametrica e di ridurre le metastasi linfonodali;

questo ha portato a studi che hanno considerato la chemioterapia neoadiuvante per poter offrire a queste pazienti una chirurgia conservativa. Una revisione ha riportato 80 casi di tumori stadio IB1 > 2 cm IIa che hanno potuto fare dopo chemioterapia neoadiuvante una terapia conservativa con una risposta patologica completa di oltre il 60%-70%: viene riportato un tasso di recidiva del 6.3% e un tasso di concepimento del 40% e di questi un 72% di nati vivi³²⁸. Questi studi non hanno ancora fornito evidenze sufficienti per poter dare una raccomandazione a riguardo, fermo restando che i casi con linfonodi positivi rappresentano una popolazione ad alto rischio e non elegibile al trattamento conservativo come pure coloro che hanno una risposta patologica parziale e necessitano una radicalità maggiore rispetto alla trachelectomia semplice o una conizzazione.

La chemioterapia seguita da trachelectomia o conizzazione previa stadiazione linfonodale, potrebbe aprire nuove prospettive per poter includere tumori di maggiori dimensioni ma allo stato attuale la procedura non è consigliabile se non in studi pilota e in casi particolari con forti motivazioni. Una cosa comunque da tenere presente è il potenziale tossico di molti chemioterapici sulla gonade: nei 7 studi riportati nella revisione di Willows gli schemi chemioterapici utilizzano farmaci che sono a rischio di gonatotossicità quali l'ifosfamide e il cisplatino³²⁸. Per completezza, una review del 2015 cita 4 lavori 4 per un totale di 12 casi di trapianto di utero uno dei quali per cervico carcinoma³⁴⁴; l'argomento forse apparterrà al futuro.

Un articolo di revisione che ha considerato un totale di 1238 pazienti sottoposte a chirurgia conservativa compresi casi sottoposti a neoadiuvante e tumori di volume superiore ai 2 cm rileva l'importanza dei fattori anatomopatologici di rischio per definire limiti e possibilità della terapia fertility sparing. Occorre considerare l'invasione degli spazi linfovaskolari e la possibilità di ottenere margini liberi; in caso di adenocarcinoma le metastasi ovariche sono presenti in circa il 2% dei casi, per cui può essere consigliato la loro conservazione e una loro visualizzazione è possibile se si esegue una linfoadenectomia laparoscopica intraperitoneale³⁴⁵. La valutazione dello stato linfonodale è fondamentale per invasione stromale > ai 3 mm in caso LVSI positivi alla biopsia; l'impiego della PET/TC permette il rilievo preoperatorio di metastasi linfonodali; in caso di macrometastasi la procedura deve essere abortita mentre non è noto il significato prognostico di quelle di piccole dimensioni soprattutto nei casi nei quali viene utilizzata la CT neoadiuvante³⁴⁶. In assenza di dati strumentali, deve essere eseguita la linfoadenectomia. Dal 2015, il National Comprehensive Cancer Network (NCCN) raccomanda di considerare la procedura del linfonodo sentinella per tumori inferiori ai 2 cm sebbene venga riportato un alto tasso di falsi negativi (20%) all'esame estemporaneo rilevati poi all'ultrastaging³⁴⁷. Nei casi di positività linfonodale all'ultrastaging occorre considerare tutte le informazioni disponibili per decidere se eseguire una stadiazione chirurgica o ricorrere a chemio o radioterapia o entrambe; quest'ultime di fatto non controindicano una chirurgia fertility sparing ma possono ridurre il potenziale fertile delle pazienti. In uno studio retrospettivo su una casistica di 118 pazienti sottoposti a isterectomia radicale (stadi IA2, IIA) che avevano precedentemente subito una conizzazione, Smith e colleghi hanno ricercato i fattori predittivi per una invasione parametricale³⁴⁸. Gli autori riportano come non lo stadio, non il volume tumorale fossero correlati al rischio di invasione parametricale; il rischio di invasione parametricale correlava invece con l'invasione degli spazi linfovaskolari (77.8% vs 29.4%) e con la positività linfonodale (66.7% vs 8.3%) e che i due fattori erano indipendenti e il rischio era maggiore in caso di linfonodi positivi. Il lavoro presenta alcuni bias dovuti alla selezione dei casi (stadi più avanzati, squilibrio numerico tra casi con e senza invasione parametricale); tuttavia, sembra confermare la necessità di eseguire sempre la linfoadenectomia, di considerare a rischio i casi con LVSI positivi e che il volume tumorale potrebbe essere un fattore non assoluto nel decidere per una chirurgia conservativa³⁴⁸. I casi con invasione degli spazi linfovaskolari non devono comunque essere esclusi da una chirurgia conservativa³⁴⁹. Per quanto riguarda gli stadi precoci resta da chiarire quanto devono essere i margini liberi: nello specifico il valore posto di 5 mm è stato estrapolato sulla base dei dati disponibili dalla chirurgia radicale classica³⁵⁰. Alcuni raccomandano un esame estemporaneo dei margini e se positivi la procedura deve essere abortita; i falsi negativi dell'esame estemporaneo sono riportati dal 4.2% al 19%³⁵¹.

In conclusione, i requisiti fondamentali per considerare una chirurgia conservativa sono:
-valutazione delle potenzialità riproduttive della paziente e della sua determinazione;
-lo stadio del tumore rientra nei parametri del basso rischio (IA2 – IB1 < 2cm);

- valutazione accurata dei fattori di rischio mediante clinica – imaging – anatomopatologici ottenuti mediante biopsia o conizzazione;
- valutazione della appropriatezza oncologica;
- scelta del trattamento (legata più alle attitudini e alla esperienza del centro; casi a basso rischio conizzazione o amputazione semplice della cervice – presenza di fattori di rischio trachelectomia radicale; comunque è raccomandabile riferire le pazienti a centri con adeguata esperienza);
- valutazione linfonodale con possibilità di eseguire ricerca linfonodo sentinella;
- inserimento in registri o studi clinici controllati;
- follow-up e assistenza alla gravidanza in centri qualificati.

Qualità globale dell'evidenza SIGN	Raccomandazione clinica	Forza della raccomandazione clinica
D	<p>Un intervento chirurgico “fertility sparing” può essere proposto alle pazienti con carcinoma microinvasivo squamoso o adenocarcinoma (invasione < 3 mm estensione < 7 mm FIGO IA1).</p> <p>Le 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 < 2 cm) possono essere candidate alla trachelectomia radicale anche in presenza di LVSI o alla trachelectomia semplice o alla conizzazione in assenza di fattori di rischio e margini liberi di almeno 5 mm³²⁶. In tutti i casi i linfonodi devono essere valutati ed è possibile considerare il linfonodo sentinella.</p> <p>Le pazienti con carcinomi cervicale stadio IB1 > a 2 cm - IIA possono essere candidate a chemioterapia neoadiuvante seguita da intervento conservativo non radicale in caso di risposta completa e di chirurgia radicale in caso di risposta parziale.</p>	Positiva debole

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. La fertilità nelle pazienti trattate per tumore borderline dipende prevalentemente dall'istologia e dalla stadiazione iniziale. Secondo i risultati di una recente revisione sistematica della letteratura, che ha preso in considerazione 120 pubblicazioni, il tasso di concepimento spontaneo dopo terapia conservativa negli stadi iniziali è risultato nel complesso pari al 54% con un basso rischio di recidiva; è stato riportata un tasso di recidive comprese tra 0.5% e 11% per stadi più avanzati con un tempo mediano di recidiva di 4.7 anni³⁵² (**Livello di evidenza 3**). Il rischio era tra volte superiore nelle pazienti sottoposte a cistectomia rispetto a quelle sottoposte a ovariectomia³⁵³. 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 è maggiore³⁵⁴. 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 recidiva³⁵³, ma certamente il reintervento, specie se coinvolge l'ovaio residuo è destinato a ridurre la riserva ovarica e quindi il potenziale riproduttivo. Ci sono 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%)¹⁰⁷; tuttavia, è stato riportato anche un tasso di recidiva del 19.4 % in 62

pazienti sottoposte a cicli di stimolazione ovarica per IVF dopo tumore borderline³⁵⁵. Al momento prima di sottoporre una paziente con pregresso borderline a una stimolazione ovarica bisogna informarla che non ci sono dati sufficienti per escludere che il trattamento dell'infertilità sia legato ad un aumentato rischio di recidive.

Sono state pubblicate molte casistiche riguardanti il trattamento conservativo (ovarosalpingectomia monolaterale più staging) del **carcinoma epiteliale dell'ovaio**; tuttavia, queste sono molto differenti tra loro per il fatto che il tipo istologico è variamente rappresentato ed è noto che tumori indifferenziati e a cellule chiare hanno di per se una prognosi più sfavorevole. Il numero è anche limitato dal fatto che a differenza dei tumori borderline, il carcinoma ovarico è relativamente raro al di sotto dei 40 anni, fascia di età quest'ultima che necessiterebbe maggiormente di una terapia conservativa, e meno dell'8% dei casi si verificano in donne al di sotto dei 35 anni³⁴⁴. Un altro fattore limitante è che i tumori epiteliali al primo stadio sono una minoranza (meno del 30%) e anche se negli ultimi anni si è assistito ad un aumento dei casi in stadi meno avanzati non è ancora dimostrato che la prognosi sia parimenti cambiata³⁵⁶.

La sopravvivenza nello **stadio FIGO I** è superiore al 90% nei casi IA G1, per scendere all'85% nei casi G2 e all'80% nei G3 con differenze rispetto al tipo istologico; si tenga presente che comunque i primi stadi G3 sono candidati a chemioterapia. A oggi sono riportate almeno 10 serie per un totale di oltre 1500 pazienti trattate conservativamente comprendente stadi IC o II che rilevano come lo stadio e il grado siano i fattori predittivi di ricaduta³⁴⁴. Allo stato attuale esiste un generale accordo per il quale la terapia conservativa allo stadio FIGO Ia G1 sia raccomandata e non è necessaria nessuna terapia adiuvante^{357,358} (**Livello di evidenza 3**). Morice e collaboratori hanno effettuato uno studio retrospettivo multicentrico che ha incluso 34 pazienti con carcinoma epiteliale ovarico in stadio IA, IC e IIA: delle 11 pazienti che hanno sviluppato una ripresa di malattia, tutte avevano uno stadio superiore allo stadio IA; hanno segnalato inoltre l'avvenimento di 10 gravidanze in 9 pazienti³⁵⁷. Nel lavoro di Satoh e colleghi sono state incluse 211 pazienti in stadio IA e IC, mostrando come il trattamento chirurgico "fertility-sparing" fosse sicuro in termini di ripresa di malattia, per le pazienti in stadio IA e istologia favorevole in assenza di successivi trattamenti adiuvanti; al contrario per le pazienti in stadio IA e istologia a cellule chiare e per quelle con stadio IC e istologia favorevole gli autori suggerivano di fare seguire alla chirurgia un trattamento chemioterapico adiuvante³⁵⁸. Per gli stessi autori questo tipo di chirurgia non andrebbe proposta alle pazienti con malattia in stadio IA G3 o in stadio IC e istologia a cellule chiare o grado G3³⁵⁸ (**Livello di evidenza 3**).

Un recente studio di coorte italiano riporta i risultati di 65 pazienti con tumore ovarico monolaterale trattate in modo conservativo per via laparoscopica³⁵⁹. In questo studio sono state trattate 36 pazienti a basso rischio (stadio IA G1-G2) e 29 ad alto rischio (stadio IA G3)³⁵⁹. Questo studio riporta a 38 mesi di follow-up una sopravvivenza complessiva del 95.4% e una sopravvivenza libera da malattia del 84.6% non significativamente differenti tra le pazienti a basso e quelle ad alto rischio; tuttavia, lo studio non chiarisce in quali pazienti il trattamento chirurgico sia stato seguito da un trattamento chemioterapico³⁵⁹. Il 60% delle pazienti che hanno ricercato una gravidanza hanno concepito spontaneamente³⁵⁹. Tuttavia, secondo le raccomandazioni dell'ESGO (Fertility Taskforce of the European Society of Gynecologic Oncology), la terapia conservativa nel carcinoma epiteliale dell'ovaio non dovrebbe essere proposta alle pazienti con tumori G3³⁶⁰. L'incidenza di ripresa di malattia dopo chirurgia conservativa nei tumori epiteliali dell'ovaio, varia nei lavori pubblicati dal 4% al 15% ed è significativamente correlata al grading, anche se probabilmente la maggior incidenza di recidive nei tumori G3 non è dovuta al mantenimento dell'ovaio ma alla natura aggressiva della malattia stessa^{360,361}. In una recente revisione di una casistica di 240 casi, 60 dei quali G3, gli autori hanno riportato un 24% di metastasi a distanza nei tumori G3 trattati conservativamente; tuttavia, gli autori fanno rilevare come questo dato sia simile a quello rilevato nei casi trattati in modo demolitivo, e riportano inoltre la medesima prognosi e tasso di ricorrenza nei casi trattati con cistectomia rispetto a quelli sottoposti ad annessiectomia^{344,360}. L'80% delle donne che lo desideravano, hanno ottenuto una gravidanza e si sono avuto 93 bambini vivi. Al termine del programma riproduttivo, soprattutto per le forme più aggressive, è consigliato completare il trattamento tenuto conto che sono possibili ricadute oltre i 10 anni e che comunque sono pazienti ad elevato rischio³⁶⁰.

Un'altra problematica riguarda la procedura chirurgica dell'ovaio controlaterale poiché l'eventuale biopsia potrebbe ridurre ulteriormente la fertilità; nella realtà la recidiva controlaterale è rara (3-5%) e secondo l'ESGO (2012), nell'ovaio controlaterale dovrebbero essere biopsiate solo lesioni visibili e sospette.

La terapia adiuvante necessaria in alcuni casi (stadio IA e istologia a cellule chiare, stadio IC) può essere responsabile di una riduzione della riserva ovarica e della fertilità post-trattamento³⁵⁸. 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 certa.

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 fertilità³⁶²; non è chiaro quanto spesso ciò possa avvenire e occorre mettere in atto le note tecniche cautelative per evitare o limitare tali evenienze.

Per quel che riguarda le **neoplasie non epiteliali**, che rappresentano il 5% delle neoplasie ovariche, alcune delle quali sono più frequenti in età giovanile, i tumori germinali e quelli dei cordoni sessuali possono essere trattati conservativamente.

Eccetto i tumori della granulosa, i tumori germinali necessitano di un appropriato staging con linfadenectomia; tuttavia, visto che molti casi in realtà giungono alla osservazione specialistica già operati e non stadiati, è possibile anche data la loro chemio-sensibilità optare per un attento follow-up³⁶³.

