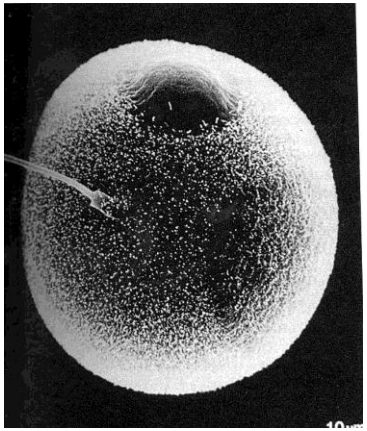
# Keinot säilyttää naisen hedelmällisyys

HELENA TINKANEN
Synnytys- ja naistentautien erikoislääkäri
Naistentautien klinikka
TAYS

# Nuoruus/fertiili-iän maligni sairaus

- tänään 1/250 nuoresta aikuisesta on sairastanut elämässään malignin sairauden
- syöpien eloonjäämisennuste paranee koko ajan
- haasteena on hedelmällisyyden säilyttäminen hoitojen jälkeen



# Hedelmällisyyteen vaikuttavat uhkatekijät

- **Sukuelinten syöpä**
  - Kohdun kaulan syöpä
  - Kohdun runko-osan syöpä
  - Munasarjasyöpä
- **Sädehoito**
  - Lantion alueelle kohdistuva
  - TBI
- **Solusalpaajat**
  - Alkyloivat aineet

# Sädehoito

- 5-20 Gy **munasarjoihin** kohdistunut annos aiheuttaa vajaatoiminnan (POF)
  - Transpositio – kraniolateraalinen fixaatio
- **Kohtuun** kohdistunut 14-30 Gy annos vaurioittaa endometriumin toimintaa pysyvästi (Larsen 2004)
- **Koko kehon sädetys** (TBI) ennen luuydinsiirtoa munasarjojen vajaatoiminta 92-100%lle ( Meirow 2001)

# Solusalpaajat

- **Korkea riski**
  - Syklofosfamidi
  - Busulfaani
  - Melfalaani
  - Prokarbatsiini
  - Ifosfamidi
  - Thiotepa
  - Nitrogen mustard
- **Kohtalainen riski**
  - Cisplatiini
  - Carboplatiini
- **Matala riski**
  - Metotreksaatti
  - Bleomysiini
  - 5 FU
  - Aktinomysiini D
  - Vinkristiini

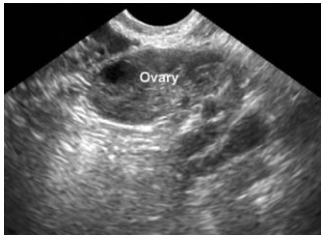
# Munasarjat ja naisen ikä

- Syntymähetkellä 1-2 miljoonaa munarakkulaa
  - apoptoottinen tuhoutuminen alkaa jo ennen syntymää, atreettinen tuhoutuminen puberteetissa
- Nuoressa munasarjassa enemmän reserviä, siksi vajaatoiminta ei kehity niin helposti
  - POF ja syklofosfamidiannos: >40 v. naiselle 5 gr , 20-30 vuotiaalle 20g
- vaikka kuukautiskierto palaakin, munarakkulapooli selvästi vähentynyt

# Keinot hedelmällisyyden säilyttämiseksi

- 1. GnRh-analogihoito
- 2. Gn-Rh-antagonisti
- 3. E-pillerit
- 4. IVF ja alkioiden pakastaminen
- 5. Munasolujen pakastaminen
- 6. IVM ja munasolujen tai alkioiden pakastaminen
- 7. Munasarjakudoksen pakastaminen
- 8. Kokeelliset menetelmät
- 9. Luovutettu munasolu, luovutettu alkio, adoptio

