

Reprodukční ochrana u dospívajících dívek s maligním onemocněním

Martin Huser, Igor Crha, Jana Žáková, Pavel Ventruba

Gynekologicko-porodnická klinika LF MU a Fakultní nemocnice Brno

Účinná léčba nádorových onemocnění často způsobuje trvalou ztrátu reprodukčních schopností pacienta. Jsou představeny moderní ukazatele ovariální rezervy, které mohou v běžné klinické praxi významně pomoci při zhodnocení míry rizika poškození gonadálních buněk v důsledku onkologické léčby. Práce dále popisuje zavedené metody reprodukční ochrany – kryokonzervace embryí a oocytů, kryokonzervace ovariální tkáně včetně možnosti její autotrasplantace a metody ochrany ovariální funkce aplikací analog gonadoliberinu. V diskuzi je pozornost věnována zejména výhodám a limitům popsaných metod ovariální protekce. V závěru jsou formulována stručná doporučení pro konzultace s pacientkami v adolescentním a reprodukčním věku před onkologickou léčbou, která významně ohrožuje jeho fertilitu.

Klíčová slova: neplodnost, reprodukční ochrana, analoga GnRH, kryokonzervace ovariální tkáně, vitifikace oocytů.

Fertilits preservation in adolescent women with newly diagnosed cancer

Effective treatment of cancer often causes patients irreversible damage of reproductive abilities. Modern markers ovarian reserves are introduced. These clinical examinations can effectively help to evaluate the risk of irreversible damage of gonadal cells done by oncology disease or its curative treatment. The paper describes current oncofertility techniques implemented to clinical practice – embryo and oocyte banking, ovarian tissue cryopreservation including further possibility of its orthotopic autotransplantation and administration of gonadoliberin analogues for ovarian protection. Attention is applied to pro and contra of previously described methods of ovarian protection in the discussion. Brief practical outcomes and recommendations are given for consultation caretakers in adolescent female cancer patients threatened with significant fertility loss.

Key words: infertility, reproductive protection, GnRH analogues, ovarian tissue cryopreservation, oocyte vitrification.

Onkologie 2014; 8(2): 61–63

Úvod

Rakovina se stává v moderní medicíně onemocněním, které je možné úspěšně a trvale vyléčit. Navzdory využití nejmodernějších metod onkologické léčby může být snaha o vyléčení pacienta vykoupena celou řadou nežádoucích účinků a někdy i trvalých následků. Trvalá ztráta reprodukční schopnosti s často dlouhodobými psychickými dopady na pacienta a jeho kvalitu života představuje jeden ze závažných dlouhodobých následků moderní protinádorové léčby. Je způsobena zejména chemoterapií, radioterapií, operační léčbou nebo nejčastěji kombinací těchto modalit. Předčasná neplodnost a dřívější nástup menopauzy či andropauzy má významný vliv na kvalitu života pacienta a na jeho vnímání sebe sama. Pro pacienta se jedná o podstatný problém, protože většina z nich ve svém produktivním věku očekává normální reprodukční život.

Ukazatele ovariální rezervy

Chemoterapie i radioterapie redukuje tzv. ovariální rezervu, která je hlavním determinujícím faktorem předčasného ovariálního selhání (POS). Pokud dojde v průběhu onkologické léčby ke zničení poloviny všech primordiálních folikulů, klinicky se to nijak neprojeví a žena bude mít opět

pravidelný menstruační cyklus. Bylo by možné říci, že ovaria byla chemoterapií nedotknuta, nicméně opak je pravdou a po několika letech normální funkce vaječníků dojde k nástupu předčasné menopauzy. Klinická i experimentální data ukazují, že u žen po úspěšném ukončení onkologické léčby není vhodné dlouho odkládat období otěhotnění a mateřství příliš dlouho. Takovýmto ženám by mělo být doporučeno zabývat se otázkami naplnění jejich reprodukčního potenciálu do několika let poté, co byly svým onkologem prohlášeny za vyléčené (1).