Qualità globale dell'evidenza SIGN	Raccomandazione clinica	Forza della raccomandazione clinica
D	<p>Possono essere candidate a trattamento chirurgico conservativo tutte le pazienti con tumore borderline confinato alle ovaie o con impianti extraovarici non invasivi, anche in caso di recidiva³⁵².</p> <p>Può essere proposta una chirurgia ovarica conservativa alle pazienti con carcinoma epiteliale dell'ovaio stadio FIGO IA, stadiazione chirurgica ottimale e istologia favorevole (mucinoso, endometriode), 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^{357,358}.</p> <p>I tumori germinali e quelli dei cordoni sessuali possono essere trattati conservativamente.</p>	Positiva debole

CARCINOMA ENDOMETRIALE

L'incidenza di carcinoma dell'endometrio in età riproduttiva è piuttosto bassa poiché solo il 20% dei tumori endometriali colpisce donne in premenopausa e di questi non più del 5-8% interessa donne al di sotto dei 40 anni. In queste pazienti, se desiderose di una gravidanza, può essere proposto un trattamento conservativo dell'utero e delle ovaie nei casi di adenocarcinomi ben differenziati (G1) non infiltranti e senza invasione degli spazi linfovaskolari alle biopsie e nei casi di iperplasia atipica³⁶⁴ (**Livello di evidenza 3**). Non vi sono particolari novità nel trattamento conservativo in caso di adenocarcinoma a buona prognosi. Tomeo e colleghi hanno riportato 16 studi con oltre 400 casi³⁴⁴. Viene ribadito comunque, nonostante si tratti di un tumore a buona prognosi, di completare la chirurgia per l'alto tasso di recidive a distanza e probabilmente per l'interferenza di fattori genetici³⁴⁴. Simpson e colleghi hanno valutato retrospettivamente 44 pazienti con iperplasia atipica complessa o con neoplasia endometriale di grado 1 che sono state sottoposte a trattamento

con progestinici per via orale per poter andare incontro a successive gravidanze: il 55% delle pazienti ha ottenuto una risposta completa e il 25% ha effettuato un trattamento per la fertilità ottenendo 3 gravidanze e 3 aborti spontanei³⁶⁵. Nella metanalisi di Gallos e colleghi sono stati presi in considerazione 34 studi osservazionali che hanno studiato la fattibilità di un trattamento “fertility-sparing” in giovani pazienti con iperplasia atipica complessa o con neoplasia endometriale in stadio precoce: il tasso di regressione, ricaduta e gravidanze sono risultati rispettivamente pari a 76.2%, 40.6% e 28% per il carcinoma endometriale, e pari a 85.6%, 26% e 26.3% nell’iperplasia atipica complessa³⁶⁴. Il trattamento prevede l’uso di progestinici ad alte dosi per via sistemica o topica (o combinati). Si tenga presente che comunque in questo subset di pazienti si osserva un’alta incidenza di problemi di fertilità³⁶⁵, spesso correlato ad un elevato indice di massa corporea (63% dei casi con infertilità), e occorre sempre tener presente la possibilità di una predisposizione genetica ai tumori³⁶⁶.

Il primo problema riguarda la diagnosi eseguita mediante isteroscopia, biopsie o dilatazione e curettage, la cui valutazione non sempre è univoca: la revisione dei preparati istologici da parte di un patologo esperto di gineco-patologia andrebbe presa in considerazione per la variabilità interosservatoria nella diagnosi di adenocarcinoma ben differenziato rispetto a iperplasia atipica complessa. Alcuni autori segnalano un up grade del grado di differenziazione nel 15-18% dei casi valutati con biopsia rispetto a un 9% se valutati con una sistemica asportazione endometriale con curettage³⁶⁷. Mediamente nei casi di iperplasia complessa atipica si ha una risposta patologica completa pari all’85% e un minor tasso di recidiva che si attesta intorno al 26%. L’iperplasia atipica per definizione non presenta atteggiamenti infiltrativi e, pur giovandosi dei medesimi trattamenti, non presenta i problemi relativi alla valutazione oggettiva del reale stadio della malattia. Nei casi di adenocarcinoma è stimata comunque una sottostadiazione di circa il 2% e circa il 21-33% dei tumori hanno di fatto una infiltrazione miometriale³⁶⁷.

L’impiego di tecniche di imaging fornisce dati importanti ma non assoluti: per quel che riguarda l’infiltrazione, la tomografia a Risonanza Magnetica (TRM), utilizzata non da tutti gli autori, presenta un tasso di veri negativi dell’85% e di veri positivi di solo il 65%; anche l’ecografia trans vaginale non raggiunge una accuratezza sufficiente come pure appare inutile per noti motivi il dosaggio del CA125. Tuttavia, l’imaging è importante per escludere patologie ovariche primitive concomitanti o metastatiche che sono presenti in circa il 4-5% dei casi³⁵⁶: da sottolineare come i tumori ovarici a cellule della granulosa (tipo giovanile) sono associati nel 15-25% dei casi a tumori endometriali.

Varie pubblicazioni, compresa una meta-analisi che ha incluso 408 casi di carcinoma dell’endometrio trattato con progestinici, riportano un’incidenza complessiva di risposta al trattamento del 55-76.2% entro 12 mesi dall’inizio della terapia, un’incidenza di recidiva del 41-54% durante il follow-up (variabile nei vari studi fra fra 11 e 76.5 mesi)^{364-366,368}. Il tempo necessario per una risposta completa nei vari studi varia da 1 a 15 mesi (mediana 3 mesi) e le recidive sono state osservate fra il 6° e il 44° mese di terapia (mediana 19 mesi)³⁶⁹. Alcuni autori, in caso di recidiva, hanno proposto un nuovo ciclo di terapia e hanno riportato una risposta completa nell’85% dei casi con un tasso di seconda ricaduta pari al 20% e comunque con nessun caso di mortalità dovuta a progressione; sebbene tale procedura sia concettualmente accettabile le casistiche sono ancora insufficienti per poter applicare il metodo al di fuori di studi clinici controllati; in questi casi il counseling assume ancora più valore³⁷⁰.

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 più o meno elevati elevati³⁶⁵ (80-160 mg di megestrolo tra 100-500 per il MAP) con risultati più o meno sovrapponibili; esiste comunque un rischio trombo embolico evidente soprattutto in soggetti con fattori di rischio clinico^{332,365}. E’ stato impiegato anche lo IUD al levonorgestrel da solo con risultati inferiori in termini di remissione mentre in associazione con progestinici orali a dosi più basse e in mantenimento nel follow-up i risultati sembrano essere sovrapponibili³³². 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. Come già detto precedentemente, 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. Gli

effetti dell'applicazione delle Tecniche di Riproduzione Assistita in queste pazienti soprattutto per quel che riguarda la stimolazione ovarica non sembra avere particolari controindicazioni³⁶⁸.

In pazienti giovani con tumore dell'endometrio, prima di iniziare una stimolazione ovarica, dovrebbe essere presa in considerazione la ricerca genetica: infatti, nelle giovani pazienti 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)^{369,371}.

In conclusione il trattamento conservativo dell'iperplasia complessa atipica e dell'adenocarcinoma endometriale G1 può essere proposto a donne motivate che prevedano una gravidanza in un tempo relativamente breve, disponibili ad accurati controlli (anche invasivi) e all'eventuale ricorso a tecniche di riproduzione assistita. Il colloquio informativo deve evidenziare tutte le problematiche inerenti la procedura, dalla diagnosi al follow-up, con tutti i limiti esposti ma anche nella consapevolezza che i casi nei quali la prognosi è peggiore non superano il 2% e la mortalità è inferiore all'1%.

Come argomento a latere resta il problema della conservazione o meno delle ovaie: il trattamento del carcinoma tutti gli stadi prevede oltre all'isterectomia anche l'ovariectomia bilaterale basata sull'alta incidenza di metastasi ovariche nei tumori adenocarcinomi dell'utero compreso quello del canale cervicale.

Oltre ai problemi della fertilità esistono comunque nelle donne giovani pesanti sequele dovute alla castrazione: varie evidenze cliniche evidenziano come negli stadi precoci il coinvolgimento ovarico è raro e queste possono essere lasciate in situ una volta eseguiti esami di stadiazione per il tumore e le pazienti dovranno essere attentamente monitorate^{372,366}.

Infine, l'alto tasso di recidive consiglia, una volta completato il programma riproduttivo (programma più breve possibile), un completamento della terapia secondo gli standard.

Qualità globale dell'evidenza SIGN	Raccomandazione clinica	Forza della raccomandazione clinica
D	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 linfovaskolari al curettage, con RM o ECO TV apparentemente negative per invasione miometriale e dopo esclusione di patologia ovarica e/o metastatica) ³⁶⁴ .	Positiva debole

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 10. Riassunto dei trattamenti conservativi per tumori ginecologici

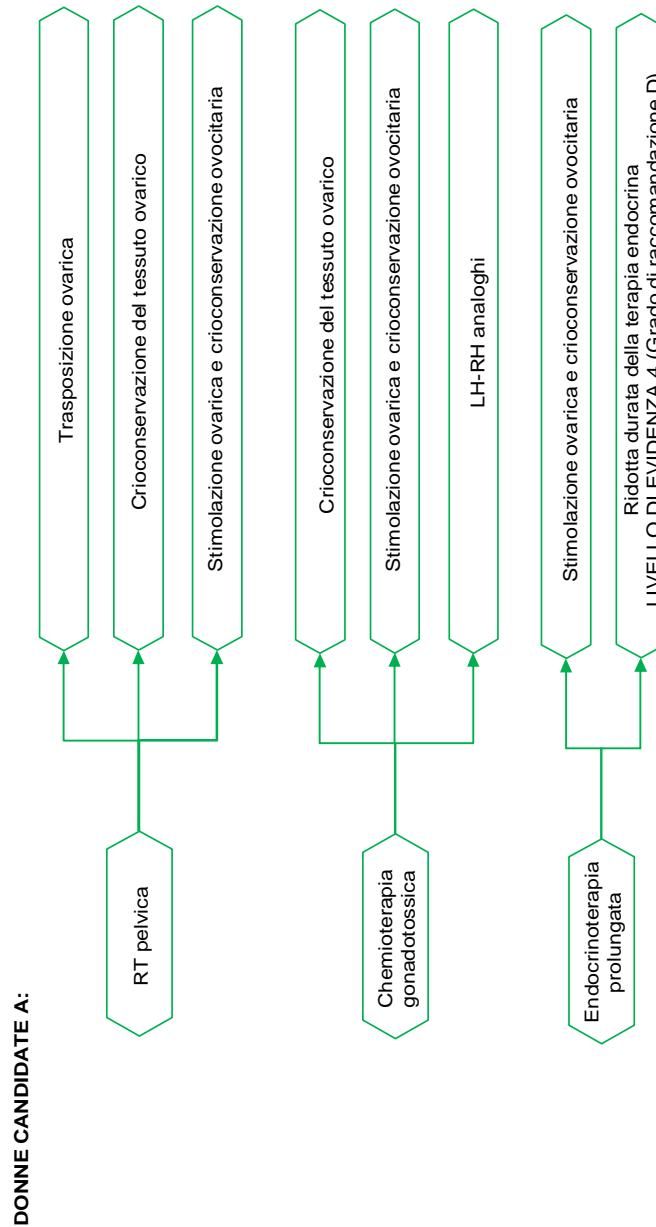
TUMORE	ISTOTIPO	STADIO	ALTRI PARAMETRI	INTERVENTO	DATI DISPONIBILI
CERVICIA	Carcinoma squamoso o adenocarcinoma o carcinoma adenosquamoso	IA1	-invasione stromale < 3 mm; -spazi linfovaskolari non coinvolti; -margini negativi; -curettage negativo.	Conizzazione	Ampia e dettagliata
		-IA1 con LVSI -IA2-IB1 (<2cm)	-diametro < 2 cm; -invasione stromale < 10 mm; -diametri superficie maggiori con invasione minore e LVSI negativo	Trachelectomia radicale	> 2000 casi
				Trachelectomia semplice	> 500 casi
		IB1	> 2cm	Chemoconizzazione	80 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	> 1000 casi
		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 linfovaskolare nel campione del curettage.	Recettori positivi per estrogeni e progesterone all'immunoistochimica Proponibile anche in caso di recidiva se fattori di rischio sempre assenti o modesti Completare trattamento una volta raggiunto il risultato o per rinuncia dell'obiettivo	Elevati dosaggi di progesterone (+ resezione isteroscopica di lesioni focali)	≥ 400 casi

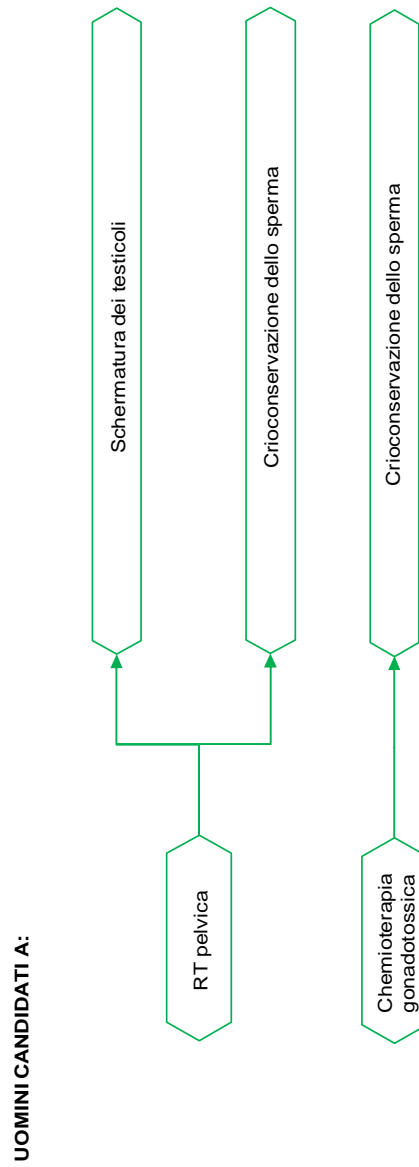
LVSI: invasione spazi linfovaskolari

6. Figure

FIGURA 1 - PRESERVAZIONE DELLA FERTILITA' NELLE PAZIENTI ONCOLOGICHE



**FIGURA 2 - PRESERVAZIONE DELLA FERTILITA'
NEI PAZIENTI ONCOLOGICI**



7. Raccomandazioni prodotte con metodologia GRADE

QUESITO 1: Nelle pazienti in premenopausa candidate a trattamento chemioterapico per neoplasia mammaria e desiderose di preservare la funzionalità ovarica sono raccomandabili gli LHRH analoghi per la preservazione della funzionalità ovarica?						
RACCOMANDAZIONE: Nelle pazienti in premenopausa candidate a trattamento chemioterapico per neoplasia mammaria e desiderose di preservare la funzionalità ovarica, gli LHRH analoghi dovrebbero essere proposti .						
Forza della raccomandazione: POSITIVA FORTE						
Motivazioni/Commenti al bilancio Beneficio/Danno: <p>Il beneficio del trattamento risulta pari ad una riduzione del rischio di disfunzione ovarica precoce chemio-indotta di circa il 50%. In particolare, tra i 6 studi considerati nell'analisi di questo outcome, 3 hanno riportato risultati positivi sul possibile ruolo protettivo di questa strategia (studi con la numerosità del campione più ampia e qualità dell'evidenza più elevata) mentre 3 non hanno dimostrato alcun effetto.</p> <p>Il reale impatto di LHRH analoghi sulla possibilità di avere successive gravidanze è ancora controverso: tuttavia, dati recenti suggeriscono un loro potenziale ruolo come strategia di preservazione della fertilità. Cinque studi hanno descritto gravidanze post-trattamento: 3 hanno riportato un numero maggiore di gravidanze con l'uso di LHRH analoghi e 2 nessuna differenza. In particolare, dei tre studi con un maggiore numero di gravidanze, lo studio di Moore 2015 risulta essere il più affidabile in quanto valuta tale outcome con un follow-up più lungo e adeguato rispetto agli altri.</p> <p>I rischi legati al trattamento (LHRH analoghi), non riportati nella maggior parte degli studi, sono noti e da considerarsi clinicamente poco rilevanti rispetto al beneficio atteso, anche in considerazione della breve durata del trattamento e della contemporanea somministrazione di chemioterapia.</p>						
Votazione forza raccomandazione				Votazione bilancio Beneficio/Danno		
Positiva forte	Positiva debole	Negativa debole	Negativa forte	Favorevole	Incerto	Sfavorevole
4	1			5	0	0
Implicazioni per le ricerche future: <p>Alcuni quesiti necessitano di essere ulteriormente approfonditi:</p> <ul style="list-style-type: none"> -non sono stati completamente elucidati i meccanismi d'azione attraverso cui il farmaco riduce la gonadotossicità dei trattamenti chemioterapici; -mancano dati sul follow-up a lungo termine delle pazienti arruolate negli studi randomizzati che hanno valutato l'efficacia di LHRH analoghi nella prevenzione disfunzione ovarica precoce chemio-indotta; in particolare, nessuno studio ha riportato l'incidenza di menopausa precoce nelle pazienti che hanno avuto una ripresa della funzione mestruale dopo il trattamento chemioterapico; -non sono ancora stati pubblicati i risultati dello studio clinico OPTION e i dati di follow-up a lungo termine dello studio PROMISE-GIM6, importanti per chiarire il ruolo di tale strategia come tecnica di preservazione della funzionalità ovarica e della fertilità; -mancano dati sulla valutazione dell'efficacia di LHRH analoghi in associazione a crioconservazione ovocitaria, rispetto alle due strategie effettuate singolarmente. 						
Qualità delle Evidenze <p>La qualità globale delle evidenze è stata giudicata MODERATA per le seguenti motivazioni: la maggior parte degli studi valutati avevano un sample size inadeguato con conseguenti problemi di imprecisione della stima dell'effetto. Esistono problematiche metodologiche dovute all'interruzione precoce dello studio di Moore 2015. Inoltre, per alcuni studi mancano le informazioni per valutare i possibili rischi di bias (soprattutto sulla gestione dell'allocation concealment).</p> <p>E' stata rilevata eterogeneità tra gli studi per quanto riguarda la lunghezza dei follow-up, l'età delle pazienti arruolate, differenti numerosità campionarie analizzate e definizioni degli outcome.</p>						
Qualità globale delle evidenze: MODERATA						

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.

