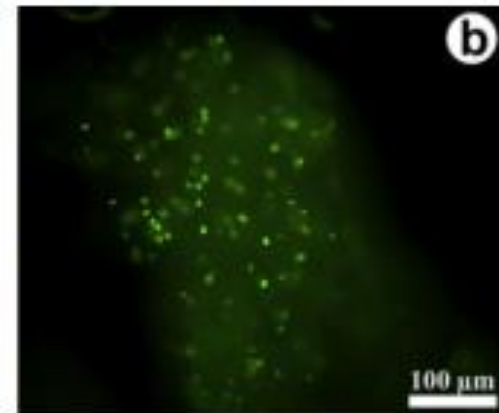
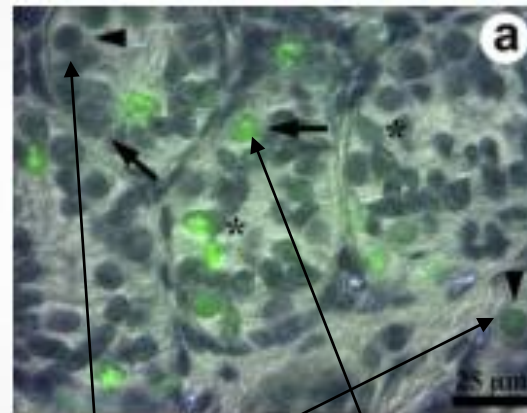
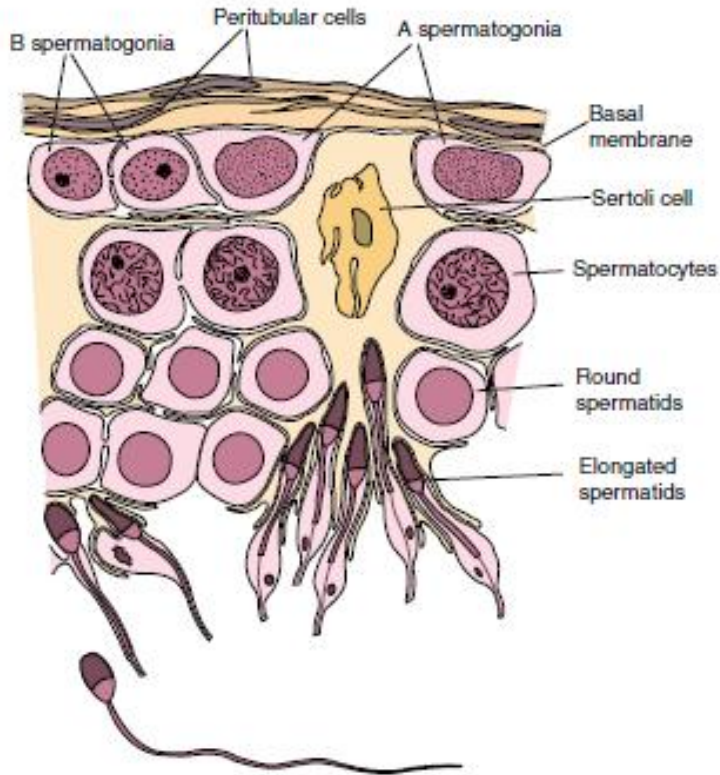


Oncofertility: επίδραση της νεοπλασίας και των αντινεοπλασματικών θεραπειών στην ανδρική γονιμότητα (40)

Δρ. Ιωάννης Βακαλόπουλος FEBU, FECSM
Αν. καθηγητής Ουρολογίας Ανδρολογίας
ΑΠΘ

Καμία σύγκρουση συμφερόντων

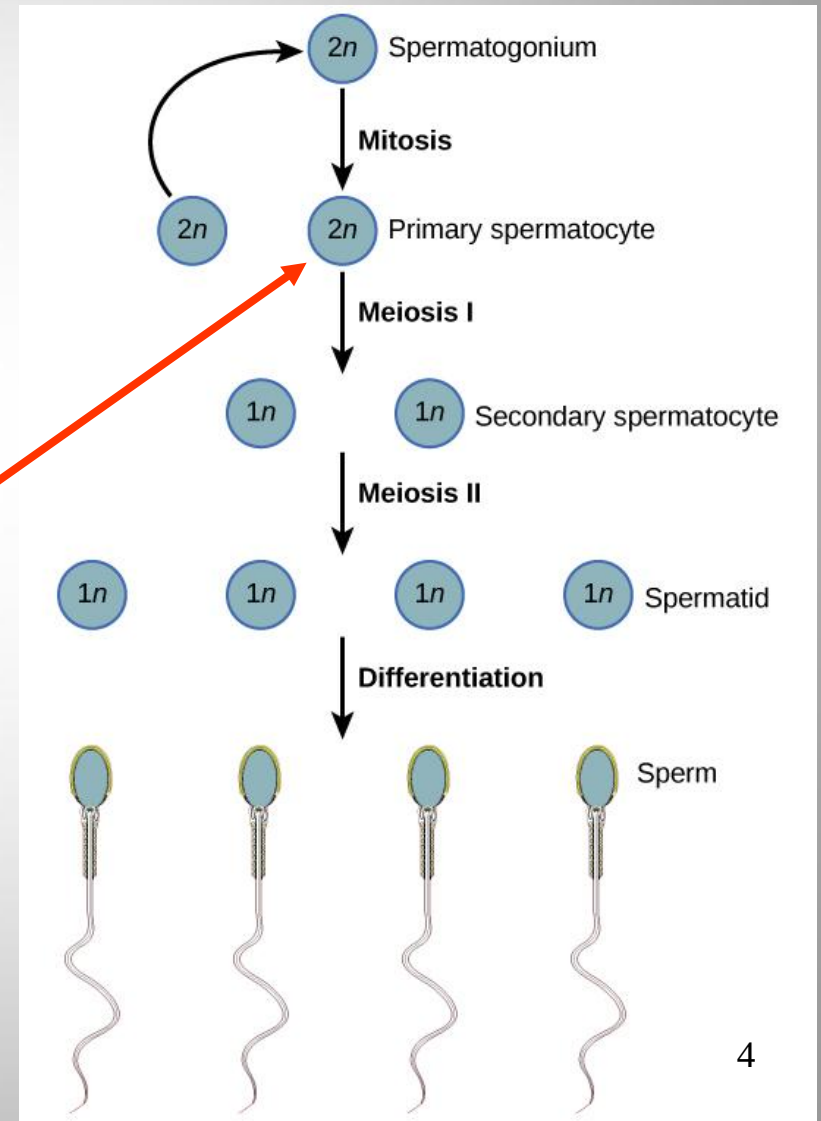
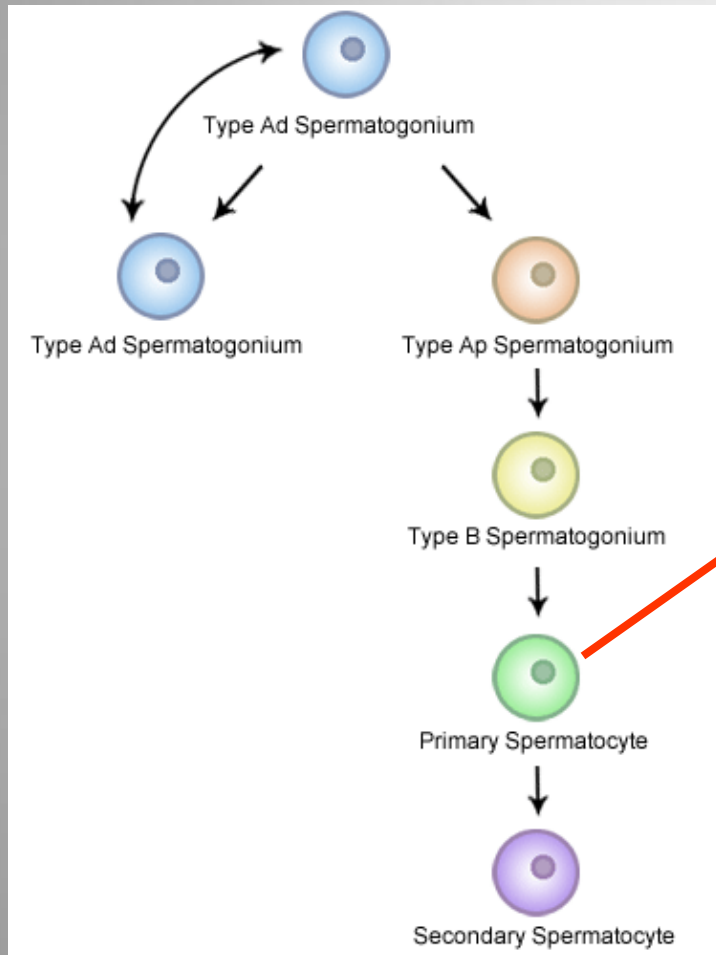
Εντόπιση των σπερματογονίων στο ορχικό σωληνάριο