# 1. GnRH-analogihoito



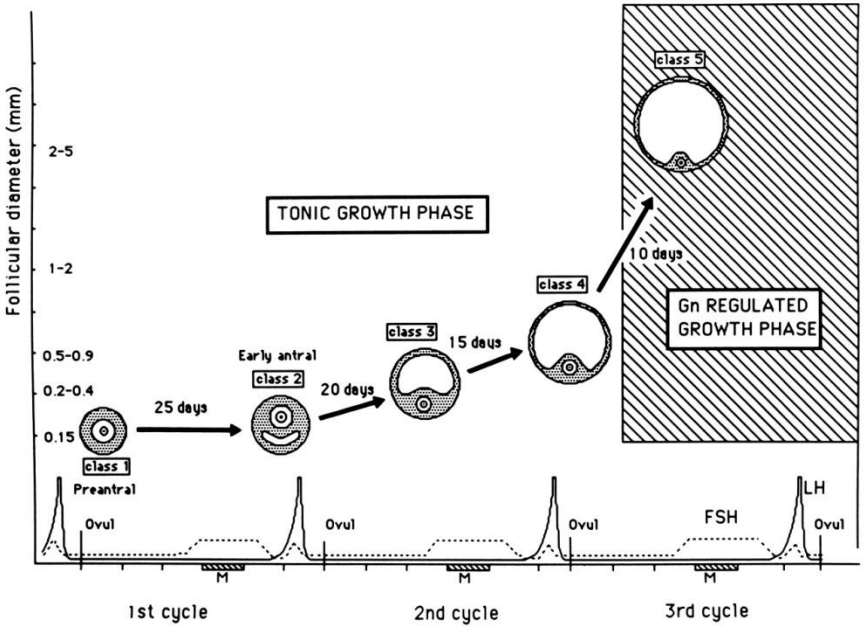

- MISTÄ AJATUS  LÄHTI?
  - Prepubertaalisilla tytöillä MOPP kuurit Hodgkinin lymfooman hoidossa aiheuttivat munasarjojen vajaatoiminnan vain 13%lla, mutta lähes kaikilla aikuisilla (Ortin 1990)
  - Prepubertaalinen ovario resistempi sytotoksisille tekijöille
  - GnRh-analogi simuloi prepubertaalista tilaa ja lamaa munasarjojen kuukautiskierron ja hormonitoiminnan

# GhRH-analogin suojaavat vaikutusmekanismit

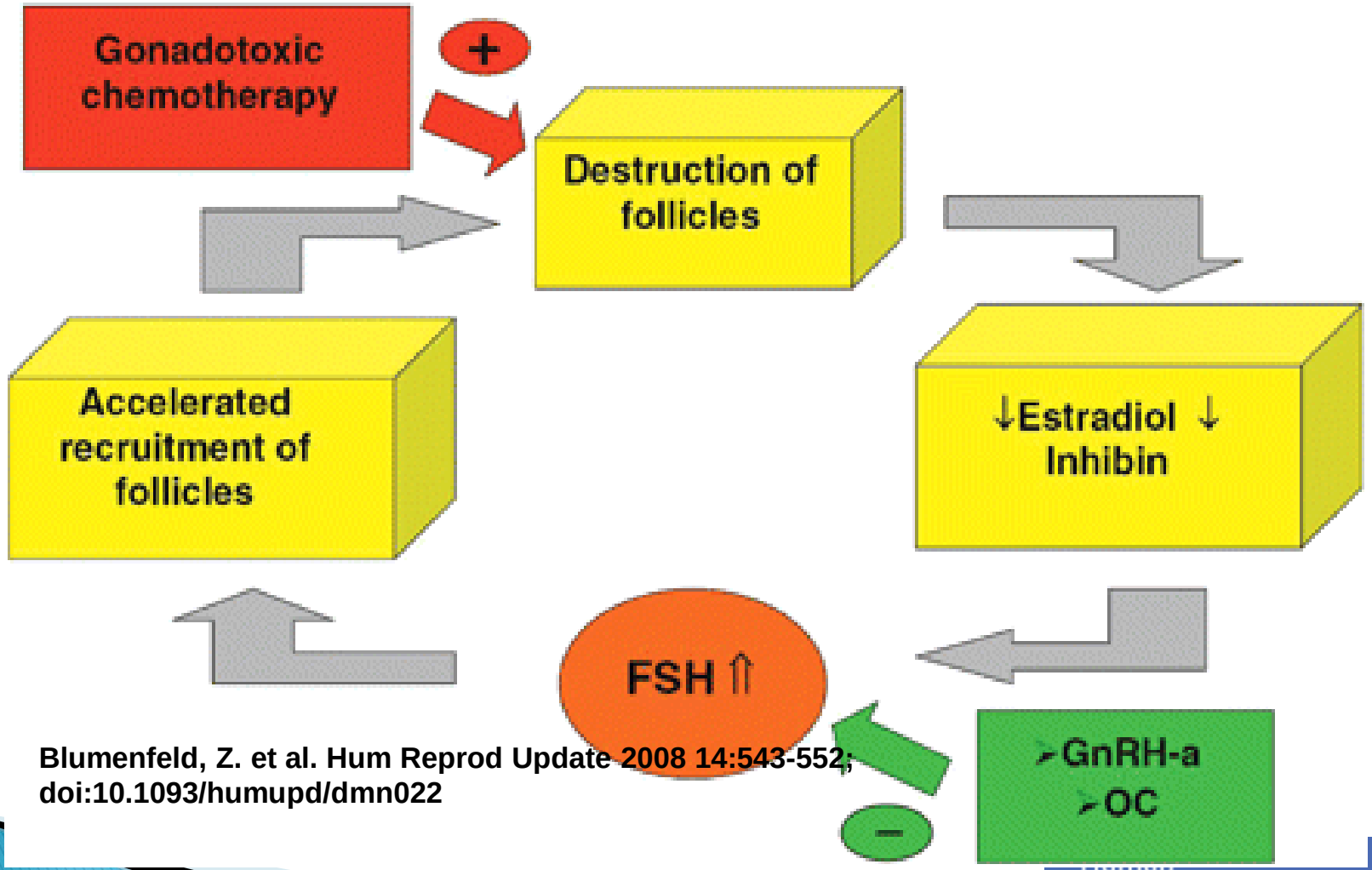
- Hiirillä ( Glode 1981) ja Rhesus apinoilla (Ataya 1995) ja rotilla  osoitettu, GnRh-analogin suojaavan ovarioita sytotoksisilta aineilta