8. Bibliografia

1. AIOM-AIRTUM: I numeri del cancro in Italia 2016.pdf.
2. I tumori in Italia. Available from: <http://www.tumori.net/it3/>
3. Lee SJ, Schover LR, Partridge AH, Patrizio P, Wallace WH, Hagerty K, et al. American Society of Clinical Oncology recommendations on fertility preservation in cancer patients. *J Clin Oncol.* 2006 Jun 20;24(18):2917–31.
4. Schover LR. Patient attitudes toward fertility preservation. *Pediatr Blood Cancer.* 2009 Aug;53(2):281–4.
5. Loren AW, Mangu PB, Beck LN, Brennan L, Magdalinski AJ, Partridge AH, et al. Fertility Preservation for Patients With Cancer: American Society of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline Update. *J Clin Oncol.* 2013 May 28;31(19):2500–10.
6. Peccatori FA, Azim HA Jr, Orecchia R, Hoekstra HJ, Pavlidis N, Kesic V, et al. Cancer, pregnancy and fertility: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.* 2013 Oct;24 Suppl 6:vi160-170.
7. Balasch J, Gratacós E. Delayed childbearing: effects on fertility and the outcome of pregnancy. *Fetal Diagn Ther.* 2011;29(4):263–73.
8. Johnson J-A, Tough S, Society of Obstetricians and Gynaecologists of Canada. Delayed childbearing. *J Obstet Gynaecol Can JOGC.* 2012 Jan;34(1):80–93.
9. Astolfi P, Zonta LA. Delayed maternity and risk at delivery. *Paediatr Perinat Epidemiol.* 2002 Jan;16(1):67–72.
10. Penrose R, Beatty L, Mattiske J, Koczwara B. Fertility and cancer--a qualitative study of Australian cancer survivors. *Support Care Cancer.* 2012 Jun;20(6):1259–65.
11. Saito K, Suzuki K, Iwasaki A, Yumura Y, Kubota Y. Sperm cryopreservation before cancer chemotherapy helps in the emotional battle against cancer. *Cancer.* 2005 Aug 1;104(3):521–4.
12. Girasole CR, Cookson MS, Smith JA Jr, Ivey BS, Roth BJ, Chang SS. Sperm banking: use and outcomes in patients treated for testicular cancer. *BJU Int.* 2007 Jan;99(1):33–6.
13. Schover LR, Brey K, Lichtin A, Lipshultz LI, Jeha S. Knowledge and experience regarding cancer, infertility, and sperm banking in younger male survivors. *J Clin Oncol.* 2002 Apr 1;20(7):1880–9.
14. Schover LR, Rybicki LA, Martin BA, Bringelsen KA. Having children after cancer. A pilot survey of survivors' attitudes and experiences. *Cancer.* 1999 Aug 15;86(4):697–709.
15. Fosså SD, Magelssen H, Melve K, Jacobsen AB, Langmark F, Skjaerven R. Parenthood in survivors after adulthood cancer and perinatal health in their offspring: a preliminary report. *J Natl Cancer Inst Monogr.* 2005;(34):77–82.
16. Reinmuth S, Liebeskind A-K, Wickmann L, Bockelbrink A, Keil T, Henze G, et al. Having children after surviving cancer in childhood or adolescence - results of a Berlin survey. *Klin Pädiatr.* 2008 Jun;220(3):159–65.
17. Zebrack BJ, Casillas J, Nohr L, Adams H, Zeltzer LK. Fertility issues for young adult survivors of childhood cancer. *Psychooncology.* 2004 Oct;13(10):689–99.
18. Wenzel L, Dogan-Ates A, Habbal R, Berkowitz R, Goldstein DP, Bernstein M, et al. Defining and measuring reproductive concerns of female cancer survivors. *J Natl Cancer Inst Monogr.* 2005;(34):94–8.
19. King RB. Subfecundity and anxiety in a nationally representative sample. *Soc Sci Med* 1982. 2003 Feb;56(4):739–51.
20. Carter J, Raviv L, Applegarth L, Ford JS, Josephs L, Grill E, et al. A cross-sectional study of the psychosexual impact of cancer-related infertility in women: third-party reproductive assistance. *J Cancer Surviv Res Pract.* 2010 Sep;4(3):236–46.
21. Carter J, Rowland K, Chi D, Brown C, Abu-Rustum N, Castiel M, et al. Gynecologic cancer treatment and the impact of cancer-related infertility. *Gynecol Oncol.* 2005 Apr;97(1):90–5.
22. Partridge AH, Gelber S, Peppercorn J, Sampson E, Knudsen K, Laufer M, et al. Web-based survey of fertility issues in young women with breast cancer. *J Clin Oncol.* 2004 Oct 15;22(20):4174–83.
23. Ruddy KJ, Gelber SI, Tamimi RM, Ginsburg ES, Schapira L, Come SE, et al. Prospective study of fertility concerns and preservation strategies in young women with breast cancer. *J Clin Oncol.* 2014 Apr 10;32(11):1151–6.

24. Rosen A, Rodriguez-Wallberg KA, Rosenzweig L. Psychosocial distress in young cancer survivors. *Semin Oncol Nurs*. 2009 Nov;25(4):268–77.
25. Kelvin JF, Kroon L, Ogle SK. Fertility preservation for patients with cancer. *Clin J Oncol Nurs*. 2012 Apr;16(2):205–10.
26. Vadaparampil ST, Hutchins NM, Quinn GP. Reproductive health in the adolescent and young adult cancer patient: an innovative training program for oncology nurses. *J Cancer Educ*. 2013 Mar;28(1):197–208.
27. Schover LR, Brey K, Lichtin A, Lipshultz LI, Jeha S. Oncologists' attitudes and practices regarding banking sperm before cancer treatment. *J Clin Oncol*. 2002 Apr 1;20(7):1890–7.
28. Duffy CM, Allen SM, Clark MA. Discussions regarding reproductive health for young women with breast cancer undergoing chemotherapy. *J Clin Oncol*. 2005 Feb 1;23(4):766–73.
29. Bonduelle M, Wennerholm U-B, Loft A, Tarlatzis BC, Peters C, Henriët S, 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 Feb;20(2):413–9.
30. Quinn GP, Vadaparampil ST, Gwede CK, Reinecke JD, Mason TM, Silva C. Developing a referral system for fertility preservation among patients with newly diagnosed cancer. *J Natl Compr Cancer Netw*. 2011 Nov;9(11):1219–25.
31. Hohmann C, Borgmann-Staudt A, Rendtorff R, Reinmuth S, Holzhausen S, Willich SN, 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):274–85.
32. Adams E, Hill E, Watson E. Fertility preservation in cancer survivors: a national survey of oncologists' current knowledge, practice and attitudes. *Br J Cancer*. 2013 Apr 30;108(8):1602–15.
33. Quinn GP, Vadaparampil ST. More research, more responsibility: the expansion of duty to warn in cancer patients considering fertility preservation. *Am J Obstet Gynecol*. 2013 Aug;209(2):98–102.
34. Johnson RH, Kroon L. Optimizing fertility preservation practices for adolescent and young adult cancer patients. *J Natl Compr Cancer Netw JNCCN*. 2013 Jan 1;11(1):71–7.
35. Martínez F, Devesa M, Coroleu B, Tur R, González C, Boada M, et al. Cancer and fertility preservation: Barcelona consensus meeting. *Gynecol Endocrinol*. 2013 Apr;29(4):285–91.
36. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Fertility preservation in patients undergoing gonadotoxic therapy or gonadectomy: a committee opinion. *Fertil Steril*. 2013 Nov;100(5):1214–23.
37. Ethics Committee of American Society for Reproductive Medicine. Fertility preservation and reproduction in patients facing gonadotoxic therapies: a committee opinion. *Fertil Steril*. 2013 Nov;100(5):1224–31.
38. Quinn GP, Vadaparampil ST, Gwede CK, Miree C, King LM, Clayton HB, et al. Discussion of fertility preservation with newly diagnosed patients: oncologists' views. *J Cancer Surviv Res Pract*. 2007 Jun;1(2):146–55.
39. Köhler TS, Kondapalli LA, Shah A, Chan S, Woodruff TK, Brannigan RE. 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*. 2011 Mar;28(3):269–77.
40. Quinn GP, Vadaparampil ST, Lee J-H, Jacobsen PB, Bepler G, Lancaster J, et al. Physician referral for fertility preservation in oncology patients: a national study of practice behaviors. *J Clin Oncol*. 2009 Dec 10;27(35):5952–7.
41. Rieker PP, Fitzgerald EM, Kalish LA. Adaptive behavioral responses to potential infertility among survivors of testis cancer. *J Clin Oncol*. 1990 Feb;8(2):347–55.
42. Shimizu C, Bando H, Kato T, Mizota Y, Yamamoto S, Fujiwara Y. Physicians' knowledge, attitude, and behavior regarding fertility issues for young breast cancer patients: a national survey for breast care specialists. *Breast Cancer Tokyo Jpn*. 2013 Jul;20(3):230–40.
43. Quinn GP, Knapp CA, Malo TL, McIntyre J, Jacobsen PB, Vadaparampil ST. Physicians' undecided attitudes toward posthumous reproduction: fertility preservation in cancer patients with a poor prognosis. *J Support Oncol*. 2012 Aug;10(4):160–5.
44. Armuand GM, Rodriguez-Wallberg KA, Wettergren L, Ahlgren J, Enblad G, Höglund M, et al. Sex differences in fertility-related information received by young adult cancer survivors. *J Clin Oncol*. 2012 Jun

10;30(17):2147–53.

45. Yeomanson DJ, Morgan S, Pacey AA. Discussing fertility preservation at the time of cancer diagnosis: dissatisfaction of young females. *Pediatr Blood Cancer*. 2013 Dec;60(12):1996–2000.
46. 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 Sep;32(9):913–8.
47. Barton SE, Najita JS, Ginsburg ES, Leisenring WM, Stovall M, Weathers RE, et al. Infertility, infertility treatment, and achievement of pregnancy in female survivors of childhood cancer: a report from the Childhood Cancer Survivor Study cohort. *Lancet Oncol*. 2013 Aug;14(9):873–81.
48. Rosner F. Medical research in children: ethical issues. *Cancer Invest*. 2006 Mar;24(2):218–20.
49. Burns JP. Research in children. *Crit Care Med*. 2003 Mar;31(3 Suppl):S131–136.
50. Klapouszczak D, Bertozzi-Salamon AI, Grandjean H, Arnaud C. [Fertility preservation in adolescent cancer patients]. *Bull Cancer (Paris)*. 2007 Jul;94(7):636–46.
51. Poirot C, Schubert B. [Fertility preservation in prepubertal children]. *Bull Cancer (Paris)*. 2011 May;98(5):489–99.
52. Bahadur G. Ethics of testicular stem cell medicine. *Hum Reprod*. 2004 Dec;19(12):2702–10.
53. Grundy R, Gosden RG, Hewitt M, Larcher V, Leiper A, Spoudeas HA, et al. Fertility preservation for children treated for cancer (1): scientific advances and research dilemmas. *Arch Dis Child*. 2001 Apr;84(4):355–9.
54. Jahnukainen K, Stukenborg J-B. Clinical review: Present and future prospects of male fertility preservation for children and adolescents. *J Clin Endocrinol Metab*. 2012 Dec;97(12):4341–51.
55. Vadaparampil S, Quinn G, King L, Wilson C, Nieder M. Barriers to fertility preservation among pediatric oncologists. *Patient Educ Couns*. 2008 Sep;72(3):402–10.
56. Overbeek A, van den Berg M, Louwé L, Wendel E, ter Kuile M, Kaspers G, et al. Practice, attitude and knowledge of Dutch paediatric oncologists regarding female fertility. *Neth J Med*. 2014 Jun;72(5):264–70.
57. de Lambert G, Poirot C, Guérin F, Brugières L, Martelli H. [Preservation of fertility in children with cancer]. *Bull Cancer (Paris)*. 2015 Mar 24;
58. Letourneau JM, Ebbel EE, Katz PP, Katz A, Ai WZ, Chien AJ, et al. Pretreatment fertility counseling and fertility preservation improve quality of life in reproductive age women with cancer. *Cancer*. 2012 Mar 15;118(6):1710–7.
59. Peate M, Meiser B, Friedlander M, Zorbas H, Rovelli S, Sansom-Daly U, 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 May 1;29(13):1670–7.
60. Levine J, Canada A, Stern CJ. Fertility preservation in adolescents and young adults with cancer. *J Clin Oncol*. 2010 Nov 10;28(32):4831–41.
61. Trost LW, Brannigan RE. Oncofertility and the male cancer patient. *Curr Treat Options Oncol*. 2012 Jun;13(2):146–60.
62. Niemasik EE, Letourneau J, Dohan D, Katz A, Melisko M, Rugo H, et al. Patient perceptions of reproductive health counseling at the time of cancer diagnosis: a qualitative study of female California cancer survivors. *J Cancer Surviv Res Pract*. 2012 Sep;6(3):324–32.
63. de Pedro M, Otero B, Martín B. Fertility preservation and breast cancer: a review. *Ecancermedalscience*. 2015;9:503.
64. Mahajan N. Fertility preservation in female cancer patients: An overview. *J Hum Reprod Sci*. 2015 Mar;8(1):3–13.
65. Comtet M, Sonigo C, Valdelièvre C, Sermondade N, Sifer C, Grynberg M. [Fertility preservation in breast cancer patients: The state of art in 2014?]. *Bull Cancer (Paris)*. 2015 Mar 1;
66. Hill KA, Nadler T, Mandel R, Burlein-Hall S, Librach C, Glass K, et al. Experience of young women diagnosed with breast cancer who undergo fertility preservation consultation. *Clin Breast Cancer*. 2012 Apr;12(2):127–32.
67. Letourneau JM, Smith JF, Ebbel EE, Craig A, Katz PP, Cedars MI, et al. Racial, socioeconomic, and demographic disparities in access to fertility preservation in young women diagnosed with cancer. *Cancer*.