Prepubertal SSC
proliferation

Gilbert et al., 2003

Σπερματογένεση



Οι συστηματικές κακοήθειες επηρεάζουν τη γονιμότητα πριν τη θεραπεία

- Συστηματική φλεγμονή μέσω ανοσοαντιδράσεων (ενεργοποιημένες κυτοκίνες, αντισπερμικά αντισώματα, πυρετός)
- Κακή θρέψη
- Ορμονικές μεταβολές (έκκριση hCG , διήθηση του ΚΝΣ, ανώμαλη ορμονική ρύθμιση, έκκριση ορμονών stress)
- Ορχική δυσλειτουργία (Διήθηση, ορχικά καρκινώματα και κυρίως germ cell tumors και νόσος Hodgkin, όπου εμφανίζονται συχνά χρωματοσωμική ανευπλοϊδικότητα)

Dohle GR. Int. J Urol 2010;17:327.

Sabanegh Jr ES, Ragheb AM. Urol 2009;73:225.

Hallak J et al. Cancer 1999;85:1973.

Tempest et al. Hum Reprod. 2008;23:251.

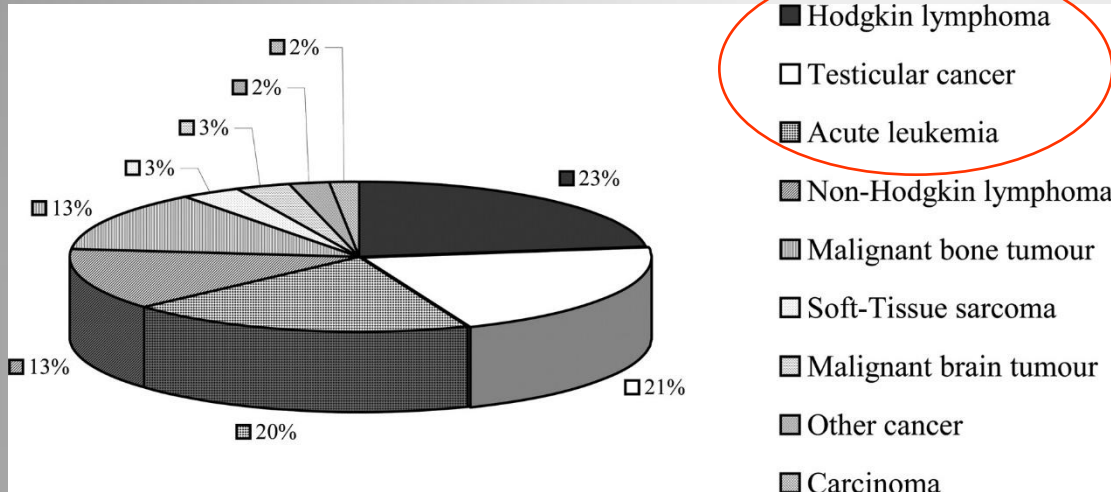
Ανωμαλίες σπέρματος σε νόσο Hodgkin προ θεραπείας

Author	Year	n	Normospermia n / (%)	Dyspermia n / (%)
Chapman [7]	1981	37	11 (38)	26 (62)
Vigersky [10]	1982	19	6 (31)	13 (69)
Whitehead [11]	1982	19	7 (36)	12 (63)
Hendry [23]	1983	49	13 (26)	36 (73)
Ragni [12]	1985	35	9 (25)	26 (75)
Vivianni [31]	1988	81	37 (46)	43 (54)
Vivianni [13]	1991	92	30 (33)	62 (67)
Agarwal [19]	1996	39	11 (28)	28 (71)
Rüffer	2001	158	47 (30)	111 (70)

	No of patients	(%)
Normospermia	47	30
Dyspermia	111	70
Severe damage	33	21
Azoospermia	13	8
Oligoasthenoteratozoospermia (OAT)	20	13
Combined damage	40	25
Oligosthenozoospermia (OA)	20	12
Oligoteratozoospermia (OT)	3	2
Asthenoteratozoospermia (AT)	17	11
Single damage	38	24
Oligozoospermia (O)	15	9
Asthenozoospermia (A)	19	12
Teratozoospermia	4	3

- Προγνωστικοί παράγοντες υπογονιμότητας: Ταχύτητα καθίζησης ερυθρών και προχωρημένο στάδιο νόσου
- Δεν υπάρχει συσχέτιση με τα επίπεδα των γοναδοτροπινών πριν τη θεραπεία

Ποσοστό κακοηθειών σε ασθενείς, που έδωσαν σπέρμα για κρυοκατάψυξη



n=156

Menon S. et al, Hum Reprod. 2009;24:37

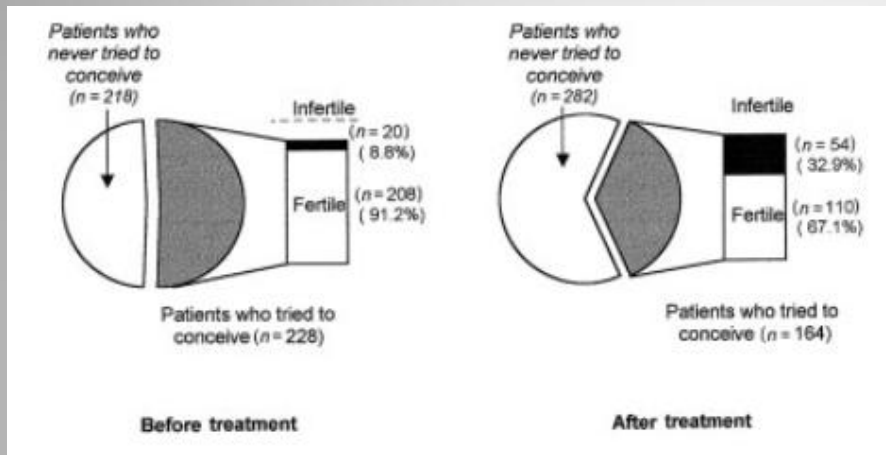
Table 2
Types of cancer

Testicular cancer	42 (26%)
Hodgkin's lymphoma	35 (21%)
Leukemia	23 (13%)
Gastrointestinal	15 (9%)
Prostate	8 (5%)
Non-Hodgkin's lymphoma	8 (5%)
Brain	7 (4%)
Genito-urinary	5 (3%)
Sarcoma	5 (3%)
Lung	3 (2%)
Thyroid	1
Melanoma	1
Aplastic	1
Breast	1
Liver	1
Thymus	1
Spine	1
Unspecified	6 (4%)

n=164

K. Chung et al. Eur J Obst Gyn Rep Biol. 2004;113S:S7

Ορχικός καρκίνος και υπογονιμότητα πριν τη θεραπεία



Fertility status before and after treatment for testicular cancer (n=446)

Hughe et al. Cancer 2004;100(4):732

- Παρουσία υπογονιμότητας στο 10%-35% και ειδικά αζωοσπερμίας στο 6%-24% των ασθενών με TGCT
- Η διαταραχή της σπερματογένεσης προϋπάρχει και στον άλλο όρχη
- Πιθανή δυσλειτουργία των κυττάρων Leydig (Αυξημένη hCG ενδοορχικά προάγει την ενδοορχική αύξηση τεστοστερόνης και οιστρογόνων καταστέλλοντας την LH, όπως συνήθως ανιχνεύεται)

Ορχικός καρκίνος και υπογονιμότητα πριν τη θεραπεία

- Βλάβη του ιστικού μικροπεριβάλλοντος και άλλων παρακρινικών λειτουργιών, αύξηση της ενδοορχικής θερμοκρασίας, αντισπερμικά αντισώματα, διαταραχές στην τοπική ροή του αίματος, διαταραχές υποθαλαμο-υποφυσιακού άξονα από έκκριση ορμονών από τον όγκο .
 - *Κρυσορχία*
 - *Σύνδρομο γοναδικής δυσγενεσίας*
 - *Υποσπαδίας*
- } Κληρονομικότητα, ενδομήτρια βλαπτική έκθεση
- Ορχικές μικροαποτιτανώσεις (0,6%-9% αυτών, που υποβάλλονται σε echo όρχεων, σχετίζεται με ορχική δυσγενεσία, συνύπαρξη με Ca όρχεως 6%-46%, προκαρκινική κατάσταση)