# Follikkelikehitys ja GhRh-a

- Primordiaali ja primaarifollikkeleissa on gonadotropiini reseptoreja ( Flaws 1997, Oktay 1997)
- Kypsät follikkelit erittävät kasvutekijöitä FSHn stimuloimina, GnRh -analogi estää FSH nousun ja kasvutekijätuotannon, jolloin useammat primordiaalifollikkelit pysyvät samassa kehitysvaiheessa (Knight, Glister 2006)



## Vicious pathophysiologic cycle and the protective effect of GnRH-a or OCs against chemotherapy-associated gonadotoxicity




Blumenfeld, Z. et al. Hum Reprod Update 2008 14:543-552; doi:10.1093/humupd/dmn022

Copyright restrictions may apply.

Human Reproduction Update

# GhRH-analogin vaikutusmekanismit

- **Apoptoosin vähentyminen**
  - GnRH reseptorien aktivointi gonadissa vähentää apoptoosia (Grundker&Emons 2003)
  - GhRh voi suojata granulosasoluja in vitro ilman hypoestrogeenistä miljöötä (Imai 2007)

- **vaikutus kohdun ja munasarjojen perfuusioon**
  - Todettu rotalla ( Kitajima 2006), mutta ei ihmisellä (Järvelä 2003)

# Kliinisiä tutkimuksia
# Hodgkinin lymfooma – on hyötyä

| tutkija | potilasryhmät | POF GnRH-analogiryhmässä | POF kontrolleilla |
|---|---|---|---|
| **Blumenfeld 2008** | 111 GnRh-a<br>Historialliset kontrollit | <10% | >40% |
| **Huser 2008** : | 72 GnRh -a<br>72 historiallista kontrollia | 20,8% | 71.1% |
| **Castelo-Branco 2007:** | prospektiivinen<br>30 GnRh-a<br>26 ei GnRh-a | 10% | 76,9% |

# Kliinisiä tutkimuksia
# GhRh-analogi –ei hyötyä

- Waxman 1987
  - 8 sai GnRh-a
  - 9  kontrollia
  - POF : ei eroa ryhmien välillä
- Nitzschke  2009
  - 10 sai GnRh-a
  - 10 kontrollia
  - Ei eroa ovarion toimintaa kuvaavissa kokeissa

# Meta-analyysi kliinisistä tutkimuksista

- **Clowse ME et al. 2009:**
  - 1966-2007, 9 tutkimusta
  - 178 sai GnRH-analogia – 98%lla kuukautiskierto palasi, 22%lle raskaus
  - 188 ei saanut, - 48%lla kuukautiskierto säilyi, 14%lle raskaus
  - RR 1.65 (CI 1.03-2.6)