2012 Sep 15;118(18):4579–88.

68. González C, Boada M, Devesa M, Veiga A. Concise review: fertility preservation: an update. *Stem Cells Transl Med.* 2012 Sep;1(9):668–72.
69. Garvelink MM, Ter Kuile MM, Louwé LA, Hilders CGJM, Stiggelbout AM. A Delphi consensus study among patients and clinicians in the Netherlands on the procedure of informing young breast cancer patients about Fertility Preservation. *Acta Oncol.* 2012 Nov;51(8):1062–9.
70. Robinson RD, Knudtson JF. Fertility preservation in patients receiving chemotherapy or radiotherapy. *Mo Med.* 2014 Oct;111(5):434–8.
71. 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 Feb;97(2):381–6.
72. Hudson MM. Reproductive outcomes for survivors of childhood cancer. *Obstet Gynecol.* 2010 Nov;116(5):1171–83.
73. van der Kaaij MAE, Heutte N, Meijnders P, Abeilard-Lemoisson E, Spina M, Moser LC, et al. Parenthood in survivors of Hodgkin lymphoma: an EORTC-GELA general population case-control study. *J Clin Oncol.* 2012 Nov 1;30(31):3854–63.
74. Kobayashi H, Larson K, Sharma RK, Nelson DR, Evenson DP, Toma H, et al. DNA damage in patients with untreated cancer as measured by the sperm chromatin structure assay. *Fertil Steril.* 2001 Mar;75(3):469–75.
75. O'Donovan M. An evaluation of chromatin condensation and DNA integrity in the spermatozoa of men with cancer before and after therapy. *Andrologia.* 2005 Jun;37(2–3):83–90.
76. van der Kaaij MAE, Heutte N, van Echten-Arends J, Raemaekers JMM, Carde P, Noordijk EM, et al. Sperm quality before treatment in patients with early stage Hodgkin's lymphoma enrolled in EORTC-GELA Lymphoma Group trials. *Haematologica.* 2009 Dec;94(12):1691–7.
77. Arnon J, Meirow D, Lewis-Roness H, Ornoy A. Genetic and teratogenic effects of cancer treatments on gametes and embryos. *Hum Reprod Update.* 2001 Aug;7(4):394–403.
78. Frias S, Van Hummelen P, Meistrich ML, Lowe XR, Hagemeister FB, Shelby MD, 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 Jan 1;63(1):44–51.
79. Kamiguchi Y, Tateno H. Radiation- and chemical-induced structural chromosome aberrations in human spermatozoa. *Mutat Res.* 2002 Jul 25;504(1–2):183–91.
80. Tempest HG, Ko E, Chan P, Robaire B, Rademaker A, Martin RH. Sperm aneuploidy frequencies analysed before and after chemotherapy in testicular cancer and Hodgkin's lymphoma patients. *Hum Reprod.* 2008 Feb;23(2):251–8.
81. Thomson AB, Campbell AJ, Irvine DC, Anderson RA, Kelnar CJH, Wallace WHB. Semen quality and spermatozoal DNA integrity in survivors of childhood cancer: a case-control study. *Lancet.* 2002 Aug 3;360(9330):361–7.
82. Boyle KE, Vlahos N, Jarow JP. Assisted reproductive technology in the new millennium: part II. *Urology.* 2004 Feb;63(2):217–24.
83. Hansen M, Kurinczuk JJ, Bower C, Webb S. The risk of major birth defects after intracytoplasmic sperm injection and in vitro fertilization. *N Engl J Med.* 2002 Mar 7;346(10):725–30.
84. Olson CK, Keppler-Noreuil KM, Romitti PA, Budelier WT, Ryan G, Sparks AET, et al. In vitro fertilization is associated with an increase in major birth defects. *Fertil Steril.* 2005 Nov;84(5):1308–15.
85. Leunens L, Celestin-Westreich S, Bonduelle M, Liebaers I, Ponjaert-Kristoffersen I. Follow-up of cognitive and motor development of 10-year-old singleton children born after ICSI compared with spontaneously conceived children. *Hum Reprod.* 2008 Jan;23(1):105–11.
86. Ponjaert-Kristoffersen I, Bonduelle M, Barnes J, Nekkebroeck J, Loft A, Wennerholm U-B, 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 Mar;115(3):e283–289.
87. Howell S, Shalet S. Gonadal damage from chemotherapy and radiotherapy. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 1998 Dec;27(4):927–43.

88. Gelber S, Coates AS, Goldhirsch A, Castiglione-Gertsch M, Marini G, Lindtner J, et al. Effect of pregnancy on overall survival after the diagnosis of early-stage breast cancer. *J Clin Oncol*. 2001 Mar 15;19(6):1671–5.
89. Blakely LJ, Buzdar AU, Lozada JA, Shullaih SA, Hoy E, Smith TL, et al. Effects of pregnancy after treatment for breast carcinoma on survival and risk of recurrence. *Cancer*. 2004 Feb 1;100(3):465–9.
90. Lawrenz B, Henes M, Neunhoeffler E, Fehm T, Huebner S, Kanz L, et al. Pregnancy after successful cancer treatment: what needs to be considered? *Onkologie*. 2012;35(3):128–32.
91. Córdoba O, Bellet M, Vidal X, Cortés J, Llurba E, Rubio IT, et al. Pregnancy after treatment of breast cancer in young women does not adversely affect the prognosis. *Breast*. 2012 Jun;21(3):272–5.
92. Langagergaard V, Gislum M, Skriver MV, Nørgård B, Lash TL, Rothman KJ, et al. Birth outcome in women with breast cancer. *Br J Cancer*. 2006 Jan 16;94(1):142–6.
93. 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 Sep;3(9):e336.
94. Winther JF, Olsen JH, Wu H, Shyr Y, Mulvihill JJ, Stovall M, et al. Genetic disease in the children of Danish survivors of childhood and adolescent cancer. *J Clin Oncol*. 2012 Jan 1;30(1):27–33.
95. Li CI, Daling JR, Malone KE. Incidence of invasive breast cancer by hormone receptor status from 1992 to 1998. *J Clin Oncol*. 2003 Jan 1;21(1):28–34.
96. Azim HA Jr, Santoro L, Pavlidis N, Gelber S, Kroman N, Azim H, et al. Safety of pregnancy following breast cancer diagnosis: a meta-analysis of 14 studies. *Eur J Cancer*. 2011 Jan;47(1):74–83.
97. Azim HA Jr, Kroman N, Paesmans M, Gelber S, Rotmensz N, Ameye L, et al. Prognostic impact of pregnancy after breast cancer according to estrogen receptor status: a multicenter retrospective study. *J Clin Oncol*. 2013 Jan 1;31(1):73–9.
98. Lambertini M, Del Mastro L, Pescio MC, Andersen CY, Azim HA, Peccatori FA, et al. Cancer and fertility preservation: international recommendations from an expert meeting. *BMC Med*. 2016;14(1):1.
99. Litton JK. Breast cancer and fertility. *Curr Treat Options Oncol*. 2012 Jun;13(2):137–45.
100. Lawrenz B, Banys M, Henes M, Neunhoeffler E, Grischke E-M, Fehm T. Pregnancy after breast cancer: case report and review of the literature. *Arch Gynecol Obstet*. 2011 Apr;283(4):837–43.
101. Pagani O, Ruggeri M, Manunta S, Saunders C, Peccatori F, Cardoso F, et al. Pregnancy after breast cancer: Are young patients willing to participate in clinical studies? *Breast*. 2015 Jun;24(3):201–7.
102. Del Mastro L, Catzeddu T, Venturini M. Infertility and pregnancy after breast cancer: current knowledge and future perspectives. *Cancer Treat Rev*. 2006 Oct;32(6):417–22.
103. Ives A, Saunders C, Bulsara M, Semmens J. Pregnancy after breast cancer: population based study. *BMJ*. 2007 Jan 27;334(7586):194.
104. Mueller BA, Simon MS, Deapen D, Kamineni A, Malone KE, Daling JR. Childbearing and survival after breast carcinoma in young women. *Cancer*. 2003 Sep 15;98(6):1131–40.
105. Cvancarova M, Samuelsen SO, Magelssen H, Fosså SD. Reproduction rates after cancer treatment: experience from the Norwegian radium hospital. *J Clin Oncol*. 2009 Jan 20;27(3):334–43.
106. 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 May;125(2):477–82.
107. Fortin A, Morice P, Thoury A, Camatte S, Dhainaut C, Madelenat P. Impact of infertility drugs after treatment of borderline ovarian tumors: results of a retrospective multicenter study. *Fertil Steril*. 2007 Mar;87(3):591–6.
108. Anderson RA, Rosendahl M, Kelsey TW, Cameron DA. Pretreatment anti-Müllerian hormone predicts for loss of ovarian function after chemotherapy for early breast cancer. *Eur J Cancer*. 2013 Nov;49(16):3404–11.
109. 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 Jun;170(6):703–8.
110. Burstein HJ, Winer EP. Primary care for survivors of breast cancer. *N Engl J Med*. 2000 Oct 12;343(15):1086–94.
111. Goodwin PJ, Ennis M, Pritchard KI, Trudeau M, Hood N. Risk of menopause during the first year after breast cancer diagnosis. *J Clin Oncol*. 1999 Aug;17(8):2365–70.
112. Grigg A. The impact of conventional and high-dose therapy for lymphoma on fertility. *Clin*

Lymphoma. 2004 Sep;5(2):84–8.

113. Howell SJ, Shalet SM. Spermatogenesis after cancer treatment: damage and recovery. *J Natl Cancer Inst Monogr.* 2005;(34):12–7.

114. Wallace WHB, Anderson RA, Irvine DS. Fertility preservation for young patients with cancer: who is at risk and what can be offered? *Lancet Oncol.* 2005 Apr;6(4):209–18.

115. Green DM, Kawashima T, Stovall M, Leisenring W, Sklar CA, Mertens AC, et al. Fertility of female survivors of childhood cancer: a report from the childhood cancer survivor study. *J Clin Oncol.* 2009 Jun 1;27(16):2677–85.

116. Green DM, Kawashima T, Stovall M, Leisenring W, Sklar CA, Mertens AC, et al. Fertility of male survivors of childhood cancer: a report from the Childhood Cancer Survivor Study. *J Clin Oncol.* 2010 Jan 10;28(2):332–9.

117. Meirow D, Biederman H, Anderson RA, Wallace WHB. Toxicity of chemotherapy and radiation on female reproduction. *Clin Obstet Gynecol.* 2010 Dec;53(4):727–39.

118. Yarbrow CH, Perry MC. The effect of cancer therapy on gonadal function. *Semin Oncol Nurs.* 1985 Feb;1(1):3–8.

119. Fisher B, Dignam J, Mamounas EP, Costantino JP, Wickerham DL, Redmond C, et al. Sequential methotrexate and fluorouracil for the treatment of node-negative breast cancer patients with estrogen receptor-negative tumors: eight-year 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 Jul;14(7):1982–92.

120. Longhi A, Macchiagodena M, Vitali G, Bacci G. Fertility in male patients treated with neoadjuvant chemotherapy for osteosarcoma. *J Pediatr Hematol Oncol.* 2003 Apr;25(4):292–6.

121. Hoshi M, Takami M, Ieguchi M, Aono M, Takada J, Oebisu N, et al. Fertility following treatment of high-grade malignant bone and soft tissue tumors in young adults. *Mol Clin Oncol.* 2015 Mar;3(2):367–74.

122. Simon B, Lee SJ, Partridge AH, Runowicz CD. Preserving fertility after cancer. *CA Cancer J Clin.* 2005 Aug;55(4):211–228; quiz 263–264.

123. Fournier MN, Modi S, Panageas KS, Norton L, Hudis C. Incidence of chemotherapy-induced, long-term amenorrhea in patients with breast carcinoma age 40 years and younger after adjuvant anthracycline and taxane. *Cancer.* 2005 Oct 15;104(8):1575–9.

124. Okanami Y, Ito Y, Watanabe C, Iijima K, Iwase T, Tokudome N, et al. Incidence of chemotherapy-induced amenorrhea in premenopausal patients with breast cancer following adjuvant anthracycline and taxane. *Breast Cancer Tokyo Jpn.* 2011 Jul;18(3):182–8.

125. Behringer K, Thielen I, Mueller H, Goergen H, Eibl AD, Rosenbrock J, 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 Jul;23(7):1818–25.

126. van der Kaaij MAE, Heutte N, Meijnders P, Abeillard-Lemoisson E, Spina M, Moser EC, 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 Jan 20;30(3):291–9.

127. Kiserud CE, Fosså A, Bjørø T, Holte H, Cvancarova M, Fosså SD. Gonadal function in male patients after treatment for malignant lymphomas, with emphasis on chemotherapy. *Br J Cancer.* 2009 Feb 10;100(3):455–63.

128. Behringer K, Mueller H, Goergen H, Thielen I, Eibl AD, Stumpf V, et al. Gonadal function and fertility in survivors after Hodgkin lymphoma treatment within the German Hodgkin Study Group HD13 to HD15 trials. *J Clin Oncol.* 2013 Jan 10;31(2):231–9.

129. Falorio S, Biasoli I, Luminari S, Quintana G, Musso M, Dell'olio M, et al. Risk factors for impaired gonadal function in female Hodgkin lymphoma survivors: final analysis of a retrospective multicenter joint study from Italian and Brazilian Institutions. *Hematol Oncol.* 2013 Jun;31(2):72–8.

130. Chaudhary UB, Haldas JR. Long-term complications of chemotherapy for germ cell tumours. *Drugs.* 2003;63(15):1565–77.

131. DeSantis M, Albrecht W, Hörtl W, Pont J. Impact of cytotoxic treatment on long-term fertility in patients with germ-cell cancer. *Int J Cancer.* 1999 Dec 10;83(6):864–5.

132. Bines J, Oleske DM, Cobleigh MA. Ovarian function in premenopausal women treated with

- adjuvant chemotherapy for breast cancer. *J Clin Oncol*. 1996 May;14(5):1718–29.
133. Lee S, Kil WJ, Chun M, Jung Y-S, Kang SY, Kang S-H, et al. Chemotherapy-related amenorrhea in premenopausal women with breast cancer. *Menopause N Y N*. 2009 Feb;16(1):98–103.
134. Jonat W, Kaufmann M, Sauerbrei W, Blamey R, Cuzick J, Namer M, 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 Dec 15;20(24):4628–35.
135. Gandini L, Sgrò P, Lombardo F, Paoli D, Culasso F, Toselli L, et al. Effect of chemo- or radiotherapy on sperm parameters of testicular cancer patients. *Hum Reprod*. 2006 Nov;21(11):2882–9.
136. Soloway CT, Soloway MS, Kim SS, Kava BR. Sexual, psychological and dyadic qualities of the prostate cancer “couple.” *BJU Int*. 2005 Apr;95(6):780–5.
137. Felicetti F, Manicone R, Corrias A, Manieri C, Biasin E, Bini I, 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 Sep;137(9):1343–8.
138. Borgmann-Staudt A, Rendtorff R, Reinmuth S, Hohmann C, Keil T, Schuster FR, et al. Fertility after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation in childhood and adolescence. *Bone Marrow Transplant*. 2012 Feb;47(2):271–6.
139. Socié G, Salooja N, Cohen A, Rovelli A, Carreras E, Locasciulli A, et al. Nonmalignant late effects after allogeneic stem cell transplantation. *Blood*. 2003 May 1;101(9):3373–85.
140. Gradishar WJ, Schilsky RL. Effects of cancer treatment on the reproductive system. *Crit Rev Oncol Hematol*. 1988;8(2):153–71.
141. Donnez J, Bassil S. Indications for cryopreservation of ovarian tissue. *Hum Reprod Update*. 1998 Jun;4(3):248–59.
142. Fleischer RT, Vollenhoven BJ, Weston GC. The effects of chemotherapy and radiotherapy on fertility in premenopausal women. *Obstet Gynecol Surv*. 2011 Apr;66(4):248–54.
143. Nakagawa K, Kanda Y, Yamashita H, Hosoi Y, Oshima K, Ohtomo K, 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 Mar;37(6):583–7.
144. Wallace WHB, Thomson AB, Kelsey TW. The radiosensitivity of the human oocyte. *Hum Reprod*. 2003 Jan;18(1):117–21.
145. Wallace WHB, Thomson AB, Saran F, Kelsey TW. Predicting age of ovarian failure after radiation to a field that includes the ovaries. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2005 Jul 1;62(3):738–44.
146. Loren AW, Chow E, Jacobsohn DA, Gilleece M, Halter J, Joshi S, 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 Feb;17(2):157–66.
147. Sudour H, Chastagner P, Claude L, Desandes E, Klein M, Carrie C, 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 Mar 1;76(3):867–73.
148. Wallace WH, Shalet SM, Crowne EC, Morris-Jones PH, Gattamaneni HR. Ovarian failure following abdominal irradiation in childhood: natural history and prognosis. *Clin Oncol R Coll Radiol G B*. 1989 Nov;1(2):75–9.
149. Green DM, Nolan VG, Kawashima T, Stovall M, Donaldson SS, Srivastava D, 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 May;95(6):1922–1927, 1927.e1.
150. Letourneau JM, Ebbel EE, Katz PP, Oktay KH, McCulloch CE, Ai WZ, et al. Acute ovarian failure underestimates age-specific reproductive impairment for young women undergoing chemotherapy for cancer. *Cancer*. 2012 Apr 1;118(7):1933–9.
151. Lobo RA. Potential options for preservation of fertility in women. *N Engl J Med*. 2005 Jul 7;353(1):64–73.
152. Brougham MFH, Crofton PM, Johnson EJ, Evans N, Anderson RA, Wallace WHB. Anti-Müllerian hormone is a marker of gonadotoxicity in pre- and postpubertal girls treated for cancer: a prospective study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2012 Jun;97(6):2059–67.