Nejznámější endokrinní změnou související s věkem ženy je nárůst hladiny **folikulostimulačního hormonu** (FSH) v krvi. Sérová hladina FSH 2.–4. den menstruačního cyklu (tzv. „bazální“ FSH) je známým ukazatelem ovariální rezervy a prediktorem účinnosti ovariální stimulace při léčbě neplodnosti metodami in vitro fertilizace (IVF). Pouze relativně vysoké hodnoty FSH predikují vyčerpání ovariální rezervy a test má tudíž jen omezenou prognostickou cenu. Navíc hodnoty jsou často výrazně odlišné v průběhu několika menstruačních cyklů a ovlivnitelné exogenními faktory a léky (nejčastěji hormonální antikoncepcí).

Glykoproteiny inhibiny (jak napovídá jejich název) potlačují produkci FSH v hypofýze

a jsou produkovány granulózovými buňkami ovaria. Sérová hladina **inhibinu B** dobře koreluje s funkční rezervou antrálních folikulů v ovariu a změny sérových hladin tohoto působku jsou přesnějším a rychlejším ukazatelem poklesu ovariální rezervy než obecně známé bazální hodnoty FSH.

V poslední době mnoho vědecké popularity získal také **anti-Müllerianský hormon** (AMH). Jedná se o glykoprotein produkován granulózovými buňkami preantrálních folikulů v ovariu. V těle je produkován již od prenatalního vývoje plodu až do menopauzy. Bylo zjištěno, že AMH působí v ovariu jako inhibitor folikulogeneze v jejím časném stadiu. Pokles sérové hladiny AMH dobře koreluje se zvyšujícím se věkem ženy a tyto změny je možné sledovat o několik měsíců až let dříve, než u ostatních výše zmíněných hormonálních ukazatelů ovariální funkce.

Pro úplnost ukazatelů funkčnosti ovariální tkáně je také nutné zmínit **počet antrálních folikulů** do 10 mm v průměru měřený vaginální ultrasonografií na počátku menstruačního cyklu. Jedná se o poměrně citlivý a přesný ukazatel ovariální odpovědi na hormonální stimulaci, hojně užívaný v klinické praxi center asistované reprodukce (2).

Konzultace před zahájením onkologické léčby

Pokud je u adolescentní onkologické pacientky dobrá šance na trvalé vyléčení nádorového onemocnění, měla by být jejím onkologem zvážena některá z technik reprodukční ochrany. V **moderní reprodukční medicíně** dnes existují klinické i experimentální metody, jejichž pomocí je možné významným poruchám reprodukce způsobených onkologickou léčbou předejít nebo výrazně zmírnit jejich tíži (3). Tyto techniky asistované reprodukce dnes dokáží významným způsobem přispět k záchraně reprodukčního potenciálu mladých mužů a žen. Každá z těchto metod má však své výhody a limity.

Komplexní ochrana reprodukčních funkcí žen vyžaduje včasnou a úzkou spolupráci onkologického centra s pracovištěm reprodukční medicíny. V praxi je možné tuto součinnost zabezpečit vytvořením mezioborového centra ochrany reprodukce (COR). Naše pracoviště se problematice fertility onkologických pacientů věnuje dlouhodobě a COR byla na Gynekologicko-porodnické klinice LF MU a FN Brno formálně založeno v roce 2009 – viz např. www.ivfbrno.cz/cor.

Klinická praxe v této oblasti vyžaduje rychlou reakci a pomoc celého týmu odborníků ještě před zahájením léčby nádorového onemocnění. Naším pacientům poskytujeme první konzultaci v problematice reprodukční ochrany do 24–48 hodin od prvního telefonického kontaktu. Jsme si vědomi toho, že závažná rozhodnutí ohledně léčby nádorového onemocnění je nutné učinit rychle. Naším cílem je seznámit pacienta s dostupnými možnostmi na záchranu reprodukčních funkcí organismu včetně výsledků a šancí na úspěch a realizovat doporučené metody reprodukční ochrany tak, aby nedošlo ke zpoždění plánované protinádorové léčby. Poskytnutí rady a poznání v oblasti reprodukční ochrany dává pacientovi cennou pomoc k aktivnímu rozhodnutí o vlastní léčbě a je lepší než nevědomost a pasivní přijetí všech důsledků léčby rakoviny.