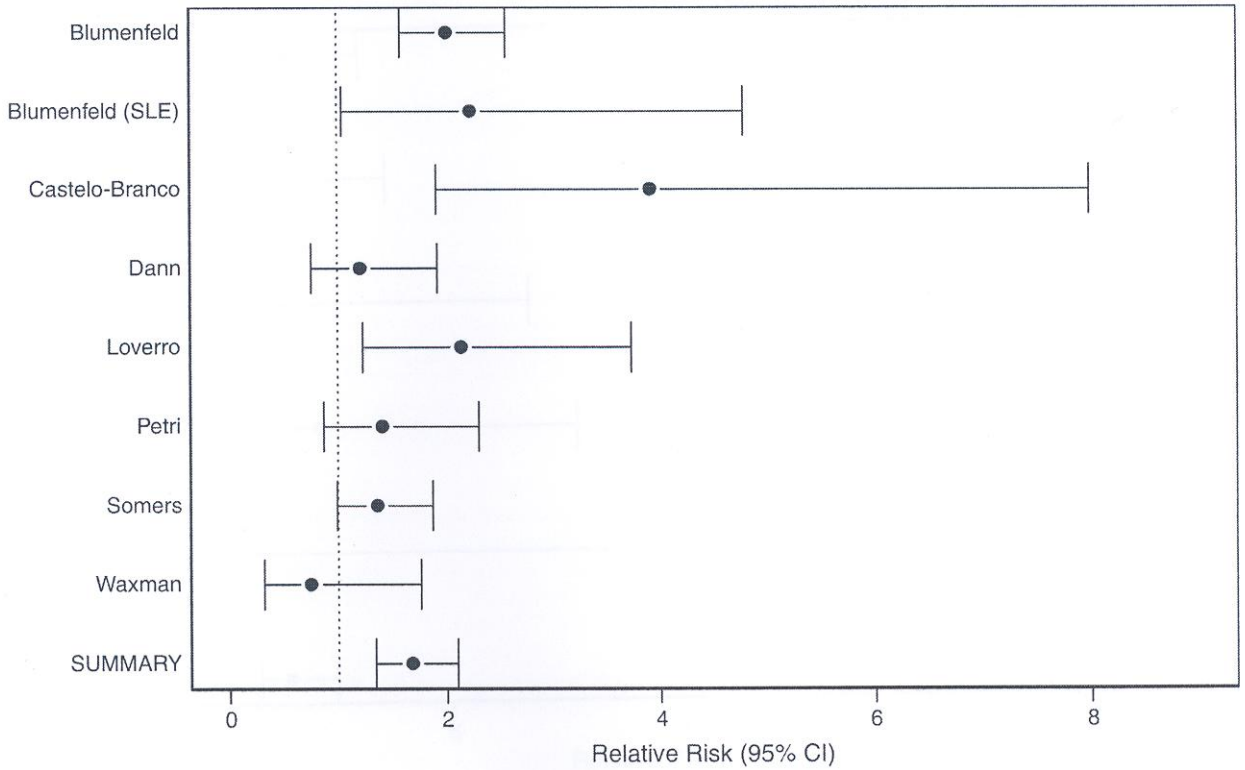



**FIG. 2.** Ovarian preservation with and without GnRHa cotherapy.

# Ongelmat tutkimuksien arvioinnissa

- Hodgkinin lymfooman hoidossa käytössä erilaisia sytostaattiyhdistelmiä, joilla erilainen ovariotoksisuus
  - ABVD – vähiten ovariotoksinen
  - OPPA ja COPP – sisältävät procarbatsiinia ja syklofosfamidia – selvästi ovariotoksisempia
  - BLEOCOPP – POF >52%lle ( German Hodgkin lymfoma study)
- Ikä merkitsevä
  - >30 v. amenorrhea useammin ( Boheringer 2008)
  - >37 v. amenorrhea useammin (Blumenfeldt 2008)

# Yhteenvetona
# Hodgkinin lymfooma ja GnRh-analogi

- GnRHa may preclude ovarian damage and infertility in young women receiving frontline polychemotherapy alone or in combination with supradiaphragmatic radiotherapy. In refractory or relapsed patients, GnRHa does not seem to be very effective (**Gonadotropin-releasing hormone analog treatment for the prevention of treatment-related ovarian failure and infertility in women of reproductive age with Hodgkin lymphoma. Falorio S, Angrilli F, Fioritoni G)**

# Rintasyöpäpotilaat

- 25%  rintasyöpäpotilaista on premenopausaalisia, nuori ikä on itsenäinen riskitekijä metastaattiselle ja residivoivalle taudille, siksi sytostaattihoito (CMF)
- **<35-vuotiaille amenorrhea 10%lle, >40 vuotiaille lähes 100%,** Kierto palaa keskimäärin 3.5 kuukaudessa
- Raskaus sairastetun rintasyövän jälkeen ei vaikuta taudin ennusteeseen (Kroman 1997; Sankila 1994)

# Rintasyövän sytostaattihoito
## GnRh-analogista on hyötyä

- **Tutkimuksia, joissa ei ollut vertailuryhmää**
  - **Recchia 2006:**
- <40 vuotiaista, joilla GnRH-a oli käytössä amenorrhea 0%, yli 40-vuotiaista 49%lle
  - **Del Mastro 2006:**
- <40 vuotiaista  joilla GnRH-a, amenorrhea 6%lle

# SVERRISDOTTIR A. ET AL, BREAST CANCER RES TREAT 2009;117:561-567

- Samanaikaisesti rintasyövän kemoterapian kanssa aloitettiin endokriininen hoito, joka kesti kaksi vuotta. Keski-ikä 45 v.
- **amenorrhea** naisilla, jotka saivat CMF hoidon
  - **Gosereliiniryhmässä 64% (p=0.006)**
  - Gosereliini+tamoksifeeniryhmässä 93%
  - Tamoksifeeniryhmässä 87%
  - Kontrolliryhmässä 90%

# BADAWY A, FERTIL STERIL 2009;91:694-97

| <40 v, naisia, keski-ikä 29V. Ja 30 v. | Kontrollit (n=40) | GnRh-analogi (n=40) |
|---|---|---|
| Amenorrhea<br>8 kk kuluttua | 74.4% | 31.8%<br><br>p<0.001 |
| FSH | 15.2IU | 8,3 IU<br><br>p< 0.009 |

# Rintasyöpä ja GnRh-analogi

- **Vaikutus elinikään:**
- Cuzic 2007 Lancet:

  16 tutkimuksen meta-analyysi:

  GnRh-analogin  lisäys TMX ja/tai kemoterapiaan vähensi uusiutumisriskiä 12.7% ja kuolemaa uusiutumisen jälkeen 15.1%

# Yhteenveto

- GnRh-a vähentää, mutta ei kokonaan estä follikkelituhoa
- Parempi teho nuorilla potilailla
- **Hyödyt**: ovarioreservin säästäminen, hoitojen aikainen vuotojen hallinta, vaikutus syövän ennusteeseen
- **Haitat**: ovarioreservin säästämisessä teho rajallinen, hinta, luustovaikutukset