153. Bozza C, Puglisi F, Lambertini M, Osa E-O, Manno M, Del Mastro L. Anti-Mullerian Hormone: determination of ovarian reserve in early breast cancer patients. *Endocr Relat Cancer*. 2014; 21(1):R51-65.
154. La Marca A, Broekmans FJ, Volpe A, Fauser BC, Macklon NS, ESHRE Special Interest Group for Reproductive Endocrinology--AMH Round Table. Anti-Mullerian hormone (AMH): what do we still need to know? *Hum Reprod*. 2009 Sep;24(9):2264-75.
155. Tournaye H, Dohle GR, Barratt CLR. Fertility preservation in men with cancer. *Lancet*. 2014 Oct 4;384(9950):1295-301.
156. Williams DH. Sperm banking and the cancer patient. *Ther Adv Urol*. 2010 Feb;2(1):19-34.
157. Lass A, Akagbosu F, Abusheikha N, Hassouneh M, Blayney M, Avery S, 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 Nov;13(11):3256-61.
158. Williams DH 4th, Karpman E, Sander JC, Spiess PE, Pisters LL, Lipshultz LI. Pretreatment semen parameters in men with cancer. *J Urol*. 2009 Feb;181(2):736-40.
159. Ragni G, Somigliana E, Restelli L, Salvi R, Arnoldi M, Paffoni A. Sperm banking and rate of assisted reproduction treatment: insights from a 15-year cryopreservation program for male cancer patients. *Cancer*. 2003 Apr 1;97(7):1624-9.
160. 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):31-5.
161. De Mas P, Daudin M, Vincent MC, Bourrouillou G, Calvas P, Mieuxset R, et al. Increased aneuploidy in spermatozoa from testicular tumour patients after chemotherapy with cisplatin, etoposide and bleomycin. *Hum Reprod*. 2001 Jun;16(6):1204-8.
162. Robbins WA, Meistrich ML, Moore D, Hagemeister FB, Weier HU, Cassel MJ, et al. Chemotherapy induces transient sex chromosomal and autosomal aneuploidy in human sperm. *Nat Genet*. 1997 May;16(1):74-8.
163. Schrader M, Müller M, Sofikitis N, Straub B, Krause H, Miller K. "Onco-tese": testicular sperm extraction in azoospermic cancer patients before chemotherapy-new guidelines? *Urology*. 2003 Feb;61(2):421-5.
164. Ferrari S, Paffoni A, Filippi F, Busnelli A, Vegetti W, Somigliana E. Sperm cryopreservation and reproductive outcome in male cancer patients: a systematic review. *Reprod Biomed Online*. 2016 Jul;33(1):29-38.
165. Feldschuh J, Brassel J, Durso N, Levine A. Successful sperm storage for 28 years. *Fertil Steril*. 2005 Oct;84(4):1017.
166. Kelleher S, Wishart SM, Liu PY, Turner L, Di Pierro I, Conway AJ, et al. Long-term outcomes of elective human sperm cryostorage. *Hum Reprod*. 2001 Dec;16(12):2632-9.
167. Schmidt KLT, Larsen E, Bangsbøll S, Meinertz H, Carlsen E, Andersen AN. Assisted reproduction in male cancer survivors: fertility treatment and outcome in 67 couples. *Hum Reprod*. 2004 Dec;19(12):2806-10.
168. Agarwal A, Ranganathan P, Kattal N, Pasqualotto F, Hallak J, Khayal S, et al. Fertility after cancer: a prospective review of assisted reproductive outcome with banked semen specimens. *Fertil Steril*. 2004 Feb;81(2):342-8.
169. Hourvitz A, Goldschlag DE, Davis OK, Gosden LV, Palermo GD, Rosenwaks Z. Intracytoplasmic sperm injection (ICSI) using cryopreserved sperm from men with malignant neoplasm yields high pregnancy rates. *Fertil Steril*. 2008 Sep;90(3):557-63.
170. van Casteren NJ, van Santbrink EJP, van Inzen W, Romijn JC, Dohle GR. Use rate and assisted reproduction technologies outcome of cryopreserved semen from 629 cancer patients. *Fertil Steril*. 2008 Dec;90(6):2245-50.
171. 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*. 2012 Dec;17(6):598-603.
172. Bizet P, Saias-Magnan J, Jouve E, Grillo JM, Karsenty G, Metzler-Guillemain C, et al. Sperm cryopreservation before cancer treatment: a 15-year monocentric experience. *Reprod Biomed Online*. 2012 Mar;24(3):321-30.
173. Revel A, Haimov-Kochman R, Porat A, Lewin A, Simon A, Laufer N, et al. In vitro fertilization-intracytoplasmic sperm injection success rates with cryopreserved sperm from patients with malignant

- disease. *Fertil Steril*. 2005 Jul;84(1):118–22.
174. Meseguer M, Molina N, García-Velasco JA, Remohí J, Pellicer A, Garrido N. Sperm cryopreservation in oncological patients: a 14-year follow-up study. *Fertil Steril*. 2006 Mar;85(3):640–5.
175. Crha I, Ventruba P, Zakova J, Huser M, Kubesova B, Hudecek R, et al. Survival and infertility treatment in male cancer patients after sperm banking. *Fertil Steril*. 2009 Jun;91(6):2344–8.
176. Botchan A, Karpol S, Lehavi O, Paz G, Kleiman SE, Yogev L, et al. Preservation of sperm of cancer patients: extent of use and pregnancy outcome in a tertiary infertility center. *Asian J Androl*. 2013 May;15(3):382–6.
177. García A, Herrero MB, Holzer H, Tulandi T, Chan P. Assisted reproductive outcomes of male cancer survivors. *J Cancer Surviv Res Pract*. 2015 Jun;9(2):208–14.
178. Dearing C, Breen D, Bradshaw A, Ramsay J, Lindsay K. Trends and usage in a London National Health Service Sperm Bank for cancer patients. *Hum Fertil*. 2014 Dec;17(4):289–96.
179. Daudin M, Rives N, Walschaerts M, Drouineaud V, Szerman E, Koscinski I, et al. Sperm cryopreservation in adolescents and young adults with cancer: results of the French national sperm banking network (CECOS). *Fertil Steril*. 2015 Feb;103(2):478–486.e1.
180. Berookhim BM, Mulhall JP. Outcomes of operative sperm retrieval strategies for fertility preservation among males scheduled to undergo cancer treatment. *Fertil Steril*. 2014 Mar;101(3):805–11.
181. Johnson DH, Linde R, Hainsworth JD, Vale W, Rivier J, Stein R, 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 Apr;65(4):832–6.
182. Waxman JH, Ahmed R, Smith D, Wrigley PF, Gregory W, Shalet S, et al. Failure to preserve fertility in patients with Hodgkin's disease. *Cancer Chemother Pharmacol*. 1987;19(2):159–62.
183. Brennemann W, Brensing KA, Leipner N, Boldt I, Klingmüller D. Attempted protection of spermatogenesis from irradiation in patients with seminoma by D-Tryptophan-6 luteinizing hormone releasing hormone. *Clin Investig*. 1994 Nov;72(11):838–42.
184. Kreuser ED, Hetzel WD, Hautmann R, Pfeiffer EF. Reproductive toxicity with and without LHRHA administration during adjuvant chemotherapy in patients with germ cell tumors. *Horm Metab Res*. 1990 Sep;22(9):494–8.
185. Thomson AB, Anderson RA, Irvine DS, Kelnar CJH, Sharpe RM, Wallace WHB. Investigation of suppression of the hypothalamic-pituitary-gonadal axis to restore spermatogenesis in azoospermic men treated for childhood cancer. *Hum Reprod*. 2002 Jul;17(7):1715–23.
186. Masala A, Faedda R, Alagna S, Satta A, Chiarelli G, Rovasio PP, et al. Use of testosterone to prevent cyclophosphamide-induced azoospermia. *Ann Intern Med*. 1997 Feb 15;126(4):292–5.
187. Goossens E, Van Saen D, Tournaye H. Spermatogonial stem cell preservation and transplantation: from research to clinic. *Hum Reprod Oxf Engl*. 2013 Apr;28(4):897–907.
188. Nagano M, Patrizio P, Brinster RL. Long-term survival of human spermatogonial stem cells in mouse testes. *Fertil Steril*. 2002 Dec;78(6):1225–33.
189. Schlatt S, Honaramooz A, Ehmcke J, Goebell PJ, Rübber H, Dhir R, et al. Limited survival of adult human testicular tissue as ectopic xenograft. *Hum Reprod*. 2006 Feb;21(2):384–9.
190. Demeestere I, Moffa F, Peccatori F, Poirot C, Shalom-Paz E. Multiple approaches for individualized fertility protective therapy in cancer patients. *Obstet Gynecol Int*. 2012;2012:961232.
191. Kim C-H, Jeon G-H. Fertility preservation in female cancer patients. *ISRN Obstet Gynecol*. 2012;2012:807302.
192. Morris SN, Ryley D. Fertility preservation: nonsurgical and surgical options. *Semin Reprod Med*. 2011 Mar;29(2):147–54.
193. von Wolff M, Montag M, Dittrich R, Denschlag D, Nawroth F, Lawrenz B. 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 Aug;284(2):427–35.
194. Covens AL, van der Putten HW, Fyles AW, Leung PM, O'Brien PF, Murphy KJ, et al. Laparoscopic ovarian transposition. *Eur J Gynaecol Oncol*. 1996;17(3):177–82.
195. Visvanathan DK, Cutner AS, Cassoni AM, Gaze M, Davies MC. A new technique of laparoscopic ovariopexy before irradiation. *Fertil Steril*. 2003 May;79(5):1204–6.

196. Perri T, Ben-Baruch G, Davidson T, Beiner ME, Helpman L, Hogen L, et al. Use of titanium spiral tacks for long-term oophoropexy before pelvic irradiation. *Int J Gynecol Cancer*. 2014 Jul;24(6):1133–6.
197. Hwang JH, Yoo HJ, Park SH, Lim MC, Seo S-S, Kang S, et al. Association between the location of transposed ovary and ovarian function in patients with uterine cervical cancer treated with (postoperative or primary) pelvic radiotherapy. *Fertil Steril*. 2012 Jun;97(6):1387-1393.e1-2.
198. Moawad NS, Santamaria E, Rhoton-Vlasak A, Lightsey JL. Laparoscopic Ovarian Transposition Before Pelvic Cancer Treatment: Ovarian Function and Fertility Preservation. *J Minim Invasive Gynecol*. 2017 Jan 1;24(1):28–35.
199. 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 Jan;87(1):189.e5-7.
200. Williams RS, Littell RD, Mendenhall NP. Laparoscopic oophoropexy and ovarian function in the treatment of Hodgkin disease. *Cancer*. 1999 Nov 15;86(10):2138–42.
201. Haie-Meder C, Mlika-Cabanne N, Michel G, Briot E, Gerbault A, Lhomme C, et al. Radiotherapy after ovarian transposition: ovarian function and fertility preservation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 1993 Feb 15;25(3):419–24.
202. Terenziani M, Piva L, Meazza C, Gandola L, Cefalo G, Merola M. Oophoropexy: a relevant role in preservation of ovarian function after pelvic irradiation. *Fertil Steril*. 2009 Mar;91(3):935.e15-16.
203. Irtan S, Orbach D, Helfre S, Sarnacki S. Ovarian transposition in prepubescent and adolescent girls with cancer. *Lancet Oncol*. 2013 Dec;14(13):e601-608.
204. Mossa B, Schimberni M, Di Benedetto L, Mossa S. Ovarian transposition in young women and fertility sparing. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2015 Sep;19(18):3418–25.
205. Bisharah M, Tulandi T. Laparoscopic preservation of ovarian function: an underused procedure. *Am J Obstet Gynecol*. 2003 Feb;188(2):367–70.
206. Gubbala K, Laios A, Gallos I, Pathiraja P, Haldar K, Ind T. Outcomes of ovarian transposition in gynaecological cancers; a systematic review and meta-analysis. *J Ovarian Res*. 2014;7:69.
207. Donnez J, Dolmans M-M. Cryopreservation and transplantation of ovarian tissue. *Clin Obstet Gynecol*. 2010 Dec;53(4):787–96.
208. 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 Apr;87(4):1907–8.
209. Oktay K, Karlikaya G. Ovarian function after transplantation of frozen, banked autologous ovarian tissue. *N Engl J Med*. 2000 Jun 22;342(25):1919.
210. Jensen AK, Macklon KT, Fedder J, Ernst E, Humaidan P, Andersen CY. 86 successful births and 9 ongoing pregnancies worldwide in women transplanted with frozen-thawed ovarian tissue: focus on birth and perinatal outcome in 40 of these children. *J Assist Reprod Genet*. 2017 Mar;34(3):325–36.
211. Revelli A, Marchino G, Dolfin E, Molinari E, Delle Piane L, Salvagno F, et al. Live birth after orthotopic grafting of autologous cryopreserved ovarian tissue and spontaneous conception in Italy. *Fertil Steril*. 2013 Jan;99(1):227–30.
212. Meirow D, Hardan I, Dor J, Fridman E, Elizur S, Ra'anani H, et al. Searching for evidence of disease and malignant cell contamination in ovarian tissue stored from hematologic cancer patients. *Hum Reprod*. 2008 May;23(5):1007–13.
213. Dolmans M-M, Jadoul P, Gilliaux S, Amorim CA, Luyckx V, Squifflet J, et al. A review of 15 years of ovarian tissue bank activities. *J Assist Reprod Genet*. 2013 Mar;30(3):305–14.
214. Sánchez-Serrano M, Novella-Maestre E, Roselló-Sastre E, Camarasa N, Teruel J, Pellicer A. Malignant cells are not found in ovarian cortex from breast cancer patients undergoing ovarian cortex cryopreservation. *Hum Reprod*. 2009 Sep;24(9):2238–43.
215. Azem F, Hasson J, Ben-Yosef D, Kossoy N, Cohen T, Almog B, et al. Histologic evaluation of fresh human ovarian tissue before cryopreservation. *Int J Gynecol Pathol*. 2010 Jan;29(1):19–23.
216. Rosendahl M, Timmermans Wielenga V, Nedergaard L, Kristensen SG, Ernst E, Rasmussen PE, 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 May;95(6):2158–61.
217. Bastings L, Beerendonk CCM, Westphal JR, Massuger LFAG, Kaal SEJ, van Leeuwen FE, et al. Autotransplantation of cryopreserved ovarian tissue in cancer survivors and the risk of reintroducing