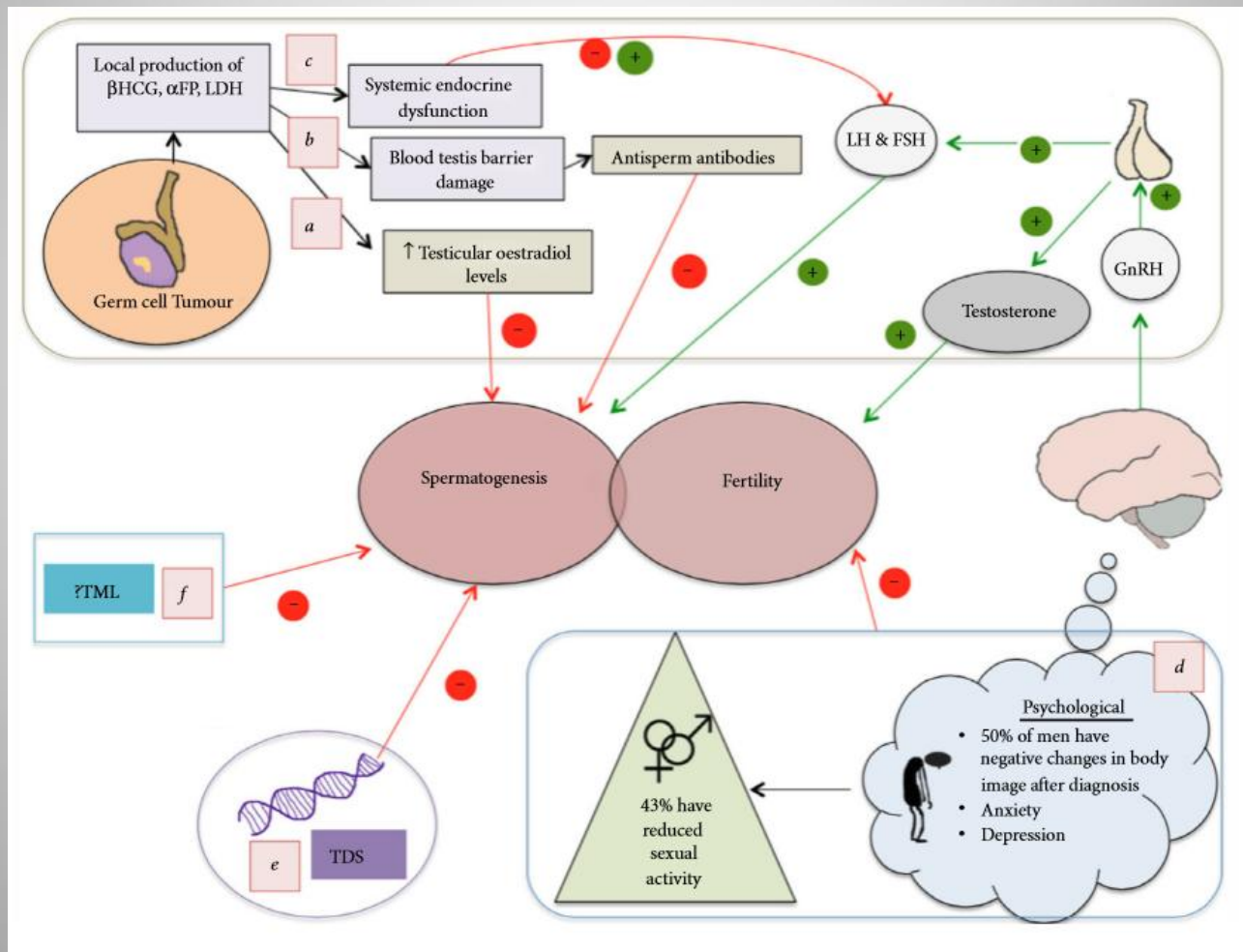
Hughe et al. Cancer 2004;100(4):732, Giwerzman, A., et al. Semin Urol, 1988. 6: 110

Petersen, P.M., et al. J Clin Oncol, 1999. 17: 941, Moody JA et al, 2019. 123: 160-172

Ορχικές μικροαποτιτανώσεις

Σύσταση προσεκτικής αυτοεξέτασης	Αδύναμη
Όχι βιοψία σε ασθενείς, που δεν είναι υψηλού κινδύνου, αλλά μόνο παρακολούθηση με echo, δείκτες και ενίοτε CT (υπογονιμότητα, κρυπορχία, ορχικός καρκίνος, ατροφία όρχεων)	Δυνατή
Σύσταση βιοψίας σε ασθενείς με σπερματογεννητική ανεπάρκεια-αζωοσπερμία, αμφοτερόπλευρες μικροαποτιτανώσεις, ατροφία όρχεων (κάτω από 12cc), κρυπορχία και ιστορικό TGCT.	Δυνατή
Σε περίπτωση ύποπτων ευρημάτων στο echo ή στην εξέταση συστήνεται χειρουργική διερεύνηση και βιοψία ή ορχεκτομή.	Δυνατή
Παρακολούθηση των ασθενών με TGCT λόγω υψηλού κινδύνου εμφάνισης υπογοναδισμού ή σεξουαλικής δυσλειτουργίας.	Δυνατή
EAU Guidelines 2019	

Ορχικός καρκίνος και υπογονιμότητα πριν τη θεραπεία



Επίδραση της αντικαρκινικής θεραπείας στη γονιμότητα

- Χειρουργική θεραπεία
- Ακτινοθεραπεία
- Χημειοθεραπεία
- Ανοσοθεραπεία και άλλες
φαρμακοθεραπείες
- Συνδυασμοί

Χειρουργική θεραπεία

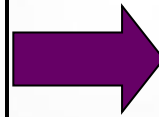
- Ριζική ορχεκτομή (50% καθίστανται ολιγοσπερμικοί και 10% αζωοσπερμικοί, ωστόσο 65% τεκνοποιούν.

Προγνωστική η FSH

Petersen et al. J Urol. 1999;161:822

Herr et al. J Clin Oncol.1998;16:733

- RPLND
- Αυχενотоμή (BNI)
- Ριζική προστατεκτομή
- Ριζική κυστεοπροστατεκτομή
- Κοιλιοπερινεϊκή εντερεκτομή
- Πυελική εξεντέρωση



- Βλάβη της αυτόνομης πυελικής νεύρωσης
- Ανεπάρκεια κυστικού αυχένα
- Αφαίρεση των σπερματοφόρων δομών



- Παλίνδρομη εκσπερμάτιση/Απουσία εκσπερμάτισης
- Στυτική δυσλειτουργία
- Ασπερμία

Η τοξικότητα της ακτινοθεραπείας εξαρτάται από:

ΔΟΣΗ

- Διαταραχές σπέρματος 0,1-1,2 Gy
- Μόνιμη αζωοσπερμία $\geq 2,5\text{Gy}$ (ενήλικες)
- Μόνιμη αζωοσπερμία $\geq 6\text{Gy}$ (προεφηβικά)
- Τα κύτταρα Leydig αντέχουν ως 24-30 Gy

ΚΛΑΣΜΑΤΟΠΟΙΗΣΗ

- Βλαπτικότερη από μονήρη δόση
- Μόνιμη αζωοσπερμία in $\geq 1,2-2,5\text{Gy}$

ΠΕΔΙΟ

- TBI: Αζωοσπερμία στο 85% 10-13Gy

Το nadir εμφανίζεται στους 6 μήνες

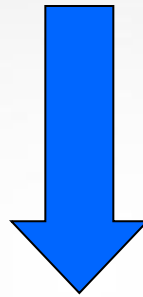
Ståhl et al. Hum Reprod. 2006;21:3199

Shalet et al. J Endocrinol. 1989;120:161

Anserini et al. Bone Mar Transpl 2002;30:447

Munoz et al. Clin Transl Oncol (2016) 18:1229–1236

Η τοξικότητα της χημειοθεραπείας εξαρτάται από:

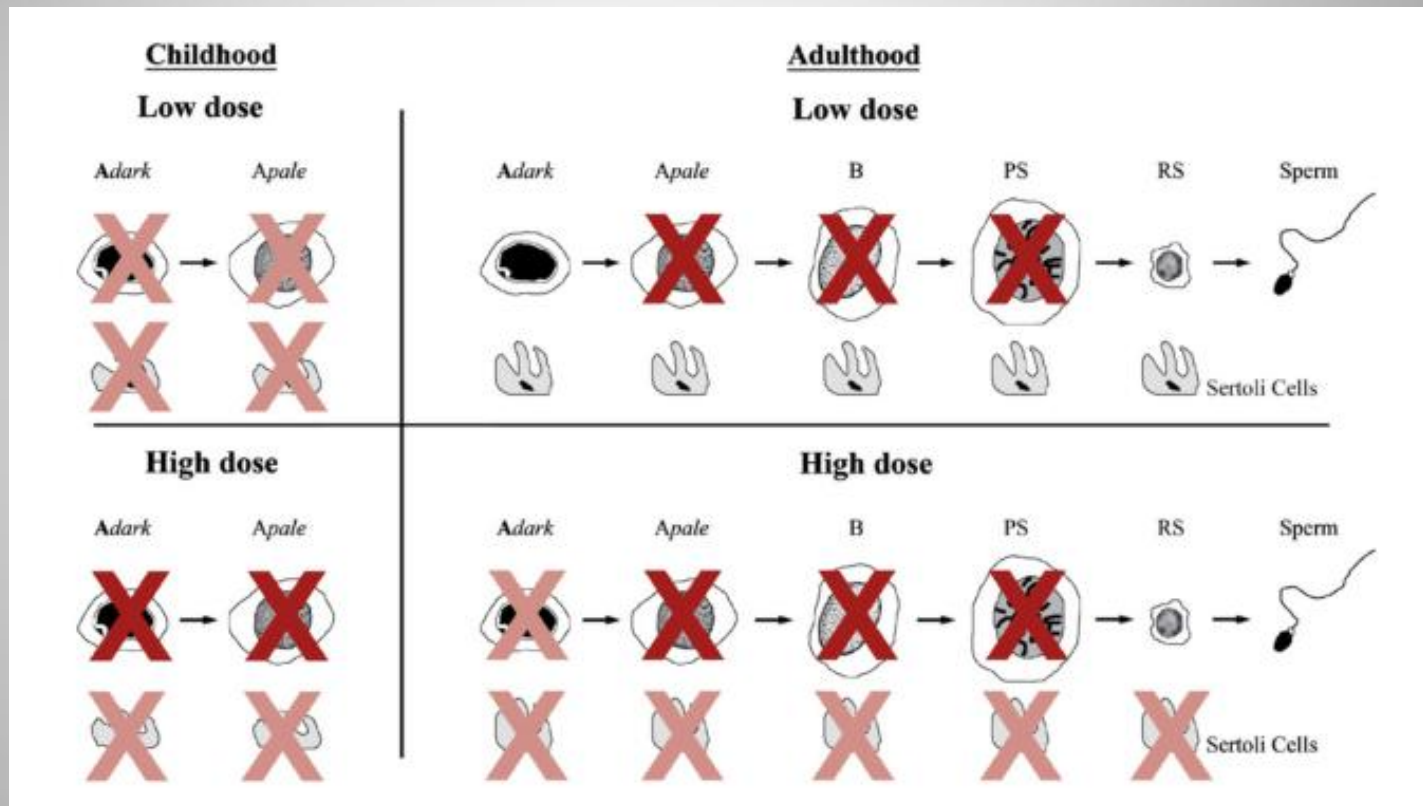


ΦΑΡΜΑΚΑ	ΔΟΣΕΙΣ	ΣΥΝΔΥΑΣΜΟΙ	ΚΛΑΣΜΑΤΟΠΟΙΗΣΗ
• Αλκυλιωτικοί παράγοντες • Πλατίνες		• Δυσκολία στο καθορισμό της τοξικότητας του κάθε φαρμάκου	Περισσότερο επιβλαβής

Waxman et al. Br Med J.1982;285:1612.

Nurmio et al. J Clin Endocrinol Metab. 2009;94:2119.

Γοναδοτοξικότητα ακτινο και/ή χημειοθεραπείας



Το προεφηβικό status σπερματογένεσης δεν προστατεύει πλήρως το αναπαραγωγικό δυναμικό

Group	Agent	Mode of Action	Degree of Gonadotoxicity
Alkylating agents	Chlorambucil Cyclophosphamide Procarbazine Melphalan Carmustine Lomustine Busulfan Ifosfamide	Addition of alkyl groups to DNA, altering DNA structure and function	Prolonged azoospermia Azoospermia in adulthood after treatment before puberty Azoospermia likely, but always given with other highly sterilizing agents
	Platinum analogs Cisplatin Carboplatin	Formation of DNA adducts, DNA interstrand cross-links	Prolonged azoospermia Prolonged azoospermia not often observed at indicated doses
Antibiotics	Actinomycin-D	Binding to DNA inhibiting RNA synthesis	Azoospermia likely, but always given with other highly sterilizing agents
	Doxorubicin (Adriamycin)	Triggering of topoisomerase II-dependent DNA	Can be additive with above agents in causing prolonged azoospermia, but causes only temporary reductions in sperm count when used solo
	Bleomycin	Single- and double-strand breaks in DNA	Only temporary reductions in sperm count at doses used in conventional regimens, but additive effects are possible
Antimetabolites	Fluorouracil	Pyrimidine analog	Only temporary reductions in sperm count at doses used in conventional regimens, but additive effects are possible
	6-Mecaptopurine	Purine analog	Only temporary reductions in sperm count at doses used in conventional regimens, but additive effects are possible
	Thioguanine	Purine analog	Only temporary reductions in sperm count at doses used in conventional regimens, but additive effects are possible
	Methotrexate	Antifolate	Only temporary reductions in sperm count at doses used in conventional regimens, but additive effects are possible
Plant derivatives	Vincristine Vinblastine	Inhibition of formation of microtubules	Can be additive with above agents in causing prolonged azoospermia, but causes only temporary reductions in sperm count when used solo
	Etoposide	Inhibition of topoisomerase II activity	Only temporary reductions in sperm count at doses used in conventional regimens, but additive effects possible
Miscellaneous	Prednisone Interferon- α	Inhibition of RNA synthesis Stimulation of macrophages and natural killer cells	Unlikely to affect spermatogenesis No effects on spermatogenesis

Giwerzman A, Petersen PM.
Best Pract Res Clin
Endocrinol Metab.2000;14:
453
Lee et al. 2006;24:2917

Δόσεις γοναδοτοξικών φαρμάκων

Gonadotoxic chemotherapy agents.

High or moderate risk		Low risk	
Non-cell cycle specific drugs		Cell cycle specific drugs	Non-cell cycle specific drugs
Drug	Cumulative dose for effect (prolonged azoospermia)	Drug	Drug
<i>Alkylating agents</i> • Cyclophosphamide 19 g/m² • Busulphan 600 mg/kg • Melphalan 140 mg/m² • BCNU • CCNU • Chlorambusil 1.4 g/m² • Ifosfamide 42 g/m² • Procarbazine 4 g/m² <i>Platinum agents</i> • Cis-platinum 600 mg/m² <i>Mechanisms of action:</i> • Direct DNA and RNA damage • Induction of apoptosis		<i>Antimetabolites</i> • Methotrexate • Mercaptopurine <i>Vinca alkaloids</i> • Vincristine • Vinblastine <i>Podophyllotoxins</i> <i>Asparaginase</i>	<i>Antitumour antibiotics</i> • Bleomycin • Dactinomycin
		<i>Mechanisms of action:</i> • DNA and RNA synthesis inhibition • Inhibition of mitosis • Deamination of proteins	<i>Mechanisms of action:</i> • Induction of DNA strand breaks

Jahnukainen et al. Best Pract Res Clin Endocrin Metab.2011;25:287

Κίνδυνος εμφάνισης παρατεταμένης-μόνιμης αζωοσπερμίας

Risk of infertility	Males
High risk (>80% risk of permanent amenorrhea in women; prolonged azoospermia in men)	Radiation >2.5 Gy to testis Chlorambucil (1.4 g/m ²) Cyclophosphamide (19 g/m ²) Procarbazine (4 g/m ²) Melphalan (140 mg/m ²) Cisplatin (500 mg/m ²) BCNU (1 g/m ²) and CCNU (500 mg/m ²)
Intermediate risk (40– 60% risk of permanent amenorrhea in women; likelihood of azoospermia in men)	Busulfan (600 mg/kg) Ifosfamide (42 g/m ²) BCNU (300 mg/m ²) Nitrogen mustard Actinomycin D

Άλλες βιολογικές θεραπείες

• Tyrosine kinase growth factor receptor inhibitors	Imatinib	Minor effects on Spermatogenesis except during puberty
• Antiangiogenic agents that bind VEGF or block its receptor		-
• mTOR (involved in growth signaling) inhibitors	Sirolimus	Decrease in Testosterone and increase of FSH,LH
• Histone deacetylase (HDAC) inhibitors	Vorinostat	No effects
• Retinoids		-
• Proteasome inhibitors		-
• Immunomodulating (suppressive or stimulatory) agents	Alemtuzumab	May be immobilizes sperm
• Tumor-specific monoclonal antibodies delivering toxins or radiation	I ¹³¹ tositumomab	High doses of radiation to the testis > 20Gy

Πόσο ασφαλές είναι το σπέρμα μετά την αντικαρκινική θεραπεία?