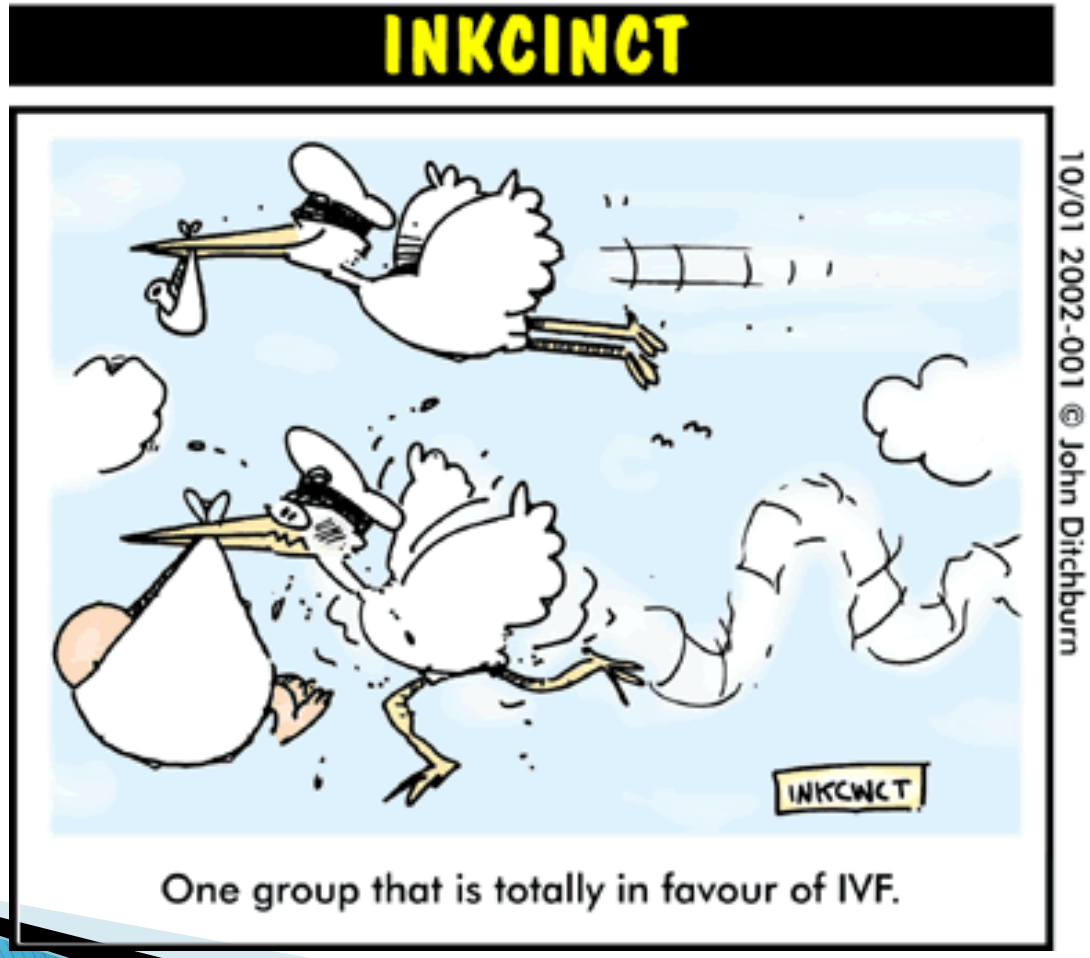
# 2. GnRh-antagonisti

- Eläinkokeiden perusteella GNRH-antagonisti ei yksin suojaa primordiaalifollikkeleita , vaan ehkä päinvastoin ( Danforth 2005, Peng 2007)
- Yhdistettynä GnRh-agonistiin, se tarjoaa nopeamman ovariotoiminnan suppression (Mardesic 2008)

# 3. E-pillerit

- **Behringer 2005**
  - Hogkin lymfooma potilaita, ei huomioitu hoidon laatua
  - e-pillerien käyttäjillä POF 10.1% kontrolleilla 44.1%
- **Behringer 2009**
  - ei hyötyä mikäli BLEOCOPP hoidot
- **Longhi 2003**
  - osteosarkoomapotilaita
  - 19 OC ja 71 kontrollia, ei eroa POF frekvenssissä. Tromboflebiitti kahdelle
- **Whitehead 1983**
  - lymfoomapotilaita, ei eroa POF frekvenssissä

# 4. IVF-hoito ja alkioiden pakastus



# 4. IVF-hoito ja alkioiden pakastus

- Voidaan toteuttaa mikäli parisuhde on olemassa
- munasarjojen stimulaatio
  - GnRh-antagonisti
  - Stimulaation kesto 8-10 vrk
- munasolujen keräys ja hedelmöitys
- alkioiden pakastus