- malignancy: a systematic review. *Hum Reprod Update*. 2013 Oct;19(5):483–506.
218. Hoekman EJ, Smit VTHBM, Fleming TP, Louwe LA, Fleuren GJ, Hilders CGJM. Searching for metastases in ovarian tissue before autotransplantation: a tailor-made approach. *Fertil Steril*. 2015 Feb;103(2):469–77.
219. Dittrich R, Lotz L, Keck G, Hoffmann I, Mueller A, Beckmann MW, et al. Live birth after ovarian tissue autotransplantation following overnight transportation before cryopreservation. *Fertil Steril*. 2012 Feb;97(2):387–90.
220. Telfer EE, Zelinski MB. Ovarian follicle culture: advances and challenges for human and nonhuman primates. *Fertil Steril*. 2013 May;99(6):1523–33.
221. Yin H, Jiang H, Kristensen SG, Andersen CY. Vitrification of in vitro matured oocytes collected from surplus ovarian medulla tissue resulting from fertility preservation of ovarian cortex tissue. *J Assist Reprod Genet*. 2016 Jun;33(6):741–6.
222. Donnez J, Dolmans M-M, Pellicer A, Diaz-Garcia C, Sanchez Serrano M, Schmidt KT, et al. Restoration of ovarian activity and pregnancy after transplantation of cryopreserved ovarian tissue: a review of 60 cases of reimplantation. *Fertil Steril*. 2013 May;99(6):1503–13.
223. Meirow D, Ra'anani H, Shapira M, Brenghausen M, Derech Chaim S, Aviel-Ronen S, et al. Transplantations of frozen thawed ovarian tissue demonstrate high reproductive performance and the need to revise restrictive criteria. *Fertil Steril*. 2016 May 12;
224. Practice Committees of American Society for Reproductive Medicine, Society for Assisted Reproductive Technology. Mature oocyte cryopreservation: a guideline. *Fertil Steril*. 2013 Jan;99(1):37–43.
225. Revelli A, Molinari E, Salvagno F, Delle Piane L, Dolfen E, Ochetti S. Oocyte cryostorage to preserve fertility in oncological patients. *Obstet Gynecol Int*. 2012;2012:525896.
226. Noyes N, Knopman JM, Melzer K, Fino ME, Friedman B, Westphal LM. Oocyte cryopreservation as a fertility preservation measure for cancer patients. *Reprod Biomed Online*. 2011 Sep;23(3):323–33.
227. Cakmak H, Katz A, Cedars MI, Rosen MP. Effective method for emergency fertility preservation: random-start controlled ovarian stimulation. *Fertil Steril*. 2013 Dec;100(6):1673–80.
228. von Wolff M, Capp E, Jauckus J, Strowitzki T, Germeyer A, FertiPROTEKT study group. Timing of ovarian stimulation in patients prior to gonadotoxic therapy: an analysis of 684 stimulations. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2016 Apr;199:146–9.
229. Vaiarelli A, Venturella R, Vizziello D, Bulletti F, Ubaldi FM. Dual ovarian stimulation and random start in assisted reproductive technologies: from ovarian biology to clinical application. *Curr Opin Obstet Gynecol*. 2017 Jun;29(3):153–9.
230. 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 Jun 1;23(16):3858–9.
231. Oktay K, Buyuk E, Libertella N, Akar M, Rosenwaks Z. Fertility preservation in breast cancer patients: a prospective controlled comparison of ovarian stimulation with tamoxifen and letrozole for embryo cryopreservation. *J Clin Oncol*. 2005 Jul 1;23(19):4347–53.
232. Meirow D, Raanani H, Maman E, Paluch-Shimon S, Shapira M, Cohen Y, et al. Tamoxifen co-administration during controlled ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization in breast cancer patients increases the safety of fertility-preservation treatment strategies. *Fertil Steril*. 2014 Jun 13;
233. Revelli A, Porcu E, Levi Setti PE, Delle Piane L, Merlo DF, Anserini P. Is letrozole needed for controlled ovarian stimulation in patients with estrogen receptor-positive breast cancer? *Gynecol Endocrinol*. 2013 Nov;29(11):993–6.
234. Biljan MM, Hemmings R, Brassard N. The outcome of 150 babies following the treatment with letrozole or letrozole and gonadotropins. *Fertil Steril* 2005; 84 (suppl.1); O-231 (Abstract 1033).
235. Tulandi T, Martin J, Al-Fadhli R, Kabli N, Forman R, Hitkari J, et al. Congenital malformations among 911 newborns conceived after infertility treatment with letrozole or clomiphene citrate. *Fertil Steril*. 2006 Jun;85(6):1761–5.
236. Fatum M, McVeigh E, Child T. The case for aromatase inhibitors use in oncofertility patients. Should aromatase inhibitors be combined with gonadotropin treatment in breast cancer patients undergoing ovarian stimulation for fertility preservation prior to chemotherapy? A debate. *Hum Fertil*. 2013 Dec;16(4):235–40.

237. Friedler S, Koc O, Gidoni Y, Raziell A, Ron-El R. Ovarian response to stimulation for fertility preservation in women with malignant disease: a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril*. 2012 Jan;97(1):125–33.
238. Das M, Shehata F, Moria A, Holzer H, Son W-Y, Tulandi T. Ovarian reserve, response to gonadotropins, and oocyte maturity in women with malignancy. *Fertil Steril*. 2011 Jul;96(1):122–5.
239. Almog B, Azem F, Gordon D, Pauzner D, Amit A, Barkan G, et al. Effects of cancer on ovarian response in controlled ovarian stimulation for fertility preservation. *Fertil Steril*. 2012 Oct;98(4):957–60.
240. Devesa M, Martínez F, Coroleu B, Rodríguez I, González C, Barri PN. Ovarian response to controlled ovarian hyperstimulation in women with cancer is as expected according to an age-specific nomogram. *J Assist Reprod Genet*. 2014 May;31(5):583–8.
241. Quinn MM, Cakmak H, Letourneau JM, Cedars MI, Rosen MP. Response to ovarian stimulation is not impacted by a breast cancer diagnosis. *Hum Reprod*. 2017 Mar 1;32(3):568–74.
242. Alvarez RM, Ramanathan P. Fertility preservation in female oncology patients: the influence of the type of cancer on ovarian stimulation response. *Hum Reprod*. 2016 Jul 1;
243. Phillips K-A, Collins IM, Milne RL, McLachlan SA, Friedlander M, Hickey M, et al. Anti-Müllerian hormone serum concentrations of women with germline BRCA1 or BRCA2 mutations. *Hum Reprod*. 2016 May;31(5):1126–32.
244. Johnson L, Sammel MD, Domchek S, Schanne A, Prewitt M, Gracia C. Antimüllerian hormone levels are lower in BRCA2 mutation carriers. *Fertil Steril*. 2017 May;107(5):1256–1265.e6.
245. Michaelson-Cohen R, Mor P, Srebnik N, Beller U, Levy-Lahad E, Eldar-Geva T. BRCA mutation carriers do not have compromised ovarian reserve. *Int J Gynecol Cancer*. 2014 Feb;24(2):233–7.
246. Rodriguez-Wallberg KA, Oktay K. Fertility preservation and pregnancy in women with and without BRCA mutation-positive breast cancer. *The Oncologist*. 2012;17(11):1409–17.
247. Shapira M, Raanani H, Feldman B, Srebnik N, Dereck-Haim S, Manela D, et al. BRCA mutation carriers show normal ovarian response in in vitro fertilization cycles. *Fertil Steril*. 2015 Nov;104(5):1162–7.
248. Justice HM, Counselman FL. Ovarian hyperstimulation syndrome: an important complication of in vitro fertilization. *Am J Emerg Med*. 2008 Jan;26(1):115.e3-4.
249. Humaidan P, Quartarolo J, Papanikolaou EG. Preventing ovarian hyperstimulation syndrome: guidance for the clinician. *Fertil Steril*. 2010 Jul;94(2):389–400.
250. 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 Jun;20(6):783–8.
251. Somigliana E, Peccatori FA, Filippi F, Martinelli F, Raspagliesi F, Martinelli I. Risk of thrombosis in women with malignancies undergoing ovarian stimulation for fertility preservation. *Hum Reprod Update*. 2014 Dec;20(6):944–51.
252. Rienzi L, Gracia C, Maggiulli R, LaBarbera AR, Kaser DJ, Ubaldi FM, et al. Oocyte, embryo and blastocyst cryopreservation in ART: systematic review and meta-analysis comparing slow-freezing versus vitrification to produce evidence for the development of global guidance. *Hum Reprod Update*. 2017 Mar 1;23(2):139–55.
253. 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 May;97(5):1101–7.
254. Rienzi L, Cobo A, Paffoni A, Scarduelli C, Capalbo A, Vajta G, et al. Consistent and predictable delivery rates after oocyte vitrification: an observational longitudinal cohort multicentric study. *Hum Reprod Oxf Engl*. 2012 Jun;27(6):1606–12.
255. Massarotti C, Scaruffi P, Lambertini M, Remorgida V, Del Mastro L, Anserini P. State of the art on oocyte cryopreservation in female cancer patients: A critical review of the literature. *Cancer Treat Rev*. 2017 Jun;57:50–7.
256. Martinez M, Rabadan S, Domingo J, Cobo A, Pellicer A, Garcia-Velasco JA. Obstetric outcome after oocyte vitrification and warming for fertility preservation in women with cancer. *Reprod Biomed Online*. 2014 Dec;29(6):722–8.
257. Druckenmiller S, Goldman KN, Labella PA, Fino ME, Bazzocchi A, Noyes N. Successful Oocyte Cryopreservation in Reproductive-Aged Cancer Survivors. *Obstet Gynecol*. 2016 Mar;127(3):474–80.

258. Kim J, Turan V, Oktay K. Long-Term Safety of Letrozole and Gonadotropin Stimulation for Fertility Preservation in Women With Breast Cancer. *J Clin Endocrinol Metab.* 2016 Apr;101(4):1364–71.
259. Rodgers RJ, Reid GD, Koch J, Deans R, Ledger WL, Friedlander M, et al. The safety and efficacy of controlled ovarian hyperstimulation for fertility preservation in women with early breast cancer: a systematic review. *Hum Reprod.* 2017 May 1;32(5):1033–45.
260. Chien AJ, Chambers J, Mcauley F, Kaplan T, Letourneau J, Hwang J, et al. Fertility preservation with ovarian stimulation and time to treatment in women with stage II-III breast cancer receiving neoadjuvant therapy. *Breast Cancer Res Treat.* 2017 May 13;
261. Cao Y-X, Chian R-C. Fertility preservation with immature and in vitro matured oocytes. *Semin Reprod Med.* 2009 Nov;27(6):456–64.
262. Cotichio G, Dal-Canto M, Guglielmo M-C, Mignini-Renzini M, Fadini R. Human oocyte maturation in vitro. *Int J Dev Biol.* 2012;56(10–12):909–18.
263. Fadini R, Mignini Renzini M, Guarnieri T, Dal Canto M, De Ponti E, Sutcliffe A, et al. Comparison of the obstetric and perinatal outcomes of children conceived from in vitro or in vivo matured oocytes in in vitro maturation treatments with births from conventional ICSI cycles. *Hum Reprod.* 2012 Dec;27(12):3601–8.
264. Dolmans MM, Hollanders de Ouderaen S, Demylle D, Pirard C. Utilization rates and results of long-term embryo cryopreservation before gonadotoxic treatment. *J Assist Reprod Genet.* 2015 Aug;32(8):1233–7.
265. Borini A, Levi Setti PE, Anserini P, De Luca R, De Santis L, Porcu E, et al. Multicenter observational study on slow-cooling oocyte cryopreservation: clinical outcome. *Fertil Steril.* 2010 Oct;94(5):1662–8.
266. La Sala GB, Nicoli A, Villani MT, Pescarini M, Gallinelli A, Blickstein I. Outcome of 518 salvage oocyte-cryopreservation cycles performed as a routine procedure in an in vitro fertilization program. *Fertil Steril.* 2006 Nov;86(5):1423–7.
267. Levi Setti PE, Albani E, Novara PV, Cesana A, Morreale G. Cryopreservation of supernumerary oocytes in IVF/ICSI cycles. *Hum Reprod.* 2006 Feb;21(2):370–5.
268. Porcu E, Bazzocchi A, Notarangelo L, Paradisi R, Landolfo C, Venturoli S. Human oocyte cryopreservation in infertility and oncology. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* 2008 Dec;15(6):529–35.
269. Parmegiani L, Bertocci F, Garelo C, Salvarani MC, Tambuscio G, Fabbri R. Efficiency of human oocyte slow freezing: results from five assisted reproduction centres. *Reprod Biomed Online.* 2009 Mar;18(3):352–9.
270. Ubaldi F, Anniballo R, Romano S, Baroni E, Albricci L, Colamaria 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 May;25(5):1199–205.
271. Kim TJ, Laufer LR, Hong SW. Vitrification of oocytes produces high pregnancy rates when carried out in fertile women. *Fertil Steril.* 2010 Feb;93(2):467–74.
272. Cobo A, Domingo J, Pérez S, Crespo J, Remohí J, Pellicer A. Vitrification: an effective new approach to oocyte banking and preserving fertility in cancer patients. *Clin Transl Oncol.* 2008 May;10(5):268–73.
273. 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 Feb;93(2):391–6.
274. Relazione del Ministro della salute al Parlamento sullo stato di attuazione della legge contenente norme in materia di Procreazione Medicalmente Assistita (Legge 19 Febbraio 2004, N40 articolo 15). Attività anno 2015 Centri Procreazione Medicalmente Assistita. Roma 29 Giugno 2017.
275. Scaravelli G, Vigiliano V, Mayorga JM, Bolli S, De Luca R, D'Aloja P. Analysis of oocyte cryopreservation in assisted reproduction: the Italian National Register data from 2005 to 2007. *Reprod Biomed Online.* 2010 Oct;21(4):496–500.
276. Levi Setti PE, Porcu E, Patrizio P, Vigiliano V, de Luca R, d'Aloja P, et al. Human oocyte cryopreservation with slow freezing versus vitrification. Results from the National Italian Registry data, 2007-2011. *Fertil Steril.* 2014 Jul;102(1):90–95.e2.
277. Chang C-C, Elliott TA, Wright G, Shapiro DB, Toledo AA, Nagy ZP. Prospective controlled study