Techniky reprodukční ochrany, pojem onkofertilita

Otázky fertility onkologických pacientů jsou náplní nového medicínského směru označovaného stále častěji pojmem **onkofertilita**. Tento výstižný termín, navržený v roce 2003 skupinou amerických odborníků na reprodukční medicínu v čele s prof. Teresou K. Woodruff z Northwestern University v Chicagu, se postupně zažil a nyní se již celosvětově používá (4). V českém prostředí je tento pojem poměrně málo známý. Pojem

onkofertilita je definován jako vývoj a klinická aplikace metod reprodukční ochrany u pacientů s onkologickým onemocněním. U mužů je zlatým standardem metoda kryokonzervace spermatu před onkologickou léčbou, která je v ČR běžně nabízena a je již dobře zavedená do povědomí odborné veřejnosti (5, 6). Nové techniky onkofertility se ovšem rozvíjí také u žen. Mezi moderní postupy dnes řadíme zejména embryologické kryokonzervační metody uchovávání embryí, oocytů nebo ovariální tkáně. Do klinické praxe také postupně proniká protektivní aplikace analog gonadoliberinu (GnRH-a) během systémové onkologické léčby. Mezi dosud experimentální metody patří také proces in vitro kultivace ovariálních folikulů s cílem vytvořit v laboratorních podmínkách haploidní oocyt kompetentní k fertilizaci.

Kryokonzervace embryí

Kryokonzervace nadbytečných embryí, které nebudou transferovány do dělohy, je rutinním postupem v moderní reprodukční medicíně. První těhotenství po transferu zamražených a rozmražených embryí (tzv. kryoembryotransferu, KET) na světě bylo popsáno v roce 1983 (7). Česká republika také nezaostala za světem a prvního těhotenství po KET bylo dosaženo na Gynekologicko-porodnické klinice LF MU v Brně v březnu roku 1994 (8). V posledním desetiletí jsou tyto postupy používány také k záchraně fertility žen, které onemocní rakovinou a vyžadují náročnou gonadotoxickou léčbu. Ke kryokonzervaci se zpravidla používají programovatelné mrazicí přístroje. V posledních letech se stále více prosazuje v embryologii technika ultra-rychlého ochlazení tzv. **vitrifikace**. Vitrifikace znamená přechod roztoku do pevného skupenství bez tvorby ledových krystalů. Proces lze docílit ponořením vzorku přímo do tekutého dusíku o teplotě -196°C , kdy dochází k ultra-rychlému poklesu teploty rychlostí až $20\,000^{\circ}\text{C}/\text{min}$. Úspěšnost této metody je ve srovnání s klasickými technikami pomalého mražení velmi dobrá. Procento přežití vitrifikací uchovaných embryí je významně vyšší ve srovnání s klasickými technikami (89,4% versus 63,8%). Procento dosažených těhotenství (implantation rate) na embryotransfer takto uchovaných embryí je se pohybuje mezi 20–40% (9). K její úspěšné realizaci v běžné klinické praxi jsou ovšem nutné minimálně 2–3 týdny času. Většina mladých onkologických pacientek bohužel nemá před zahájením chemoterapie tolik času. Dále je zde nutná ovariální stimulace nejčastěji gonadotropiny, která může být kontraindikována u některých hormon-dependetních nádorů. K úspěšné fertilizaci oocytů získaných po ovariální stimulaci je nutné využí-

tí spermií partnera pacientky. Pokud pacientka partnera nemá, není možné tuto metodu použít. Oocyty jsou použity k embryotransferu zpravidla až několik let po jejich oplození. V této době může být partnerská situace ženy žádající o provedení embryotransferu naprosto odlišná od doby při oplození embryí. Embryotransfer v takovém případě není možné realizovat (10). Pacientka by na zmíněné legislativě-etické úskalí metody kryokonzervace embryí měla být upozorněna již při pohovoru o možnostech reprodukční ochrany v době diagnózy onkologického onemocnění.