- Οι βλάβες του DNA και των χρωματοσωμάτων στα όψιμα στάδια της σπερματογένεσης θα δημιουργήσουν γεννητικά ελαττωματικό σπέρμα, το οποίο μπορεί να είναι γόνιμο και οι ανωμαλίες να μεταφερθούν στο έμβρυο κυρίως μετά από ICSI. Ευτυχώς η διάρκεια τους δεν ξεπερνά τους 3 μήνες.
- Οι βλάβες του DNA στα πρώιμα στάδια της σπερματογένεσης θα επιδιορθωθούν ή θα προκαλέσουν απόπτωση. Ωστόσο, εάν επιμένουν θα παραμείνουν μόνιμα ως επιγενετικά χαρακτηριστικά.
- Για λόγους ηθικής οι μελέτες επιζώντων από καρκίνο περιλαμβάνουν ζευγάρια, που τεκνοποίησαν τουλάχιστον 18-24 μήνες μετά τη θεραπεία, όπου το ποσοστό συγγενών ανωμαλιών των εμβρύων είναι το ίδιο με το γενικό πληθυσμό.
- Αναφέρονται cases reports με συνδακτυλία, τετραλογία του Fallot και ανεγκεφαλία

Πρόληψη

- Μολύβδινη επικάλυψη ή εξαίρεση των όρχεων από το ακτινοθεραπευτικό πεδίο
Wallace et al. Lancet Oncol 2005; 6: 209

- Επιλογή λιγότερων γοναδοτοξικών χημειοθεραπειών
Nonalkylating agent combination: adriamycin, bleomycin,vinblastine dacarbazine for HD:
90% sperm recovery in 1-5 years and 61% 5yrs FFS rate vs classic MVPP with 14% sperm recovery and 50% 5FFS
Fosså SD and Magelssen H. Ann Oncol. 2004;15(suppl 4):iv259

- Τεκνοποίηση μετά 18-24 μήνες μετά το τέλος της θεραπείας
Choy and Brannigan. 2013 Fertility Sterility;100(5):1187

- Ανίχνευση ανευπλοϊδιών (FISH) και DNA Fragmentation Index (SCSA,TUNEL,Comet) μετά τη θεραπεία
Καθυστέρηση σύλληψης μέχρι να βελτιωθούν
Burrello et al. J Endocrinol Invest 2011;34:e121
Bujan, et al.Fertil Steril 2014;102(3):667

- Ορμονοθεραπεία με σκοπό την καταστολή του υποθαλαμο- υποφυσιακού άξονα και κατ' επέκταση των γονάδων πριν τη θεραπεία και επαναφορά μετά την θεραπεία με GNRH αγωνιστές

Δεν συνιστάται

Meistrich et al. Cancer Res. 1999;59:3557

Shetty G & Meistrich ML. J Nat Cancer Inst. Monographs 2005; 34: 36

Recommendations for gonadotoxicity surveillance in male childhood, adolescent, and young adult cancer survivors: a report from the International Late Effects of Childhood Cancer Guideline Harmonization Group in collaboration with the PanCareSurFup Consortium

Roderick Skinner, Renee L Mulder, Leontien C Kremer, Melissa M Hudson, Louis S Constine, Edit Bardi, Annelies Boekhout, Anja Borgmann-Staudt, Morven C Brown, Richard Cohn, Uta Dirksen, Alexsander Giwercman, Hiroyuki Ishiguro, Kirsi Jahnukainen, Lisa B Kenney, Jacqueline J Loonen, Lilian Meacham, Sebastian Neggers, Stephen Nussey, Cecilia Petersen, Margaret Shnorhavorian, Marry M van den Heuvel-Eibrink, Hanneke M van Santen, William H B Wallace, Daniel M Green

www.thelancet.com/oncology Vol 18 February 2017

Σύσταση για παρακολούθηση ασθενών που έλαβαν:	- Cyclophosphamide, chlormethine, procarbazine (LE C), busulfan και cyclophosphamide ή fludarabine και melphalan για μεταμόσχευση μυελού των οστών, ifosfamide - Ακτινοθεραπεία όρχεων
Τι είδους παρακολούθηση?	Σπερμοδιάγραμμα (Δ) Όγκος όρχεων, FSH, Inhibin B (Αν το ΣΠΔΓ επιδεινώνεται ή δεν είναι δυνατόν να γίνει) (ΑΔ)
Συχνότητα και διάρκεια	Μόνο μετά επιθυμία του ασθενούς αφού ενημερωθεί ή εάν ενδιαφέρεται για τεκνοποίηση στο προσεχές μέλλον (Δ)
Παραπομπή στον ειδικό	Σοβαρή олиγοσπερμία ($<5 \times 10^6/\text{ml}$), άμεση επιθυμία τεκνοποίησης μετά γοναδοτοξική ΧΘ ή ΑΘ, αποτυχία σύλληψης > 6 μήνες ανεξαρτήτως ΣΠΔΓ (Δ)
Σύσταση για έλεγχο τεστοστερόνης	Ασθενείς που έλαβαν ακτινοβολία των όρχεων με δόση >12 Gy, ή που έλαβαν ολοσωματική ακτινοθεραπεία (Δ)
Τρόπος παρακολούθησης προ και περιεφηβικών ασθενών	Έλεγχος ανάπτυξης (ύψος) και εξέλιξη της ήβης με προσδιορισμό σταδίων Tanner και όγκου όρχεων (Δ) ασθενών που έλαβαν ακτινοβολία των όρχεων με δόση >12 Gy, ή που έλαβαν ολοσωματική ακτινοθεραπεία (Δ)
Παρακολούθηση μετεφηβικών ασθενών	Μέτρηση πρωινών δειγμάτων τεστοστερόνης και/ή LH (επί σημείων υπογοναδισμού, ή με προηγούμενη οριακή/χαμηλή τεστοστερόνη, ή αν δεν μπορεί να δοθεί πρωινό δείγμα τεστοστερόνης) ασθενών που έλαβαν ακτινοβολία των όρχεων με δόση >12 Gy, ή που έλαβαν ολοσωματική ακτινοθεραπεία (ΑΔ)
Παραπομπή στον ειδικό	Προεφηβικά στον παιδο ενδοκρινολόγο αν δεν αρχίσει η ήβη ως τα 14 ή αν διακοπεί Μετεφηβικά ασθενείς που έλαβαν ακτινοβολία των όρχεων με δόση >12 Gy, ή που έλαβαν ολοσωματική ακτινοθεραπεία και έχουν σταθερά χαμηλή τεστοστερόνη
Σύσταση για παρακολούθηση ασθενών για σεξουαλική δυσλειτουργία	Ασθενείς που είναι υπογοναδικοί, ή είναι υψηλού κινδύνου για εμφάνιση υπογοναδισμού, ή χειρουργήθηκαν στο νωτιαίο μυελό, την πύελο, τον οπισθοπεριτοναϊκό παρα αορτικό χώρο (Δ), πρέπει να παρακολουθούνται και να παραπέμπονται στον ειδικό επί εμφάνισης ΣΔ

