

## Crioconservazione e preservazione della fertilità femminile: aspetti biologici

**Fabbi R., Magnani V., Parazza I., Vicenti R., Macciocca M., Venturosi S.**  
**UO Ginecologia e Fisiopatologia della Riproduzione Umana,**  
**Dipartimento Salute della Donna, del Bambino e dell'Adolescente,**  
**Azienda ospedaliero-universitaria Policlinico Sant'Orsola-Malpighi di**  
**Bologna**

Le nuove strategie antitumorali hanno portato negli ultimi anni ad un progressivo aumento della sopravvivenza media delle bambine, delle adolescenti e delle donne adulte affette da patologie neoplastiche, ponendo l'attenzione sugli effetti a lungo termine delle terapie oncosoppressive e sulla qualità di vita delle pazienti dopo il trattamento. In tessuti a rapida riproduzione, quali il midollo osseo o l'intestino, il danno citotossico della chemio/radioterapia è reversibile, mentre a livello ovarico è progressivo ed irreversibile, poiché il numero di cellule germinali è limitato e predeterminato alla nascita. I danni a carico dell'ovaio possono provocare arresto dello sviluppo, sterilità e assenza di menarca nella bambina, perdita della fertilità e fallimento ovarico precoce nella donna adulta.

Esistono due principali opzioni per preservare la fertilità delle pazienti che si devono sottoporre a chemio/radioterapia: la crioconservazione degli ovociti e la crioconservazione del tessuto ovarico.

La crioconservazione degli ovociti consente di preservare esclusivamente la funzione gametogenica, non ha alcuna utilità nei casi di menopausa anticipata cui possono andare incontro le pazienti oncologiche dopo i trattamenti antitumorali e richiede tempi lunghi in quanto necessita di stimolazione ormonale; inoltre gli ovociti risultano più suscettibili ai danni da congelamento rispetto al tessuto ovarico. La crioconservazione del tessuto ovarico, al contrario, permette di preservare la funzione ovarica in toto e consente il ripristino sia della funzione gametogenica che di quella steroidogenica; viene effettuata in tempi molto rapidi in quanto non richiede stimolazione ormonale e il tessuto ovarico risulta meno suscettibile ai danni da congelamento in quanto è costituito prevalentemente da follicoli primordiali che sono metabolicamente quiescenti.

Le candidate a tali procedure sono pazienti affette da diverse patologie maligne (sistemiche, extra-pelviche e pelviche) e da patologie benigne ematologiche o autoimmuni, ovariche e genetiche.

La scelta della metodica più idonea per la preservazione della fertilità deve essere valutata caso per caso ed è dipendente da tre variabili: età della paziente, tempo a disposizione prima dell'inizio dei trattamenti antitumorali e tipo di patologia. Per le bambine in età prepubere, che non possono sottoporsi a stimolazione ormonale, la crioconservazione del tessuto ovarico rappresenta l'unica possibilità di avere, dopo la guarigione, una crescita normale e uno sviluppo fisiologico. Per le adolescenti post-menarca e per le donne adulte entrambe le procedure sono possibili, ma la crioconservazione del tessuto ovarico è l'unica alternativa per tutte quelle pazienti che non possono ritardare l'inizio della chemio/radioterapia. Per quanto riguarda infine la patologia, negli ultimi anni, grazie all'introduzione di nuovi farmaci utilizzati per la stimolazione ovarica come il Letrozolo, la crioconservazione degli ovociti viene proposta anche alle pazienti affette da carcinoma mammario, in cui la stimolazione convenzionale è controindicata a causa del conseguente innalzamento dei livelli di estrogeni che potrebbe stimolare la crescita delle cellule tumorali.

La crioconservazione degli ovociti è realizzabile mediante l'utilizzo di due diverse metodiche: congelamento lento/scongelo rapido e vitrificazione. Il congelamento lento è stata la tecnica più comunemente

utilizzata in passato. Prevede una lenta disidratazione dell'ovocita e un graduale abbassamento della temperatura al fine di prevenire modificazioni chimico-fisiche e biologiche che, causando danni alla cellula,

ne compromettano la vitalità. La vitrificazione è definita come un processo di raffreddamento ultra-rapido in cui soluzioni altamente concentrate di crioprotettori solidificano in uno stato vitreo. Per la vitrificazione differenti sistemi (aperto e chiuso) e supporti sono stati applicati con successo. Entrambe le metodiche di crioconservazione degli ovociti sono

oggi affidabili e riproducibili e hanno portato a risultati incoraggianti con percentuali di sopravvivenza, fertilizzazione ed impianto paragonabili a quelle degli ovociti freschi.

La crioconservazione del tessuto ovarico è una metodica più nuova e più difficoltosa rispetto alla crioconservazione degli ovociti. Il tessuto ovarico è infatti costituito da diversi tipi di cellule, ognuna delle quali richiederebbe protocolli di congelamento specifici.

Il tessuto ovarico può essere crioconservato seguendo due approcci diversi: fettine di corticale ovarica oppure ovaio intero con il suo peduncolo vascolare. Il protocollo più utilizzato per la crioconservazione delle fettine di corticale ovarica è il congelamento lento associato a scongelamento rapido, protocollo che è stato validato e ottimizzato dal nostro gruppo nel corso degli anni grazie ad un rigido controllo qualità effettuato mediante diversi tipi di analisi sul tessuto ovarico fresco e scongelato. Un'altra metodica ancora sperimentale di crioconservazione del tessuto ovarico è la vitrificazione delle fettine di corticale, effettuata utilizzando sistemi aperti oppure sistemi chiusi; diversi studi sono stati effettuati per confrontare questo protocollo con il convenzionale congelamento lento, ma i risultati ottenuti finora sono ancora discordanti.

Oltre alla crioconservazione di fettine di tessuto un altro approccio è la crioconservazione dell'ovaio intero. Le difficoltà nella procedura di crioconservazione, l'estrema complessità della tecnica chirurgica di reimpianto e la possibilità di effettuare un unico tentativo rendono questa metodica ancora altamente sperimentale.

Il tessuto ovarico crioconservato, dopo scongelamento, può essere reimpiantato ortotopicamente nel sito d'origine, permettendo il ripristino della funzione endocrina e riproduttiva della paziente, ipotizzando la ripresa del ciclo mestruale ed il concepimento naturale; oppure può essere reimpiantato eteropicamente in siti molto vascolarizzati (diversi dal sito di origine), permettendo il ripristino della sola funzione endocrina. Un'altra possibile via di utilizzo del tessuto ovarico crioconservato è rappresentata dalla maturazione in vitro dei follicoli primordiali. Questa tecnica, seppur promettente, non ha ancora dato risultati soddisfacenti ed è ostacolata da diversi fattori quali i lunghi tempi necessari per lo sviluppo dei follicoli dallo stadio primordiale allo stadio preovulatorio (circa 6 mesi) e le insufficienti conoscenze circa le numerose sostanze che regolano la crescita follicolare.

Ad oggi sono 19 le nascite riportate nel mondo da reimpianto ortotopico di tessuto ovarico crioconservato, risultato che dimostra come la crioconservazione di tessuto ovarico sia un metodo valido per preservare la fertilità e che incoraggia l'utilizzo di questa tecnica in ambito clinico per donne e bambine che devono sottoporsi a trattamenti gonadotossici.