Kryokonzervace oocytů

Technika kryokonzervace oocytů (KO) doznala v posledních letech řady inovací, které významně zvýšily její úspěšnost a zařadily tento postup do klinické praxe (11). Metoda byla na dlouhou dobu opuštěna pro svou nízkou úspěšnost ve srovnání s kryokonzervací embryí. Nový zájem o tuto technologii byl vyprovokován také v důsledku jejího klinického potenciálu v oblasti onkofertility. S využitím moderních kryokonzervačních postupů (zejména vitrifikace) lze dosáhnout velmi dobrých výsledků v přežívání i schopnosti oplození takto uchovávaných oocytů. Procento klinických gravidit po transferu embryí vzniklých po oplození dříve vitrifikovaných oocytů se pohybuje mezi 50–65% (12). Možnost uchovávání lidských oocytů má velký význam nejen pro onkologické pacientky. Kryokonzervace oocytů přináší velký komerční potenciál také u jinak zdravých žen rozhodnutých posunout své mateřství do pozdějšího věku. Také v České republice již dnes existují povětšinou privátní zařízení, které tyto techniky ženám za úplaty nabízí. Nevýhodou této techniky nadále zůstává nutnost ovariální stimulace a odsunutí zahájení onkologické léčby o několik týdnů.

Kryokonzervace ovariální tkáně

Kryokonzervace ovariální tkáně (KOT) představuje jedinou možnost reprodukční ochrany u pacientek, u nichž nelze oddalovat zahájení onkologické léčby pro riziko progresu základního onemocnění. Hlavním cílem této strategie je zachovat tkáň ovariálního kortexu obsahující primordiální folikuly do doby, kde je onkologické onemocnění pacientky trvale vyléčeno nebo je v dlouhodobé klinické remisi (13). Kryokonzervovaná tkáň může být po rozmražení buď transplantována zpět do organismu ženy, nebo využita jako zdroj primordiálních folikulů k jejich kultivaci in vitro (14). Největší klinické zkušenosti existují s kryokonzervací a následnou ortotopickou auto-transplantací fragmentů (proužků) ovariálního kortexu (15). První porod zdravého dítěte po **transplantaci zamraže-**

né ovariální tkáň popsal Belgičan Donnez v roce 2004 u 25leté ženy dříve léčené chemoradioterapií pro Hodgkinův lymfom v pokročilém stadiu (16). V současné době existují ve světě již řádově stovky vyléčených onkologických patientek, které naplnily své mateřské touhy za pomoci metody KOT (17). Transplantovaná ovariální tkáň nemůže dlouhodobě zajistit menstruační či dokonce ovulačního cyklus. Transplantace ovariální tkáň je prováděna s cílem zajistit fertilitu ženy po onkologické léčbě. Nemůže zatím sloužit k dlouhodobému zajištění produkce ovariálních steroidů u žen s předčasným ovariálním selháním po chemoterapii (18).

Zajímavá je také myšlenka využití laboratorních zvířat jako inkubačních médií k maturaci lidské ovariální tkáň. Imonodeficientní myši jsou nejčastěji využívány jako recipientní organizmy při xeno-transplantaci lidské ovariální tkáň. O kvalitě a reprodukčním potenciálu lidských oocytů získaných po xenotransplantaci existuje ovšem jen málo literárních údajů. Je ovšem jasné, že i v případě klinického úspěchu, vyvolává tento způsob uchovávání a maturace lidských zárodečných buněk celou řadu právních a etických otázek (19).