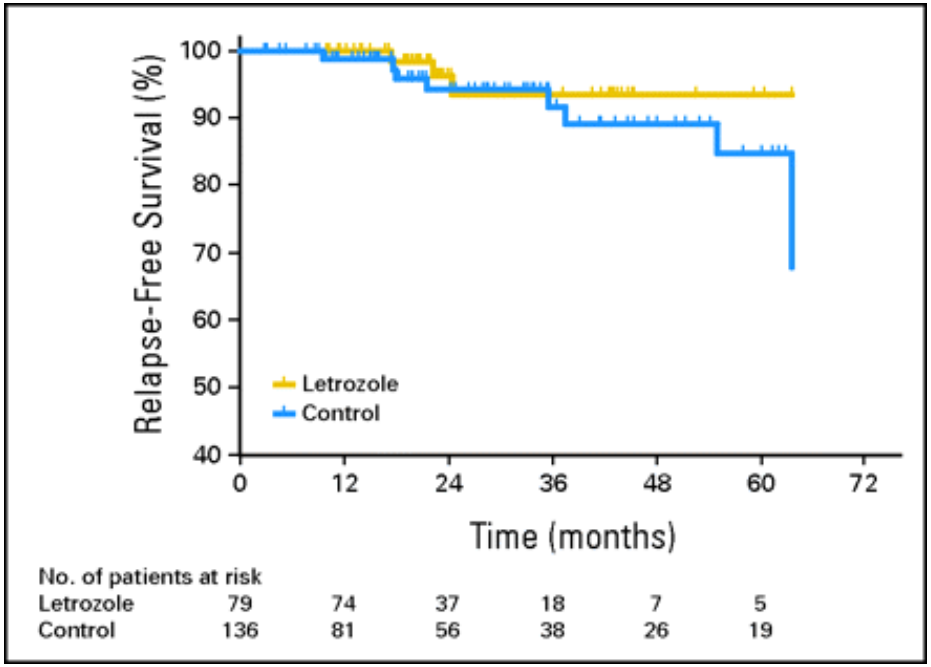
# RISKIT

- vuoto- ja infektioriski keräyksen yhteydessä

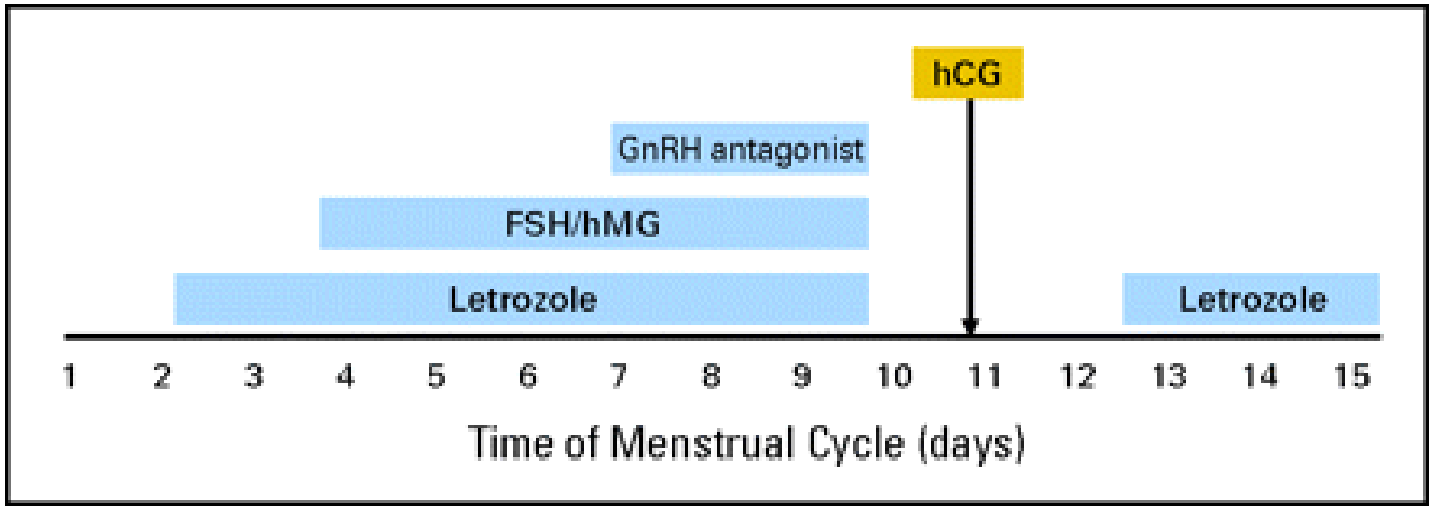
- **Viive hoidon aloittamisessa**
- Azim 2008:
  - leikkauksesta kemoterapiaan 45,08vrk/ kontrollit 33,46vrk
- Baynosa 2009:
  - Diagnoosista kemoterapiaan 71vrk /kontrollit 67vrk (p>0.22)
  - Leikkauksesta kemoterapiaan 30vrk/29vrk (p>0,79)

# IVF rintasyöpäpotilaalla

- **Azim et al 2008**
- 79 potilaalle COS, 136 kontrollia
- Hazard ratio for recurrence COS ryhmässä oli 0.56 (95% CI 0.17-1.9)
- elossaolon suhteen ollut eroa ryhmien välillä



# Munasarjojen stimulaatio rintasyöpäpotilaalla




- **Tamoxifen 60mg/vrk ja gonadotropiini aloitetaan KP 2-3,**

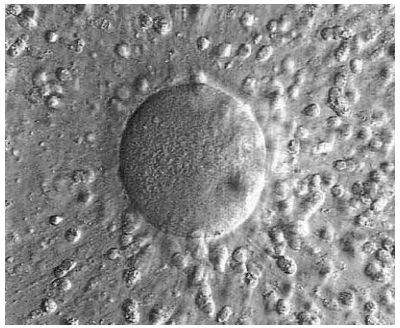
**ja jatketaan kunnes johtofollikkeli on 14mm,**