Γονιμότητα στους επιζώντες από Ca

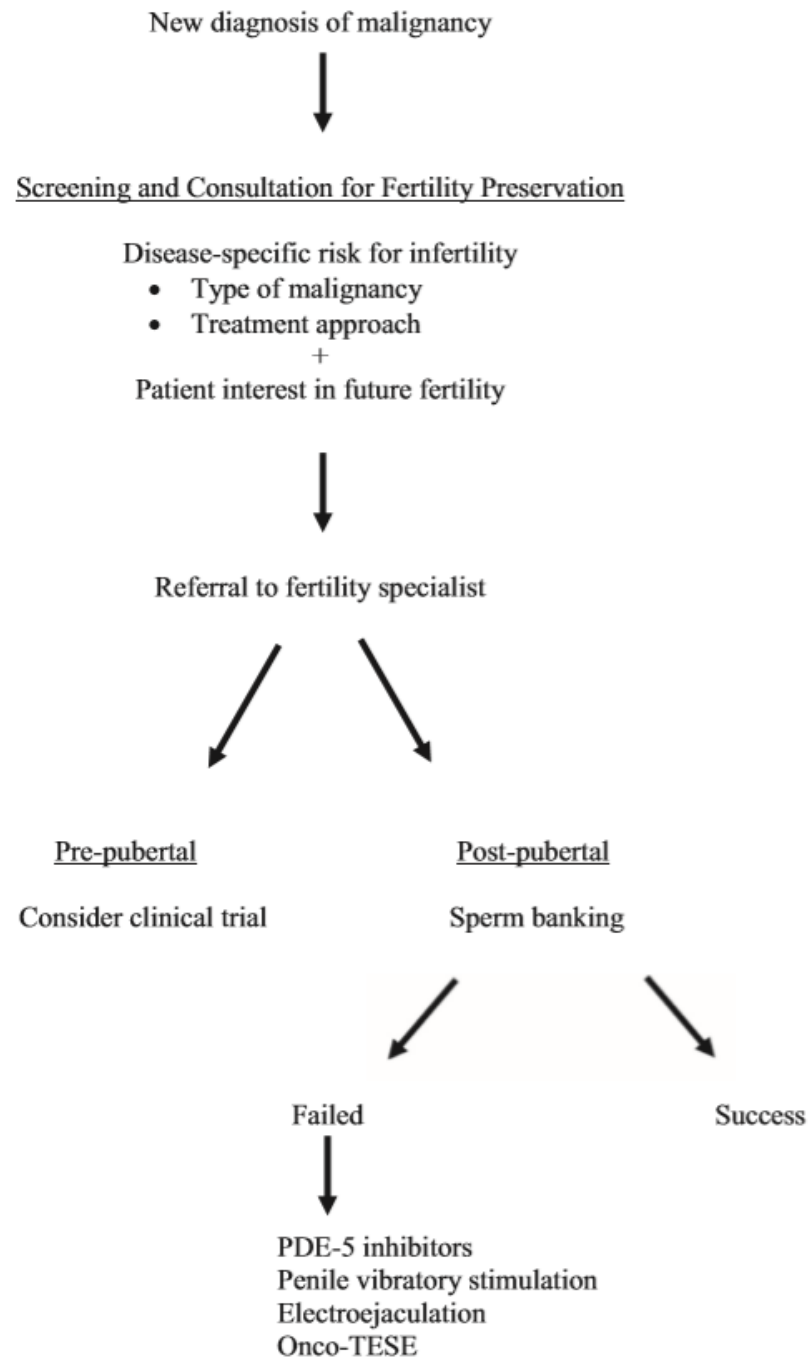
Ένα σημαντικό κενό ενημέρωσης

- Η διατήρηση της γονιμότητας των αρένων με Ca είναι σημαντικό τμήμα της αντιμετώπισης της νόσου τους και της επιβίωσης τους.
- 51% με 70% των νέων επιζήσαντων ανδρών θέλουν παιδιά στο μέλλον (συμπεριλαμβανομένων και του 77% των άτεκνων τη στιγμή της διάγνωσης). Ωστόσο, μόνο το 37% των άτεκνων καταψύχουν σπέρμα. **Ο συχνότερος λόγος είναι έλλειψη ενημέρωσης.**
- Παρόλο, που το 91% των ογκολόγων συμφωνούν, ότι η κατάψυξη σπέρματος πρέπει να προτείνεται μόνο το 48% το συζητά με τον ασθενή. **Οι λόγοι είναι βιασύνη, κόστος, προβλήματα συνεργασίας ή απουσία κατάλληλων μονάδων**
- Η Αμερικανική Εταιρεία Κλινικής Ογκολογίας (ASCO) αρχικά από το 2006, και μετά το 2013, συστήνει **στους ογκολόγους να συμβουλεύουν τους νέους ασθενείς τους για τη διατήρηση της γονιμότητας τους.**
- Το 2010 η Survey for Adolescent Reproduction (SPARE) προσεγγίζοντας τους παιδοογκολόγους ανέφερε ότι μόνο το **46% των ανταποκριθέντων στην έρευνα παρέπεμψε τους άρρενες ασθενείς τους σε κάποιον ειδικό για τη διατήρηση της γονιμότητας τους.**

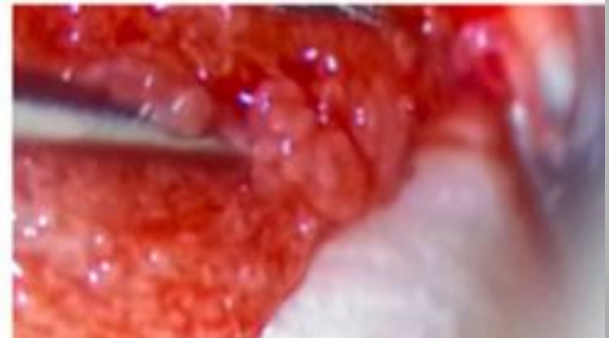
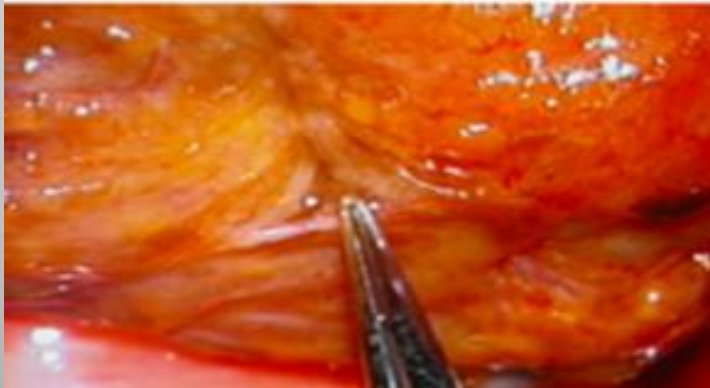
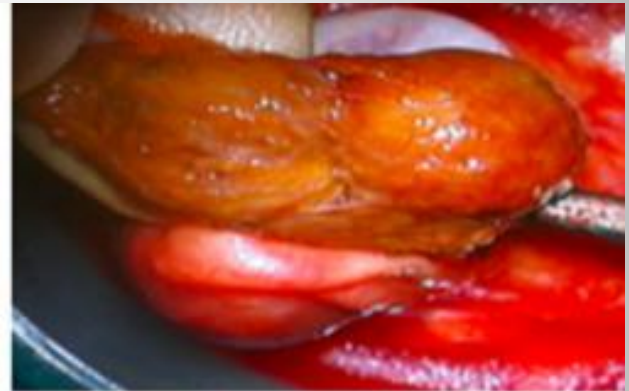
Οδηγίες για τη διατήρηση της γονιμότητας

Summary of male fertility preservation guidelines

Professional society	Publication year	Highlights
American Society of Clinical Oncology (ASCO)	2006, 2013, 2018 [9,13,41,42]	• All health care providers caring for cancer patients should counsel regarding potential infertility prior to initiation of any therapy • Patients interested in fertility should be referred to reproductive specialists • Sperm banking should be discussed with all postpubertal males scheduled to receive cancer treatment
National Comprehensive Cancer Network (NCCN)	2012, 2014 [11,34]	• Adolescents and young adults with cancer should be considered a unique age group with unique medical and psychosocial considerations, including fertility • Sperm banking should be offered to all male patients at the time of diagnosis • Oncology centers should develop a systemic and patient-centered program for offering cryopreservation to all male patients
European Society for Medical Oncology (ESMO)	2013 [12]	• Plan sperm banking in males scheduled to receive treatment that could affect future fertility • Collection of one to three samples recommended
American Academy of Pediatrics (AAP)	2008 [10]	• Consider ethical, cultural, and other unique factors that may impact communication with the patient and parents • Devise talking points based on age and developmental stage of the patient
American Society for Reproductive Medicine (ASRM)	2005, 2013, 2018 [8,23,33]	• Ejaculated sperm cryopreservation is the standard method of fertility preservation in postpubertal males and may be aided by use of phosphodiesterase type 5 (PDE-5) inhibitors, vibratory stimulation, or electroejaculation when appropriate • Consider cryopreservation of surgically extracted sperm in males who cannot ejaculate or who have either azoo- or oligospermia in an ejaculated sample • Cryopreservation of testicular tissue in prepubertal boys is investigational at this time and should not be employed in routine clinical practice



Onco-microTESE



Διατήρηση της γονιμότητας



Κρυοκατάψυξη



- Κατάψυξη σπερματοζωαρίων
- Κατάψυξη ορχικού ιστού
- Κατάψυξη σπερματογονίων και ωρίμανση in vitro?