Prevence ovariálního poškození pomocí analog gonadoliberinu

Za normálních okolností 99 % všech oocytů vytvořených během gametogeneze degeneruje v průběhu života ženy procesem apoptózy. Apoptóza folikulů v ovariu je regulována celou řadou mechanismů (20). Na její regulaci se podílí také hypothalamo-hypofyzární systém a jeho hormonální produkty (21). Řada studií se zabývala potencionálně protektivním účinkem analog gonadoliberinu (GnRH-a) na ovariální folikuly vystavené nepříznivému vlivu chemoterapie. Protektivní vliv aplikace GnRH analog byl opakovaně prokázán na animálních modelech (22). Také četné humánní studie včetně prospektivních randomizovaných prací prokázaly příznivý vliv aplikace GnRH analog v průběhu chemoterapie na funkci vaječníků a statisticky signifikantní snížení rizika předčasného ovariálního selhání (23, 24, 25). Při analýze rizika předčasného ovariálního selhání v závislosti na cytotoxicitě použitého režimu chemoterapie, byly výsledky statisticky signifikantně lepší u méně agresivních léčebných protokolů (26). Závěry naposledy publikované metaanalýzy dosud publikovaných dat na toto téma ukazují pozitivní efekt aplikace GnRH analog na fertilitu ženy, nicméně tyto data je vhodné do budoucna podpořit dalšími randomizovanými studiemi, které zohlední funkci ovarí po více než pěti letech, procento spontánních koncepcí a nežádoucí efekty této podpůrné léčby (27).

Závěr

Každá z výše uvedených metod ochrany reprodukčních funkcí má své výhody a limity. K výběru vhodné metody reprodukční ochrany je nezbytně nutný vysvětlující pohovor s pacientkou a případně i jejím parterem časně po stanovení diagnózy maligního onemocnění, ale ještě před zahájením vlastní onkologické léčby. V některých případech je možné současné onkofertilitní techniky kombinovat s cílem zvýšit šance na budoucí fertilitu pacientky. Během indikace optimální strategie ovariální protekce je nutné dobře vyhodnotit zejména následující faktory: onkologická diagnóza a stadium onemocnění, plán onkologické léčby (modalita, typ, dávka, délka), věk pacientky, gynekologická anamnéza (parita, menstruační cyklus), předchozí onkologická léčba, celkový stav pacientky, psychická kondice a možné riziko ovariální infiltrace nádorem (28).

Literatura

- Huser M, Crha I, Záková J, Ventruba P. Proces reprodukčního stárnutí ženy, jeho příčiny a možnosti ovlivnění v praxi. *Ceská Gynekol. Česká Lékařská Společnost J Ev Purkyne* 2010; 75: 353–358.
- Huser M, Smardová L, Ventruba P, Mayer J. Vliv onkologické léčby na lidskou reprodukci. *Klin. Onkol. Cas. České Slov. Onkol. Společnosti* 2010; 23: 165–170.
- Anderson RA, Weddell A, Spoudeas HA, Douglas C, Shalet SM, Levitt G, et al. Do doctors discuss fertility issues before they treat young patients with cancer? *Hum. Reprod. Oxf. Engl.* 2008; 23: 2246–2251.
- Woodruff TK. The Oncofertility Consortium—addressing fertility in young people with cancer. *Nat. Rev. Clin. Oncol.* 2010; 7: 466–475.
- 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; 91: 2344–2348.
- Zakova J, Lousova E, Ventruba P, Crha I, Pochopova H, Vinklárková J, et al. Sperm cryopreservation before testicular cancer treatment and its subsequent utilization for the treatment of infertility. *Sci. J.* 2014; vol. 2014: 1–9.
- Trounson A, Mohr L. Human pregnancy following cryopreservation, thawing and transfer of an eight-cell embryo. *Nature* 1983; 305: 707–709.
- Ventruba P, Mardesic T, Pilka L, Crha I, Visnová H, Hudecek R. Národní registr asistované reprodukce: Výsledky a analýza komplikací. *Ceská Gynekol. Česká Lékařská Společnost J Ev Purkyne* 1998; 63: 107–110.
- Fasano G, Fontenelle N, Vannin A-S, Biramane J, Devreker F, Englert Y, et al. A randomized controlled trial comparing two vitrification methods versus slow-freezing for cryopreservation of human cleavage stage embryos. *J. Assist. Reprod. Genet.* 2013.
- Bedoschi G, Oktay K. Current approach to fertility preservation by embryo cryopreservation. *Fertil. Steril.* 2013; 99: 1496–1502.
- Liu KE, Greenblatt EM. Oocyte cryopreservation in Canada: a survey of Canadian ART clinics. *J. Obstet. Gynaecol. Can. JOGC J. Obstétrique Gynécologie Can. JOGC* 2012; 34: 250–256.
- Cil AP, Seli E. Current trends and progress in clinical applications of oocyte cryopreservation. *Curr. Opin. Obstet. Gynecol.* 2013; 25: 247–254.
- Huser M, Záková J, Crha I, Smardová L, Král Z, Revel A, et al. Kryokonzervace ovariální tkáň u onkologických patientek – 6 let klinických zkušeností. *Ceská Gynekol. Česká Lékařská Společnost J Ev Purkyne* 2012; 77: 118–126.