- to evaluate laboratory and clinical outcomes of oocyte vitrification obtained in in vitro fertilization patients aged 30 to 39 years. *Fertil Steril*. 2013 Jun;99(7):1891–7.
278. Wennerholm U-B, Söderström-Anttila V, Bergh C, Aittomäki K, Hazekamp J, Nygren K-G, et al. Children born after cryopreservation of embryos or oocytes: a systematic review of outcome data. *Hum Reprod*. 2009 Sep;24(9):2158–72.
279. Noyes N, Porcu E, Borini A. Over 900 oocyte cryopreservation babies born with no apparent increase in congenital anomalies. *Reprod Biomed Online*. 2009 Jun;18(6):769–76.
280. Chian R-C, Huang JYJ, Tan SL, Lucena E, Saa A, Rojas A, et al. Obstetric and perinatal outcome in 200 infants conceived from vitrified oocytes. *Reprod Biomed Online*. 2008 May;16(5):608–10.
281. Azim HA Jr, Peccatori FA, de Azambuja E, Piccart MJ. Motherhood after breast cancer: searching for la dolce vita. *Expert Rev Anticancer Ther*. 2011 Feb;11(2):287–98.
282. Iwase A, Nakamura T, Nakahara T, Goto M, Kikkawa F. Anti-müllerian hormone and assessment of ovarian reserve after ovarian toxic treatment: a systematic narrative review. *Reprod Sci Thousand Oaks Calif*. 2015 May;22(5):519–26.
283. Partridge AH, Ruddy KJ, Gelber S, Schapira L, Abusief M, Meyer M, et al. Ovarian reserve in women who remain premenopausal after chemotherapy for early stage breast cancer. *Fertil Steril*. 2010 Jul;94(2):638–44.
284. Das M, Shehata F, Son W-Y, Tulandi T, Holzer H. Ovarian reserve and response to IVF and in vitro maturation treatment following chemotherapy. *Hum Reprod*. 2012 Aug;27(8):2509–14.
285. Chan JL, Johnson LNC, Efymow BL, Sammel MD, Gracia CR. Outcomes of ovarian stimulation after treatment with chemotherapy. *J Assist Reprod Genet*. 2015 Oct;32(10):1537–45.
286. Goldrat O, Kroman N, Peccatori FA, Cordoba O, Pistilli B, Lidegaard O, et al. Pregnancy following breast cancer using assisted reproduction and its effect on long-term outcome. *Eur J Cancer*. 2015 Aug;51(12):1490–6.
287. Luke B, Brown MB, Missmer SA, Spector LG, Leach RE, Williams M, et al. Assisted reproductive technology use and outcomes among women with a history of cancer. *Hum Reprod*. 2016 Jan;31(1):183–9.
288. Rivkees SA, Crawford JD. The relationship of gonadal activity and chemotherapy-induced gonadal damage. *JAMA*. 1988 Apr 8;259(14):2123–5.
289. 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 Jun;61(6):861–5.
290. Ataya KM, McKanna JA, Weintraub AM, Clark MR, LeMaire WJ. A luteinizing hormone-releasing hormone agonist for the prevention of chemotherapy-induced ovarian follicular loss in rats. *Cancer Res*. 1985 Aug;45(8):3651–6.
291. 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 Feb;52(2):365–72.
292. Blumenfeld Z. How to preserve fertility in young women exposed to chemotherapy? The role of GnRH agonist cotreatment in addition to cryopreservation of embryos, oocytes, or ovaries. *The Oncologist*. 2007 Sep;12(9):1044–54.
293. Kitajima Y, Endo T, Nagasawa K, Manase K, Honnma H, Baba T, 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 Feb;147(2):694–9.
294. Imai A, Sugiyama M, Furui T, Tamaya T, Ohno T. Direct protection by a gonadotropin-releasing hormone analog from doxorubicin-induced granulosa cell damage. *Gynecol Obstet Invest*. 2007;63(2):102–6.
295. Blumenfeld Z, Katz G, Evron A. “An ounce of prevention is worth a pound of cure”: the case for and against GnRH-agonist for fertility preservation. *Ann Oncol*. 2014 Sep;25(9):1719–28.
296. Gilani MM, Hasanzadeh M, Ghaemmaghami F, Ramazanzadeh F. Ovarian preservation with gonadotropin-releasing hormone analog during chemotherapy. *Asia Pac J Clin Oncol*. 2007 Jun;3(2):79–83.
297. Badawy A, Elnashar A, El-Ashry M, Shahat M. Gonadotropin-releasing hormone agonists for prevention of chemotherapy-induced ovarian damage: prospective randomized study. *Fertil Steril*. 2009 Mar;91(3):694–7.

298. Sverrisdottir A, Nystedt M, Johansson H, Fornander T. Adjuvant goserelin and ovarian preservation in chemotherapy treated patients with early breast cancer: results from a randomized trial. *Breast Cancer Res Treat.* 2009 Oct;117(3):561–7.
299. Behringer K, Wildt L, Mueller H, Mattle V, Ganitis P, van den Hoonaard B, et al. No protection of the ovarian follicle pool with the use of GnRH-analogues or oral contraceptives in young women treated with escalated BEACOPP for advanced-stage Hodgkin lymphoma. Final results of a phase II trial from the German Hodgkin Study Group. *Ann Oncol.* 2010 Oct;21(10):2052–60.
300. Del Mastro L, Boni L, Michelotti A, Gamucci T, Olmeo N, Gori S, 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 Jul 20;306(3):269–76.
301. Gerber B, von Minckwitz G, Stehle H, Reimer T, Felberbaum R, Maass N, et al. 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 Jun 10;29(17):2334–41.
302. Demeestere I, Brice P, Peccatori FA, Kentos A, Gaillard I, Zachee P, et al. Gonadotropin-releasing hormone agonist for the prevention of chemotherapy-induced ovarian failure in patients with lymphoma: 1-year follow-up of a prospective randomized trial. *J Clin Oncol.* 2013 Mar 1;31(7):903–9.
303. Demeestere I, Brice P, Peccatori FA, Kentos A, Dupuis J, Zachee P, et al. No Evidence for the Benefit of Gonadotropin-Releasing Hormone Agonist in Preserving Ovarian Function and Fertility in Lymphoma Survivors Treated With Chemotherapy: Final Long-Term Report of a Prospective Randomized Trial. *J Clin Oncol.* 2016 Aug 1;34(22):2568–74.
304. Munster PN, Moore AP, Ismail-Khan R, Cox CE, Lacevic M, Gross-King M, 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 Feb 10;30(5):533–8.
305. Elgindy EA, El-Haieg DO, Khorshid OM, Ismail EI, Abdelgawad M, Sallam HN, et al. Gonadotrophin suppression to prevent chemotherapy-induced ovarian damage: a randomized controlled trial. *Obstet Gynecol.* 2013 Jan;121(1):78–86.
306. Song G, Gao H, Yuan Z. Effect of leuprolide acetate on ovarian function after cyclophosphamide-doxorubicin-based chemotherapy in premenopausal patients with breast cancer: results from a phase II randomized trial. *Med Oncol.* 2013;30(3):667.
307. Karimi-Zarchi M, Forat-Yazdi M, Vafaenasab MR, Nakhaie-Moghadam M, Miratashi-Yazdi A, Teimoori S, et al. Evaluation of the effect of GnRH agonist on menstrual reverse in breast cancer cases treated with cyclophosphamide. *Eur J Gynaecol Oncol.* 2014;35(1):59–61.
308. Moore HCF, Unger JM, Phillips K-A, Boyle F, Hitre E, Porter D, et al. Goserelin for ovarian protection during breast-cancer adjuvant chemotherapy. *N Engl J Med.* 2015 Mar 5;372(10):923–32.
309. Lambertini M, Boni L, Michelotti A, Gamucci T, Scotto T, Gori S, et al. Ovarian Suppression With Triptorelin During Adjuvant Breast Cancer Chemotherapy and Long-term Ovarian Function, Pregnancies, and Disease-Free Survival: A Randomized Clinical Trial. *JAMA.* 2015 Dec 22;314(24):2632–40.
310. Leonard R, Adamson D, Bertelli G, Mansi J, Yellowlees A, Dunlop J, et al. GnRH agonist for protection against ovarian toxicity during chemotherapy for early breast cancer: the Anglo Celtic Group OPTION trial. *Ann Oncol.* 2017; 28(8):1811-16.
311. Clowse MEB, Behera MA, Anders CK, Copland S, Coffman CJ, Leppert PC, et al. Ovarian preservation by GnRH agonists during chemotherapy: a meta-analysis. *J Womens Health* 2002. 2009 Mar;18(3):311–9.
312. Ben-Aharon I, Gaftor-Gvili A, Leibovici L, Stemmer SM. Pharmacological interventions for fertility preservation during chemotherapy: a systematic review and meta-analysis. *Breast Cancer Res Treat.* 2010 Aug;122(3):803–11.
313. Kim SS, Lee JR, Jee BC, Suh CS, Kim SH, Ting A, et al. Use of hormonal protection for chemotherapy-induced gonadotoxicity. *Clin Obstet Gynecol.* 2010 Dec;53(4):740–52.
314. Bedaiwy MA, Abou-Setta AM, Desai N, Hurd W, Starks D, El-Nashar SA, et al. Gonadotropin-releasing hormone analog cotreatment for preservation of ovarian function during gonadotoxic chemotherapy: a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril.* 2011 Mar 1;95(3):906-914.e1-4.
315. Chen H, Li J, Cui T, Hu L. Adjuvant gonadotropin-releasing hormone analogues for the prevention of chemotherapy induced premature ovarian failure in premenopausal women. *Cochrane Database Syst Rev.*

2011;(11):CD008018.

316. Yang B, Shi W, Yang J, Liu H, Zhao H, Li X, et al. Concurrent treatment with gonadotropin-releasing hormone agonists for chemotherapy-induced ovarian damage in premenopausal women with breast cancer: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Breast*. 2013 Apr;22(2):150–7.
317. Wang C, Chen M, Fu F, Huang M. Gonadotropin-Releasing Hormone Analog Cotreatment for the Preservation of Ovarian Function during Gonadotoxic Chemotherapy for Breast Cancer: A Meta-Analysis. *PloS One*. 2013;8(6):e66360.
318. Del Mastro L, Ceppi M, Poggio F, Bighin C, Peccatori F, Demeestere I, et al. Gonadotropin-releasing hormone analogues for the prevention of chemotherapy-induced premature ovarian failure in cancer women: Systematic review and meta-analysis of randomized trials. *Cancer Treat Rev*. 2014 Jun;40(5):675–83.
319. Vitek WS, Shayne M, Hoeger K, Han Y, Messing S, Fung C. Gonadotropin-releasing hormone agonists for the preservation of ovarian function among women with breast cancer who did not use tamoxifen after chemotherapy: a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril*. 2014 Sep;102(3):808–815.e1.
320. Sun X, Dongol S, Jiang J, Kong B. Protection of ovarian function by GnRH agonists during chemotherapy: a meta-analysis. *Int J Oncol*. 2014 Apr;44(4):1335–40.
321. Lambertini M, Ceppi M, Poggio F, Peccatori FA, Azim HA, Ugolini D, et al. Ovarian suppression using luteinizing hormone-releasing hormone agonists during chemotherapy to preserve ovarian function and fertility of breast cancer patients: a meta-analysis of randomized studies. *Ann Oncol*. 2015 Dec;26(12):2408–19.
322. Munhoz RR, Pereira AAL, Sasse AD, Hoff PM, Traina TA, Hudis CA, et al. Gonadotropin-Releasing Hormone Agonists for Ovarian Function Preservation in Premenopausal Women Undergoing Chemotherapy for Early-Stage Breast Cancer: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Oncol*. 2016 Jan;2(1):65–73.
323. Paluch-Shimon S, Pagani O, Partridge AH, Bar-Meir E, Fallowfield L, Fenlon D, et al. Second international consensus guidelines for breast cancer in young women (BCY2). *Breast*. 2016 Apr;26:87–99.
324. Lambertini M, Cinquini M, Moschetti I, Peccatori FA, Anserini P, Valenzano Menada M, et al. Temporary ovarian suppression during chemotherapy to preserve ovarian function and fertility in breast cancer patients: A GRADE approach for evidence evaluation and recommendations by the Italian Association of Medical Oncology. *Eur J Cancer*. 2017 Jan;71:25–33.
325. Dargent D, Martin X, Sacchetoni A, Mathevet P. Laparoscopic vaginal radical trachelectomy: a treatment to preserve the fertility of cervical carcinoma patients. *Cancer*. 2000 Apr 15;88(8):1877–82.
326. Bentivegna E, Gouy S, Maulard A, Chargari C, Leary A, Morice P. Oncological outcomes after fertility-sparing surgery for cervical cancer: a systematic review. *Lancet Oncol*. 2016 Jun;17(6):e240-253.
327. Smith AL, Frumovitz M, Schmeler KM, dos Reis R, Nick AM, Coleman RL, et al. Conservative surgery in early-stage cervical cancer: what percentage of patients may be eligible for conization and lymphadenectomy? *Gynecol Oncol*. 2010 Nov;119(2):183–6.
328. Willows K, Lennox G, Covens A. Fertility-sparing management in cervical cancer: balancing oncologic outcomes with reproductive success. *Gynecol Oncol Res Pract*. 2016;3:9.
329. Plante M, Renaud M-C, François H, Roy M. Vaginal radical trachelectomy: an oncologically safe fertility-preserving surgery. An updated series of 72 cases and review of the literature. *Gynecol Oncol*. 2004 Sep;94(3):614–23.
330. Cao DY, Yang JX, Wu XH, Chen YL, Li L, Liu KJ, et al. Comparisons of vaginal and abdominal radical trachelectomy for early-stage cervical cancer: preliminary results of a multi-center research in China. *Br J Cancer*. 2013 Nov 26;109(11):2778–82.
331. Schneider A, Erdemoglu E, Chiantera V, Reed N, Morice P, Rodolakis A, et al. Clinical recommendation radical trachelectomy for fertility preservation in patients with early-stage cervical cancer. *Int J Gynecol Cancer*. 2012 May;22(4):659–66.
332. Kim MK, Seong SJ, Kim YS, Song T, Kim M-L, Yoon BS, et al. Combined medroxyprogesterone acetate/levonorgestrel-intrauterine system treatment in young women with early-stage endometrial cancer. *Am J Obstet Gynecol*. 2013 Oct;209(4):358.e1-4.
333. Covens A, Shaw P, Murphy J, DePetrillo D, Lickrish G, Laframboise S, et al. Is radical

- trachelectomy a safe alternative to radical hysterectomy for patients with stage IA-B carcinoma of the cervix? *Cancer*. 1999 Dec 1;86(11):2273–9.
334. Morice P, Dargent D, Haie-Meder C, Duvillard P, Castaigne D. First case of a centropelvic recurrence after radical trachelectomy: literature review and implications for the preoperative selection of patients. *Gynecol Oncol*. 2004 Mar;92(3):1002–5.
335. Plante M. Evolution in fertility-preserving options for early-stage cervical cancer: radical trachelectomy, simple trachelectomy, neoadjuvant chemotherapy. *Int J Gynecol Cancer*. 2013 Jul;23(6):982–9.
336. Diaz JP, Sonoda Y, Leitao MM, Zivanovic O, Brown CL, Chi DS, et al. Oncologic outcome of fertility-sparing radical trachelectomy versus radical hysterectomy for stage IB1 cervical carcinoma. *Gynecol Oncol*. 2008 Nov;111(2):255–60.
337. Speiser D, Mangler M, Köhler C, Hasenbein K, Hertel H, Chiantera V, et al. Fertility outcome after radical vaginal trachelectomy: a prospective study of 212 patients. *Int J Gynecol Cancer*. 2011 Dec;21(9):1635–9.
338. Jolley JA, Battista L, Wing DA. Management of pregnancy after radical trachelectomy: case reports and systematic review of the literature. *Am J Perinatol*. 2007 Oct;24(9):531–9.
339. Kim CH, Abu-Rustum NR, Chi DS, Gardner GJ, Leitao MM Jr, Carter J, et al. Reproductive outcomes of patients undergoing radical trachelectomy for early-stage cervical cancer. *Gynecol Oncol*. 2012 Jun;125(3):585–8.
340. Gottschalk E, Mangler M, Schneider A, Koehler C, Lanowska M. Pregnancy after lymphadenectomy and neoadjuvant chemotherapy followed by radical vaginal trachelectomy in FIGO stage IB1 cervical cancer. *Fertil Steril*. 2011 Jun;95(7):2431.e5-7.
341. Landoni F, Parma G, Peiretti M, Zanagnolo V, Sideri M, Colombo N, et al. Chemo-conization in early cervical cancer. *Gynecol Oncol*. 2007 Oct;107(1 Suppl 1):S125-126.
342. Boss EA, van Golde RJT, Beerendonk CCM, Massuger LF a. G. Pregnancy after radical trachelectomy: a real option? *Gynecol Oncol*. 2005 Dec;99(3 Suppl 1):S152-156.
343. Maneo A, Chiari S, Bonazzi C, Mangioni C. Neoadjuvant chemotherapy and conservative surgery for stage IB1 cervical cancer. *Gynecol Oncol*. 2008 Dec;111(3):438–43.
344. Tomao F, Peccatori F, Del Pup L, Franchi D, Zanagnolo V, Panici PB, et al. Special issues in fertility preservation for gynecologic malignancies. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2016 Jan;97:206–19.
345. Touhami O, Omar T, Plante M, Marie P. Should ovaries be removed or not in (early-stage) adenocarcinoma of the uterine cervix: a review. *Gynecol Oncol*. 2015 Feb;136(2):384–8.
346. Eiriksson L, Covens A. Advancing fertility-sparing treatments in cervical cancer: where is the limit? *Gynecol Oncol*. 2012 Sep;126(3):317–8.
347. Gubbala PK, Laios A, Wang Z, Dhar S, Pathiraja PJ, Haldar K, et al. Routine Intraoperative Frozen Section Examination to Minimize Bimodal Treatment in Early-Stage Cervical Cancer. *Int J Gynecol Cancer*. 2016 Jul;26(6):1148–53.
348. Smith B, McCann GA, Phillips G, Backes FJ, O'Malley DM, Cohn DE, et al. Less radical surgery for early-stage cervical cancer: Can conization specimens help identify patients at low risk for parametrial involvement? *Gynecol Oncol*. 2017 Feb;144(2):290–3.
349. Beiner ME, Covens A. Surgery insight: radical vaginal trachelectomy as a method of fertility preservation for cervical cancer. *Nat Clin Pract Oncol*. 2007 Jun;4(6):353–61.
350. Ismiil N, Ghorab Z, Covens A, Nofech-Mozes S, Saad R, Dubé V, et al. Intraoperative margin assessment of the radical trachelectomy specimen. *Gynecol Oncol*. 2009 Apr;113(1):42–6.
351. Panici PB, Angioli R, Palaia I, Muzii L, Zullo MA, Mancini N, et al. Tailoring the parametrectomy in stages IA2-IB1 cervical carcinoma: is it feasible and safe? *Gynecol Oncol*. 2005 Mar;96(3):792–8.
352. Darai E, Fauvet R, Uzan C, Gouy S, Duvillard P, Morice P. Fertility and borderline ovarian tumor: a systematic review of conservative management, risk of recurrence and alternative options. *Hum Reprod Update*. 2013 Apr;19(2):151–66.
353. Helpman L, Beiner ME, Aviel-Ronen S, Perri T, Hogen L, Jakobson-Setton A, et al. Safety of ovarian conservation and fertility preservation in advanced borderline ovarian tumors. *Fertil Steril*. 2015 Jul;104(1):138–44.
354. Nam J-H. Borderline ovarian tumors and fertility. *Curr Opin Obstet Gynecol*. 2010 Jun;22(3):227–