A comparison of ICSI outcomes with fresh and cryopreserved epididymal spermatozoa from the same couples

Selahittin Cayan¹, Douglas Lee², Joseph Conaghan², Carolyn A.Givens², Isabelle P.Ryan², Eldon D.Schriock² and Paul J.Turek^{1,2,3}

Sperm parameters	Fresh	Frozen–thawed	P
No. of cycles	19	19	
No. of oocytes injected	238	313	
Mean	12.5 ± 6	16.5 ± 11.2	NS
Range	4–25	6–51	
Fertilization rate (%)			
Mean	58.4	62.0	NS
Range	33–78	32–100	
No. of embryos transferred	57	61	
Mean	3.0 ± 1.6	3.4 ± 1.5	NS
Range	0–6	0–7	
Clinical pregnancy rate (%)	31.6 (6/19)	36.8 (7/19)	NS
Miscarriage rate (%)	10.5 (2/19)	0 (0/19)	NS
Live-birth rate (%)	21.1 (4/19)	36.8 (7/19)	NS

NS = not significant.

Table III. ICSI outcomes with fresh and frozen–thawed epididymal spermatozoa in the literature

	Fertilization rate (%)		Pregnancy rate (%)	
	Fresh	Frozen–thawed	Fresh	Frozen–thawed
Unpaired controls				
Nagy <i>et al.</i> (1995)	56	56	30	33
Oates <i>et al.</i> (1996)	20	37	0	29
Cha <i>et al.</i> (1997)	68.4	72.4	44.4	63.6
Holden <i>et al.</i> (1997)	73 ^a	47	27 ^a	18.4
Van Steirteghem <i>et al.</i> (1998)	64.8	54.7	44.3	33.8
Shibahara <i>et al.</i> (1999)	68.6	45.3	60	23.1
Paired controls				
Friedler <i>et al.</i> (1998)	56	53	32	37
Hutchon <i>et al.</i> (1998)	64	66	34.5 ^a	26.7
Tournaye <i>et al.</i> (1999)	60.1	53	32.1	35.2
Present study	58.4	62	31.6	26.8

Τα κινητά κρυοκατεψυγμένα και αποψυγμένα ΣΠΖ, που ελήφθησαν από την επιδιδυμίδα, είναι ισοδύναμα με τα φρέσκα για πραγματοποίηση ICSI

Αποτελέσματα ART σε άνδρες επιζώντες από καρκίνο

Table 1 Fertility treatment and outcome in male cancer survivors

Study	No of patients	Type of semen used	Type of treatment	Outcome
Sanger <i>et al.</i> (1992)	–	Cryo	IUI or IVF	115 live births
Khalifa <i>et al.</i> (1992)	10	Cryo	IVF	PR 25%
Lass <i>et al.</i> (1998)	6	Cryo	IUI, IVF, ICSI	5 live births
Rosenlund <i>et al.</i> (1998)	15	Fresh ^a or testicular sperm ^b	IVF or ICSI	PR 57%
Ginsburg <i>et al.</i> (2001)	19	Fresh or Cryo	IVF or ICSI	PR 40%
Damani <i>et al.</i> (2002)	15	Testicular sperm ^b	ICSI	PR 31%
Agarwal <i>et al.</i> (2004)	29	Cryo	IUI, IVF, ICSI	PR 7% after IUI, 23% after IVF, 37% after ICSI
Schmidt <i>et al.</i> (2004)	67	Fresh, cryo or testicular sperm ^b	IUI, ICSI or FER	PR 15% after IUI, 39% after ICSI, 25% after FER
Magelssen <i>et al.</i> (2005)	29	Cryo	Not specified	17 live births
Meseguer <i>et al.</i> (2006)	30	Cryo	IUI, ICSI or FER	PR 20% after IUI, 50% after ICSI
Zorn <i>et al.</i> (2006)	33	Cryo or testicular sperm ^b	ICSI	PR 23%

Cryo, cryopreserved; IUI, intrauterine insemination; IVF, in vitro fertilization; PR, pregnancy rate; ICSI, intracytoplasmic sperm injection.

^aObtained by masturbation or transrectal electro-ejaculation.

^bObtained by TESE or TESA.

Τα ποσοστά εγκυμοσύνης είναι παρόμοια με των υπογόνιμων ζευγαριών χωρίς ιστορικό καρκίνου

Clinical guidelines for sperm cryopreservation in cancer patients

Ajay K. Nangia, M.B.B.S.,^a Sacha A. Krieg, M.D., Ph.D.,^b and S. Samuel Kim, M.D.^b

Fertil Steril.2013;100(5):1203

- Αριθμός φιαλιδίων ανάλογα με την ποιότητα του σπέρματος (Το χειρότερο σε κινητικότητα προ κατάψυξης σπέρμα στη λευχαιμία και το Ca όρχεως)
- Μέθοδος κρυοσυντήρησης: αργή κατάψυξη vs υαλοειδοποίηση (vitrification)
- Πιθανή IUI ή IVF εάν το σπέρμα προ της κατάψυξης διαθέτει $TMC \geq 10 \times 10^6$ (50% μετά)
- Μπορεί να χρειασθούν ως και 6 κύκλοι IUI για μία εγκυμοσύνη- Η ICSI προτιμάται σε περιπτώσεις με λίγα φιαλίδια καλού σπέρματος για να διατηρηθεί σπέρμα και να μειωθεί το κόστος
- Σε αζωοσπερμικούς ή αδύναμους ασθενείς η συλλογή του σπέρματος γίνεται με ηλεκτροεκσπερμάτιση/δόνηση, TESE/microTESE ή MESA/PESA με τοπική αναισθησία ή με orco-TESE σε Ca μονήρους όρχεως. Αν σε ετερόπλευρο Ca γίνει TESE να γίνει από τον υγιή πριν την ορχεκτομή λόγω εμφάνισης αζωοσπερμίας
- Επί μη εμφάνισης αζωοσπερμίας εφαρμογή αντισύλληψης κατά τη θεραπεία και ένα χρόνο μετά. Επί αζωοσπερμίας αναμονή τουλάχιστον 2 χρόνια

Διατήρηση της γονιμότητας στην προεφηβική ηλικία

20% των αγοριών σταδίου Tanner II παρουσιάζουν σπερματογένεση επιτρέποντας έτσι την κρυοσυντήρηση απλοϊδικών γαμετών.

Schaefer et al Arch Dis Child 1990;65:1205

Table II Indications for immature testicular cryopreservation in case of malignant and non-malignant disease

Malignant	Non-Malignant
• Leukemia • Hodgkin's disease • Non-Hodgkin's lymphoma • Myelodysplastic syndromes • Solid tumors • Soft tissue sarcoma	(1) HSCT in case of: • hematological disorders: thalassemia major, sickle cell disease, aplastic anemia, Fanconi anemia • primary immunodeficiencies • severe autoimmune diseases unresponsive to immunosuppressive therapy: juvenile idiopathic arthritis, juvenile systemic lupus erythematosus, systemic sclerosis, immune cytopenias • osteopetrosis • enzyme deficiency disease: Hurler's syndrome (2) Risk of testicular degeneration • Klinefelter syndrome

HSCT, hematopoietic stem cell transplantation.