**jolloin antagonisti lisätään (Oktay et al. Hum Reprod 2003)**

**hCGn voi korvata GnRH-agonistilla (Okatay 2010)**

# 5.Munasolujen pakastus

- Mikäli parisuhdetta ei ole
- Yleistilan oltava riittävän hyvä, leukosyytti- ja trombosyyttitaso riittävä
- Toteutus kuukauden sisällä
- munasarjojen stimulaatio ja munasolujen keräys
- munasolujen pakastus



# Munasolujen pakastus

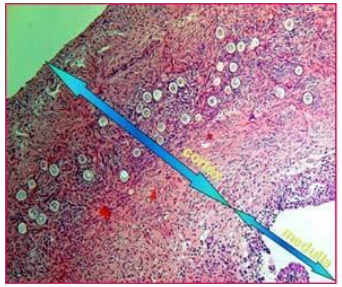
- Tulokset huonompia kuin alkiopakastuksessa
- Raskausluku/pakastettu munasolu ollut 2-9%, vitrifioinnilla paremmat tulokset kuin hitaalla jäädytyksellä
- **Rienzi L 2010**
  - Verrattiin sibling munasoluja
  - 96,8% säilyi, näistä 79,2% hedelmöittyi, 52% alkioista hyvänlaatuisia
  - Implantaatioprosentti /vitrifioidusta munasolusta muodostunut alkio 22%

# 6. IVM ja munasolujen tai alkioiden pakastus

- Epäkypsien munasolujen in vitro kypsytys eli IVM ja pakastaminen tai hedelmöittäminen ja pakastus
- Soluja saadaan vähemmän kuin stimulaation jälkeen
- vitrifointipakastetusta IVM munasolusta raskaus ja synnytys (Chian 2009)
- Yleensä  munasolujen keräys keski-proliferaatio vaiheessa jopa ilman edeltävää hormonihoitoa
- **Demirtas  2008:**
  - Epäkypsiä munasoluja voi löytää myös spontaanin kierron luteaalivaiheessa

# 7.Munasarjakudoksen pakastus

- laparoskopiassa otetaan munasarjan kuorikerroksesta 1-3 mm paksuja siivuja, koko 1cm$^2$
- monissa keskuksissa otetaan toinen  munasarja kokonaan, cortex irrotetaan ja pakastetaan pieninä siivuina (erityisesti lapsilla, jos ennuste vajaatoiminnalle >90%)
- Näkyvistä follikkeleista voidaan kerätä munasolut, ja kypsytää in vitro ja pakastaa
- joko hidas jäädytys tai vitrifikaatio

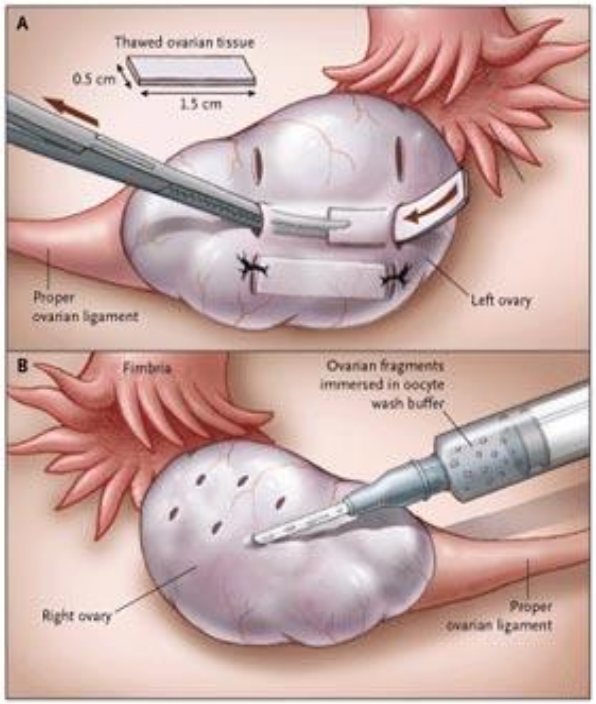


# Indikaatiot

- Lapsuusiän malignit sairaudet
  - Lymfoomat, leukemiat, Ewigin sarkooma, Wilmsin tuumori, neuroblastooma
- Rintasyöpä
  - Infiltratiivinen, duktaalinen
- Cervix carsinoma
- Autoimmuuni- tai hematologiset sairaudet, joissa HSCT
- Munasarjasairaudet
- Lantion alueen sädehoito
- Profylaktinen oforectomia
  - BRCA 1/2

# Ovariokudoksen transplantaatio

- munasarjan kudoksien morfologinen ja histokemiallinen tutkimus ennen pakastusta
  - mammaca ja leukemiat metastasovat ovarioihin
- Autooppinen tai ektooppinen siirto
- Tulokset paremmat autooppisessa, jopa spontaanin raskauden mahdollisuus