- 34.
355. Denschlag D, von Wolff M, Amant F, Kesic V, Reed N, Schneider A, et al. Clinical recommendation on fertility preservation in borderline ovarian neoplasm: ovarian stimulation and oocyte retrieval after conservative surgery. *Gynecol Obstet Invest.* 2010;70(3):160–5.
356. Sun C, Chen G, Yang Z, Jiang J, Yang X, Li N, et al. Safety of ovarian preservation in young patients with early-stage endometrial cancer: a retrospective study and meta-analysis. *Fertil Steril.* 2013 Sep;100(3):782–7.
357. Morice P, Leblanc E, Rey A, Baron M, Querleu D, Blanchot J, et al. Conservative treatment in epithelial ovarian cancer: results of a multicentre study of the GCCLCC (Groupe des Chirurgiens de Centre de Lutte Contre le Cancer) and SFOG (Société Française d’Oncologie Gynécologique). *Hum Reprod.* 2005 May;20(5):1379–85.
358. Satoh T, Hatae M, Watanabe Y, Yaegashi N, Ishiko O, Kodama S, et al. Outcomes of fertility-sparing surgery for stage I epithelial ovarian cancer: a proposal for patient selection. *J Clin Oncol.* 2010 Apr 1;28(10):1727–32.
359. Ghezzi F, Cromi A, Fanfani F, Malzoni M, Ditto A, De Iaco P, et al. Laparoscopic fertility-sparing surgery for early ovarian epithelial cancer: A multi-institutional experience. *Gynecol Oncol.* 2016 Jun;141(3):461–5.
360. Morice P, Denschlag D, Rodolakis A, Reed N, Schneider A, Kesic V, et al. 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 Jul;21(5):951–63.
361. Fruscio R, Corso S, Ceppi L, Garavaglia D, Garbi A, Floriani I, et al. Conservative management of early-stage epithelial ovarian cancer: results of a large retrospective series. *Ann Oncol.* 2013 Jan;24(1):138–44.
362. Picone O, Aucouturier JS, Louboutin A, Coscas Y, Camus E. 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 Aug;90(2):446–9.
363. Gershenson DM. Current advances in the management of malignant germ cell and sex cord-stromal tumors of the ovary. *Gynecol Oncol.* 2012 Jun;125(3):515–7.
364. Gallos ID, Yap J, Rajkhowa M, Luesley DM, Coomarasamy A, Gupta JK. Regression, relapse, and live birth rates with fertility-sparing therapy for endometrial cancer and atypical complex endometrial hyperplasia: a systematic review and metaanalysis. *Am J Obstet Gynecol.* 2012 Oct;207(4):266.e1-12.
365. Simpson AN, Feigenberg T, Clarke BA, Gien LT, Ismiil N, Laframboise S, et al. Fertility sparing treatment of complex atypical hyperplasia and low grade endometrial cancer using oral progestin. *Gynecol Oncol.* 2014 May;133(2):229–33.
366. Koskas M, Uzan J, Luton D, Rouzier R, Daraï E. Prognostic factors of oncologic and reproductive outcomes in fertility-sparing management of endometrial atypical hyperplasia and adenocarcinoma: systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril.* 2014 Mar;101(3):785–94.
367. Koskas M, Bendifallah S, Luton D, Daraï E, Rouzier R. Safety of uterine and/or ovarian preservation in young women with grade 1 intramucous endometrial adenocarcinoma: a comparison of survival according to the extent of surgery. *Fertil Steril.* 2012 Nov;98(5):1229–35.
368. Park J-Y, Seong SJ, Kim T-J, Kim JW, Kim SM, Bae D-S, et al. Pregnancy outcomes after fertility-sparing management in young women with early endometrial cancer. *Obstet Gynecol.* 2013 Jan;121(1):136–42.
369. Ramirez PT, Frumovitz M, Bodurka DC, Sun CC, Levenback C. Hormonal therapy for the management of grade 1 endometrial adenocarcinoma: a literature review. *Gynecol Oncol.* 2004 Oct;95(1):133–8.
370. Park J-Y, Lee S-H, Seong SJ, Kim D-Y, Kim T-J, Kim JW, et al. Progestin re-treatment in patients with recurrent endometrial adenocarcinoma after successful fertility-sparing management using progestin. *Gynecol Oncol.* 2013 Apr;129(1):7–11.
371. Han AR, Kwon Y-S, Kim DY, Kim JH, Kim YM, Kim YT, 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 Jan;19(1):147–51.
372. Gotlieb WH. Fertility preserving treatments for endometrial cancer: the unanswered questions.

Gynecol Oncol. 2013 Apr;129(1):1-2.



Allegato: Tabelle GRADE evidence profile



Author(s): MC

Date: 2015-03-31

Question: Should LH-RH agonists be used for preserving post-treatment ovarian function?

Settings:

Bibliography: Li, 2008; Chinese journal of Clinical Oncology 35(16): 905-907 Sverrisdottir, Breast cancer Res Treat (2009); 117:561-567 Badawy; fertility and sterility (2009) vol.91, (3): 694-697. Del Mastro, JAMA. 2011;306:269-276. Gerber, JCO, 2011; 29(17) 2334-2341. Munster, JCO 2012,30(5) 533-538 Sun, Chinese Journal of Trauma and Disability Medicine , 2011; 19(11):15-16 Elgindy, Obstet Gynecol 2013; 121:78-86 Song, Med Oncol (2013); 30:667 Karimi-Zarchi, Eur J Gynaec Oncol; 2014; 25(1): 59-61 Moore, NEJM 2015; 372:923-932

Quality assessment							No of patients		Effect		Quality	Importance
No of studies	Design	Risk of bias	Inconsistency	Indirectness	Imprecision	Other considerations	LH-RH agonists	Control	Relative (95% CI)	Absolute		
Menstruating - Li (follow-up median 12 months)												
1	randomised trials	no serious risk of bias ¹	no serious inconsistency ²	no serious indirectness	no serious imprecision	none	23/31 (74.2%)	15/32 (46.9%)	RR 1.58 (1.04 to 2.42)	27 more per 100 (from 2 more to 67 more)	⊕⊕⊕⊕ HIGH	CRITICAL
Menstruating - Sverrisdottir (follow-up median 36 months; assessed with: 1 anno dopo l'interruzione del trattamento endocrino)												
1	randomised trials	no serious risk of bias ¹	no serious inconsistency	no serious indirectness	serious ³	none	8/22 (36.4%)	2/20 (10%)	RR 3.34 (0.87 to 15.14)	23 more per 100 (from 1 fewer to 100 more)	⊕⊕⊕⊖ MODERATE	CRITICAL
Menstruating - Badawy (follow-up median 8 months⁴; not considered)												
												CRITICAL
Menstruating - Del Mastro (follow-up median 12 months; assessed with: ripresa attività mestruale indipendentemente dai livelli di FSH e E2⁸)												
1	randomised trials	no serious risk of bias	no serious inconsistency ⁷	no serious indirectness	no serious imprecision	none	88/139 (63.3%)	60/121 (49.6%)	RR 1.28 (1.02 to 1.59)	14 more per 100 (from 1 more to 29 more)	⊕⊕⊕⊕ HIGH	CRITICAL
Menstruating - Gerber (follow-up median 6 months; not considered)												
												CRITICAL
Menstruating - Munster (follow-up median 24 months)												
1	randomised trials	no serious risk of bias ⁹	no serious inconsistency ¹⁰	no serious indirectness	no serious imprecision	none	22/26 (84.6%)	18/21 (85.7%)	RR 0.99 (0.78 to 1.25)	1 fewer per 100 (from 19 fewer to 21 more)	⊕⊕⊕⊕ HIGH	CRITICAL
Menstruating - Sun (follow-up median 12 months)												
1	randomised trials	no serious risk of bias ¹	no serious inconsistency ¹¹	no serious indirectness	serious ³	none	8/11 (72.7%)	5/10 (50%)	RR 1.45 (0.71 to 2.98)	23 more per 100 (from 15 fewer to 99 more)	⊕⊕⊕⊖ MODERATE	CRITICAL
Menstruating - Elgindy (follow-up median 12 months)												
1	randomised trials	no serious risk of bias	no serious inconsistency ¹²	no serious indirectness	serious ³	none	21/25 (84%)	20/25 (80%)	RR 1.05 (0.1 to 1.36)	4 more per 100 (from 72 fewer to 29 more)	⊕⊕⊕⊖ MODERATE	CRITICAL
Menstruating - Song (follow-up median 12 months)												
1	randomised trials	no serious risk of bias ¹	no serious inconsistency ¹³	no serious indirectness	no serious imprecision	none	53/89 (59.6%)	39/94 (41.5%)	RR 1.44 (1.07 to 1.93)	18 more per 100 (from 3 more to 39 more)	⊕⊕⊕⊕ HIGH	CRITICAL
Menstruating - Karimi-Zarchi (follow-up median 6 months; not considered)												

Quality assessment							No of patients		Effect		Quality	Importance
No of studies	Design	Risk of bias	Inconsistency	Indirectness	Imprecision	Other considerations	LH-RH agonists	Control	Relative (95% CI)	Absolute		
												CRITICAL
Menstruating - Moore – not reported												
												CRITICAL
Pregnancy - Li - not reported												
												CRITICAL
Pregnancy - Sverrisdottir - not reported												
												CRITICAL
Pregnancy - Badawy - not reported												
												CRITICAL
Pregnancy - Del Mastro (follow-up median 12 months)												
1	randomised trials	no serious risk of bias	no serious inconsistency ⁷	no serious indirectness	no serious imprecision ¹⁵	none	3/148 (2%)	1/133 (0.75%)	RR 2.70 (0.28 to 25.6)	1 more per 100 (from 1 fewer to 18 more)	⊕⊕⊕⊕ HIGH	CRITICAL
Pregnancy - Gerber (follow-up 6 months)												
1	randomised trials	no serious risk of bias ⁹	no serious inconsistency ⁸	Serious ¹⁶	no serious imprecision ¹⁵	none	1/30 (3.3%)	1/30 (3.3%)	RR 1.00 (0.07 to 15.26)	0 fewer per 100 (from 3 fewer to 48 more)	⊕⊕⊕⊙ MODERATE	CRITICAL
Pregnancy - Munster (follow-up 24 months)												
1	randomised trials	no serious risk of bias ⁹	no serious inconsistency	no serious indirectness	no serious imprecision ¹⁵	none	0/26 (0%)	2/21 (9.5%)	RR 0.20 (0.01 to 4.24)	8 fewer per 100 (from 9 fewer to 31 more)	⊕⊕⊕⊕ HIGH	CRITICAL
Pregnancy - Sun - not reported												
												CRITICAL
Pregnancy - Elgindy (follow-up median 12 months)												
1	randomised trials	no serious risk of bias	no serious inconsistency ¹²	no serious indirectness	no serious imprecision ¹⁵	none	1/25 (4%)	0/25 (0%)	RR 2 (0.07 to 56.96)		⊕⊕⊕⊕ HIGH	CRITICAL
Pregnancy - Song - not reported												
												CRITICAL
Pregnancy - Karimi-Zarchi - not reported												
												CRITICAL
Pregnancy - Moore (follow-up median 4.1 years)												
1	randomised trials	serious ^{1,14}	no serious inconsistency ¹⁷	no serious indirectness	no serious imprecision	none	22/105 (21%)	12/113 (10.6%)	RR 1.97 (1.03 to 3.78)	10 more per 100 (from 0 more to 30 more)	⊕⊕⊕⊙ MODERATE	CRITICAL

¹ Non è stato possibile valutare i possibili rischi di bias presenti nello studio per la completa mancanza di informazioni.

² Età mediana gruppo intervento: 40 (range 21-49); età mediana gruppo controllo 40 (range 25-50)

³ L'intervallo di confidenza, oltre a includere il non effetto, è molto ampio.

⁴ Non riportati i persi al follow-up

⁵ Età media gruppo intervento: 30 (SD 3.51); età media gruppo controllo 29.2 (SD 2.93)

⁶ L'outcome votato dal panel è ripresa dell'attività mestruale a 12 mesi mentre nel paper l'outcome principale è l'assenza dell'attività mestruale + livelli di FSH e E2 da post menopausa. Si riportano i dati relativi alla secondary analysis.

⁷ Età mediana gruppo intervento: 39 (range 25-45); età mediana gruppo controllo 39 (range 24-45)

⁸ Età mediana gruppo intervento: 35 (range 26-44); età mediana gruppo controllo 38.5 (range 29-47)

⁹ Allocation concealment: nessun sistema centralizzato di randomizzazione viene riportato nei metodi

¹⁰ Età mediana gruppo intervento: 39 (range 21-44); età mediana gruppo controllo 38 (range 26-44)

¹¹ Età mediana gruppo intervento: 38 (range 23-49); età mediana gruppo controllo 37 (range 21-48)

¹² Età media gruppo intervento: 33 (SD 3.8); età media gruppo controllo 32.84 (SD 4.3)

¹³ Età media gruppo intervento: 40.3 (SD 6.5); età media gruppo controllo 42.1 (SD 5.9)

¹⁴ Lo studio è stato interrotto precocemente a causa della perdita del finanziamento per la distribuzione del farmaco

¹⁵ Considerando i pochi eventi verificatisi, è stato deciso di non abbassare il livello di qualità per imprecisione

¹⁶ No explanation was provided

¹⁷ Età mediana gruppo intervento: 37.6 (range 26-49); età mediana gruppo controllo 38.7 (range 25-50)