Fertility preservation in prepubertal boys

Immature gamete cryopreservation

Cell suspensions

- Easier
- Mechanical damages
- Post thaw viab. up 60%

Tissue pieces

- Maintains all cells and so interactions allowing proliferation & differentiation
- Difficulties due to cell heterogeneity
- Cryoprotectant: DMSO & slow freezing
- Viab. Up to 94%

Whole testis

- Experimental

Αποτελέσματα βιωσιμότητας μετά την απόψυξη

Table 1

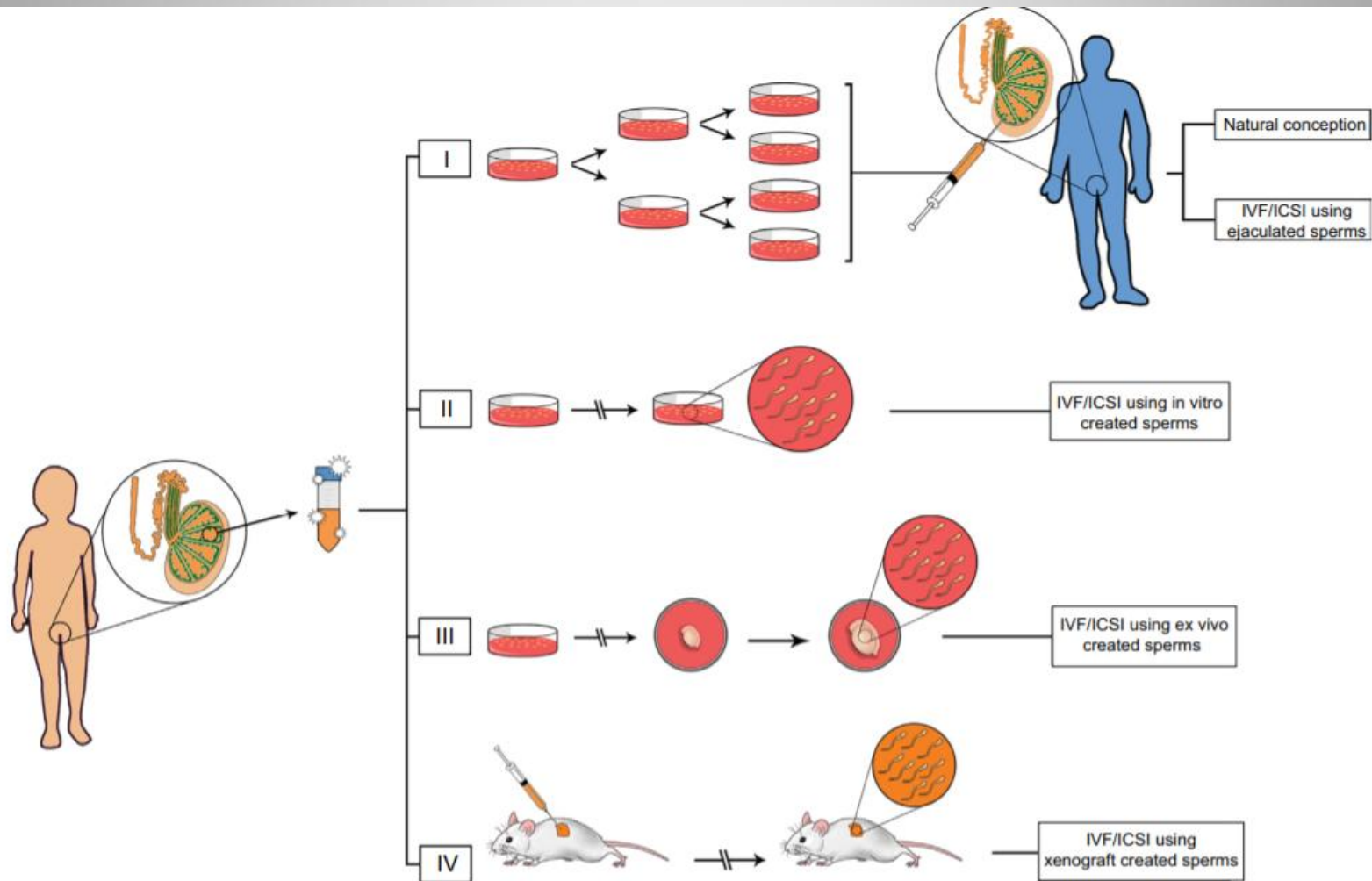
Outcomes after thawing/warming of tissue pieces vs. cell suspensions cryopreserved with DMSO based protocols.

Testicular tissue donor	Cryopreservation method and CPAs	Av. % cell viability after thawing/warming of:		Av. % viable cell recovery per fresh tissue weight	
		CS	TP	CS	TP
11 adults with normal spermatogenesis [5]	CSF & 1.5M DMSO + 4% FCS	54	—	—	—
5 adults undergoing orchidectomy for prostate carcinoma [18]	CSF & 0–2.5M DMSO + 20%FBS, 0.1% ITS	73 ± 2.3/80 ^a	75 ± 2.8/50 ^a	—	—
5 adults undergoing sexual reassignment (hormone treated) [17]	CSF & 10% DMSO + 10% HSA 1% Dextran	52.4	64	33	37.4
4 adults with normal spermatogenesis [19]	CSF & 1.28M DMSO + 25% FCS	67 ± 4	80 ± 3	33	20
3 (22–23w) foetuses [19]		75 ± 4	83 ± 1	38	48 & 66
5 adults undergoing TESE for OA (n = 4) and for severe oligozoospermia (n = 1) [21]	CSF & 1.4M DMSO + 2 mg/mL HSA	45.6 ± 20	—	—	—
	CSF & 0.7M DMSO + 2 mg/mL HSA	29.1 ± 14.2	—	—	—
	OPS V & 2 mg/mL HSA + 0.67M s + 2.3M DMSO + 3M EG	55.6 ± 23.8	—	—	—

CS (cell suspensions), TP (Tissue Pieces), DMSO (Dimethyl-Sulfoxyde), FCS (Fetal Calf Serum), ITS (Insulin-Transferrin-Selenium), HSA (Human Serum Albumin), EG (Ethylene Glycol), OA (Obstructive Azoospermia), V (Vitrification), w (weeks), Av. (Average).

^a Cell viability 48 h after culture.

Διατήρηση της γονιμότητας στην προεφηβική ηλικία



Αυτομεταμόσχευση SSCs

- Πρώτη επιτυχής μεταμόσχευση SSCs με παραγωγή ΣΠΖ από Brinster και Zimmerman το 1994. Το 1996 επιτυχής ολοκλήρωση σπερματογένεσης και το 2003 δημιουργία εμβρύων. Το 2012 δημιουργία εμβρύων με ΣΠΖ από αλλογενή μεταμόσχευση.
- Σε ανθρώπους μία κλινική μελέτη με αυτομεταμόσχευση SSCs σε 12 ασθενείς μετά θεραπεία για Non Hodgkin. Δεν υπάρχει
- Ανάγκη για αύξηση του αριθμού των SSC με καλλιέργειες in vitro και cell sorting. Επιτεύχθηκε σε άνθρωπο χωρίς ανευπλοϊδίες και χρωματοσωμικές ανωμαλίες
- Αποφυγή μεταφοράς καρκινικών κυττάρων, που επιμόλυναν τα SSCs. Δεν αρκεί το cell sorting στους ανθρώπους, αλλά σε κυτταροκαλλιέργειες εξοντώθηκαν λευχαιμικά κύτταρα. Απαιτείται έρευνα για την ασφάλεια
- Σταθεροποίηση του τρόπου και της θέσης της ένεσης με τα SSCs, ώστε η μεταφορά να αποικίζει τις «φωλιές» των SSCs. Οι γοναδοτοξικές θεραπείες μπορεί να καταστρέψουν και τα κύτταρα της «φωλιάς»

Table 2

Pro and cons for the SSCs cryostorage and re-transplantation approach for genetic causes of infertility.

Candidates for SSCs cryostorage	Pros	Cons
Pre-pubertal patients facing gonadotoxic treatment [4]	High cancer survival rates Fatherhood desire Low complication rates of the procedure High acceptance rates Alternative to sperm freezing	Safety issue after SSCT: Risk of cancer cell contamination Unknowns on genetic and epigenetic stability of SSCs Potential niche damage responsible for spermatogenesis failure
Adolescent and adult patients before gonadotoxic treatment with cancer-inhibited spermatogenesis [72]		
Pre-pubertal patients with Cryptorchidism [20]	Decreased SSCs numbers and risk of azoospermia regardless of timely repair or medical treatment	Unknown ability of the niche to support SSCs auto-renewal and differentiation due to Leydig cell hypoplasia Prolonged persistence of the foetal stem cell pool and delayed establishment of the adult SSCs pool Possibility of SCOS Transmission to male progeny
Yq microdeletions AZFc and partial AZFb [52,81]	Spermatogenesis foci in favour of some functional SSC niches	
Klinefelter syndrome [77]	Progressive depletion of GCs starting before puberty Reported loss of the extra X chromosome generating normal 46 XY SSCs in in vitro culture of 47 XXY SSCs [94] ^a	Inability of the niche to support SSCs colonization and function due to progressive hyalinization

SSCs (Spermatogonial Stem Cells), SSCT (Spermatogonial Stem Cell Transplantation), SCOS (Sertoli Cell Only Syndrome), GCs (Germ Cells).

ΕΥΧΑΡΙΣΤΩ