# Transplantaatio

- ongelmana on revaskularisaatiovaihe – ensimmäinen viikko tuhoisin
- alkaa toimia 3 kk kuluttua, toimii n. 6 kk
- Gonadotropiinitasot pysyvät korkeina, AMH ja inhibiini-tasot pysyvät matalina
- Estradioli nousee kuten normaalissa kuukautiskierrossa

# TULOKSET

- International Society for fertility preservation: **www.isfp-fertility.org**
- 8 synnytystä 11 naisella, joista ensimmäinen 2004:

  ortooppinen, transplantaatio, spontaani raskaus (Donnez)

  6 spontaania raskautta, 5 IVF-hoidolla

# Rikshospital, Denmark, Claus Ydig Andersen

- 413 naiselta ( 6-38 vuotiaita) pakastettu ovariobiopsioita,
- Koko ovario poistetaan ja cortex kuoritaan , 1-2 mm kokoisia palasia n.20 kpl
- 6-8 palaa toiseen ovarioon tai keskilinjaan anteriorisesti peritoneumin alle
- 21 transplantaatiota 15 naiselle
- 3 lasta syntynyt kahdelle naiselle
- 2 biokemiallista raskautta, 1 km
- 1 raskaus meneillään

# Suomen tilanne

- HUS: Lasten- ja Nuorten sairaala 36
- OYS: 9
- Turku 2
- Kuopio <10
- Tampere 39

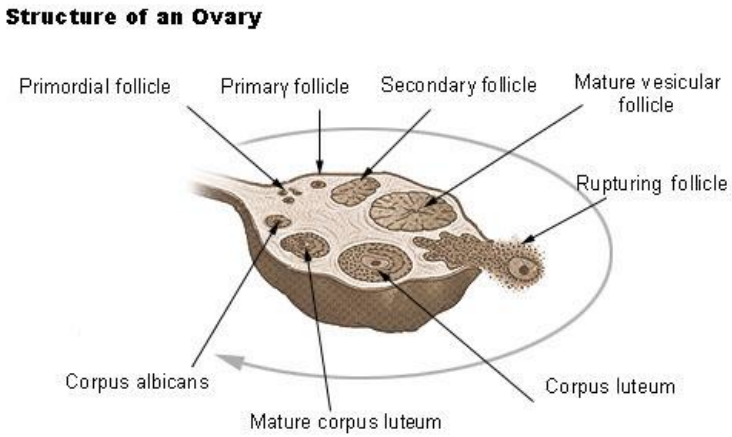
- Yhtään takaisin siirtoa ei ole tehty

# 8.Tulevaisuuden menetelmät

- **Apoptoosin estäjät**
  - Sfingosiini 1-fosfaatti
  - Hiirillä, joiden munasoluista puuttui keramidia ja sfingomyelinaasia tuottava entsyymi ( varhainen apoptoosi ketjun välittäjä) olivat resistentimpiä doxorubisiinille (Morita 2000) ja sfingosiini 1-fosfaatin annolla oli sama vaikutus ( Paris 2002)

# 8.Tulevaisuuden menetelmät

- **Kokonaisen munasarjan pakastus ja siirto**
  - Välitön siirto identtisten kaksosten välillä on onnistunut
  - Pakastus, sulatus ja siirto koe-eläimillä on onnistunut



# 8.Tulevaisuuden menetelmät

- **epäkypsien follikkelien kasvatus ja kypsytys (IFM) ja sen jälkeen sen sisältämän munasolun kypsytys in vitro (IVM)** on kehitteillä
  - Pakastetun ja sulatetun germinaalivesikkelivaiheisen munasolun kypsytys in vitro ja hedelmöitys on onnistunut
  - Sekundaarifollikkelin kypsytys antraalifollikkeliksi on onnistunut

# 8.Tulevaisuuden menetelmät

- Follikkelien eristäminen ja siirto
- kloonaustekniikat, itusolujen muodostaminen somaattisista soluista
- oosyyttien kehittäminen kantasoluista
  - ei ole vieläkään näyttöä siitä, että aikuisella olisi primordiaali-itusoluja eli munasolujen kantasoluja (Oktem O. 2009)

# 9. Luovutetut munasolut, alkiot, adoptio

- mahdollisuus, josta on syytä keskustella naisen/pariskunnan kanssa
- Antaa aikaa  selvitä taudin ja sen hoidon aiheuttamasta kriisistä
- Ongelmana adoptiosäädökset, sairastettu maligni sairaus sulkee pois osittain tämän mahdollisuuden

# Nykytilanne

- GnRh-analogi
  - alle 37-vuotiailla
  - suoja ei ole täydellinen
  - tutkittu lähinnä HL ja rintasyöpäpotilailla
  - raskaus mahdollisimman pian hoitojen jälkeen
  - rintasyöpäpotilaille voi parantaa kokonaisennustetta
- E-pillerit
  - ei näyttöä hyödystä
- Munasolujen pakastus
  - rajallinen määrä, vitrifiointi tehokkaampi
- Alkioiden pakastus
  - Rajallinen määrä
- Munasarjakudoksen pakastus