- Hovatta O. Methods for cryopreservation of human ovarian tissue. *Reprod. Biomed. Online* 2005; 10: 729–734.
- Huser M, Crha I, Hudecek R, Ventruba P, Zakova J, Smardova L, et al. Ovarian tissue cryopreservation—new opportunity to preserve fertility in female cancer patients. *Eur. J. Gynaecol. Oncol.* 2007; 28: 249–255.
- Donnez J, Dolmans MM, Demille D, Jadoul P, Pirard C, Squifflet J, et al. Livebirth after orthotopic transplantation of cryopreserved ovarian tissue. *Lancet* 2004; 364: 1405–1410.
- Herraiz S, Novella-Maestre E, Rodríguez B, Díaz C, Sánchez-Serrano M, Mirabet V, et al. Improving ovarian tissue cryopreservation for oncologic patients: slow freezing versus vitrification, effect of different procedures and devices. *Fertil. Steril.* 2013.
- Andersen CY, Kristensen SG, Greve T, Schmidt KT. Cryopreservation of ovarian tissue for fertility preservation in young female oncological patients. *Future Oncol. Lond. Engl.* 2012; 8: 595–608.
- Kim SS, Kang HG, Kim NH, Lee HC, Lee HH. Assessment of the integrity of human oocytes retrieved from cryopreserved ovarian tissue after xenotransplantation. *Hum. Reprod. Oxf. Engl.* 2005; 20: 2502–2508.
- Jin X, Xiao L-J, Zhang X-S, Liu Y-X. Apoptosis in ovary. *Front. Biosci. Sch. Ed.* 2011; 3: 680–697.
- Metallinou C, Asimakopoulos B, Schröer A, Nikolettos N. Gonadotropin-releasing hormone in the ovary. *Reprod. Sci. Thousand Oaks Calif* 2007; 14: 737–749.
- Ataya K, Rao LV, Lawrence E, Kimmel R. Luteinizing hormone-releasing hormone agonist inhibits cyclophosphamide-induced ovarian follicular depletion in rhesus monkeys. *Biol. Reprod.* 1995; 52: 365–372.
- 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 J. Am. Med. Assoc.* 2011; 306: 269–276.
- 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. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* 2013; 31: 903–909.
- 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; 95: 906–914. e1–4.
- Huser M, Crha I, Ventruba P, Hudecek R, Zakova J, Smardova L, et al. Prevention of ovarian function damage by a GnRH analogue during chemotherapy in Hodgkin lymphoma patients. *Hum. Reprod. Oxf. Engl.* 2008; 23: 863–868.
- 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; CD008018.
- Huser M, Zakova J, Smardova L, Crha I, Janku P, Hudecek R, et al. Combination of fertility preservation strategies in young women with recently diagnosed cancer. *Eur. J. Gynaecol. Oncol.* 2012; 33: 42–50.

Článek přijat redakcí: 28. 1. 2014

Článek přijat k publikaci: 1. 4. 2014

doc. MUDr. Martin Huser, Ph.D.

Gynekologicko-porodnická klinika LF MU a FN Brno
Jihlavská 20, 625 00 Brno
martin.huser@gmail.com