

# Helhetlig gjennomgang av nasjonale og flerregionale behandlingstjenester i spesialisthelsetjenesten 2017

## Spørsmål til lederen av behandlingstjenesten

SETT MARKØREN I DET GRÅ FELTET FØR DU STARTER SKRIVINGEN.

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |                                                                                                 |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Navn på tjenesten:                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | <b>Nasjonal behandlingstjeneste for fertilitetsbevarende behandling med autologt ovarialvev</b> |
| Lokalisering:                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | <b>Oslo universitetssykehus</b>                                                                 |
| <b>Tjenestens innhold</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                 |
| <p>1. Det forutsettes at alle nasjonale og flerregionale behandlingstjenester har utarbeidet egne henvisningskriterier.</p> <p>Det bes om at tjenestens henvisningskriterier legges ved spørreskjemaet.</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |                                                                                                 |
| <p>2. Gi en kort beskrivelse av insidens for de diagnosene som inngår i tjenestens ansvarsområde. (Med insidens menes i denne sammenheng antall genuint nye pasienter som er behandlet ved den nasjonale tjenesten i et aktuelt kalenderår. Hver pasient skal telles bare en gang i livet.)</p> <p>Årlig får 500 unge kvinner under 35 år en ny kreftdiagnose i Norge (kreftregisteret.no). Insidens av brystkreft og Hodgkin lymfom, de hyppigste diagnosene hvor nedfrysing av eggstokkvev er aktuelt, er 89 i denne aldersgruppen. Nedfrysing av eggstokkvev kan også være aktuelt ved alvorlig immunsvikt og annen lidelse som behandles med cellegift. Insidens av disse er lavere enn kreftsykdom. Videre indikasjon er kirurgiske inngrep på benigne tilstander hvor pasienten står i fare for å miste begge ovariene, ex tidligere operert for dermoid eller endometriom med fjerning av ett ovarium og så ny sykdom i det gjenværende ovarie.</p> <p>Det finnes imidlertid ingen nøyaktig statistikk over antall kvinner som har risiko for fertilitetstap som følge av behandlingen, slik som avansert strålebehandling, kjemoterapi eller kirurgi. Ut fra erfaring i Danmark og Sverige, ble det tidligere anslått at årlig 25-50 norske kvinner vil trenge nedfrysing av eggstokkvev for å forebygge fertilitetstap. Utvikling</p> |                                                                                                 |

av nye behandlingsalternativer, spesielt nedfrysing av ubefructede egg, gjør at antatt behov ble mindre.

Årlige antall nedfrysinger av eggstokkvev har variert mellom 13 - 21 i det siste 5 år, som kan bety at de fleste pasientene som har behov for dette tilbud blir behandlet.

3. Har tjenestens innhold (behandlingsmetode og/eller volum) og avgrensninger mot andre deler av helsetjenesten endret seg de siste 5 år?

Utvikling av behandlingsvolum har vært varierende:

- 2012, 20
- 2013, 13
- 2014, 20
- 2015, 14
- 2016, 21

Det er ingen merkbar tendens til varige endringer, som vi tolker slik at behandlingstjenesten når frem til aktuelle brukere.

I løpet av siste 5 år, fikk pasienter med brystkreft, som ofte gjennomgår en noe mildere cellegiftbehandling, flere mindre invasive alternativer for fertilitetsbevaring, slik som nedfrysing av ubefructede egg (vitrisering) og kjemoproteksjon av eggstokk med GnRH analoger. For å følge utviklingen, måtte behandlingstjenestens repertoar utvides med disse metodene.

Etter hvert at nedfrysing av ubefructede egg blir tilgjengelig ved andre reproduksjonsmedisinske virksomheter, kan disse pasientene behandles ved deres universitetssykehus. Foreløpig har bare Oslo universitetssykehus tilbud om nedfrysing av ubefructede egg før kjemoterapi.

4. Finnes det andre behandlingsmetoder for de diagnoser/skader som inngår i tjenestens ansvarsområde?

Vises til omtale av behandlingsalternativer under pkt 3.

5. Hva er hovedbegrunnelsen for at denne tjenesten fortsatt skal være sentralisert?

Behov for behandlingen er varierende fra år til år. Volumet er begrenset. Behandlingen forutsetter komplisert logistikk, særskilt godkjenning for Helsedirektoratet, kostbar utstyr, laboratoriefaglig erfaring og betydelig kirurgisk erfaring ved transplantasjon. Fagmiljøet for assistert befruktning er fornøyd med at tilbudet er sentralisert.

## Bemannings

6. For å sikre kontinuitet er det forutsatt at det skal være ansatt minst tre fagpersoner pr. fagspesialitet som kan ivareta behandlingstilbudet i en nasjonal behandlingstjeneste. Gi en kort redegjørelse for hvordan dette kravet er oppfylt for denne tjenesten.

Behandlingstjenesten er del av Reproduksjonsmedisinsk avdeling ved Oslo universitetssykehus. Avdelingen har 34 ansatte, overleger, bioingeniører, forskere og sykepleiere. Overlegene (n = 8) har lang erfaring i reproduksjonsmedisin og er godt kjent med problemstillinger ved fertilitetsbevarende behandling. Fem laboratoriepersonell (ingeniører og forskere) har trening i nedfrysing av eggstokkvev. Flere ansatte har trent for opptining av eggstokkvev og vitrifiering. Videreføring av kompetanse er godt ivaretatt gjennom detaljerte skriftlige prosedyrer.

## Kvalitet

7. Nasjonale tjenester skal bidra til økt kvalitet på utredning og behandling av en definert og avgrenset pasientgruppe. Det bes om dokumentasjon på oppnådde behandlingsresultater og andre kvalitetsmål som tjenesten har etablert.

Behandlingstjenestens mål er å bevare og re-etablere fertilitet hos kvinner som har gjennomgått en behandling som kan skade fruktbarheten, slik som cellegiftbehandling for kreft. Behandlingstjenestens relevante kvalitetsmål er andel kvinner som lykkes ved å oppnå svangerskap etter behandlingen.

I perioden 2004-2016, fikk 200 kvinner gjennomgå nedfrysing av eggstokkvev. Oppfølging av pasientene med tanke på overlevelse, barneønske og fertilitet pågår, forventet avslutning våren 2017.

Hittil har 7 kvinner fått transplantert vev. To kvinner behandlet i 2011 fikk barn etter henholdsvis spontan svangerskap og assistert befruktning. Resultatene ble publisert i vitenskapelig tidsskrift (vedlagt).

Fem pasienter behandlet i 2015-2016, herunder en pasient som ble behandlet 2 ganger, er under oppfølging. Behandlingens effektivitet kan imidlertid ikke bedømmes ved nåværende tidspunkt. Internasjonal erfaring viser at fertiliteten blir re-etablert hos ca 30% av pasientene etter autotransplantasjon av ovarialvev (Hum Reprod 2015; 30:2838-45). Oppfølgingstid hos flere av våre transplanterte pasienter er for kort for å kunne bedømme graftfunksjon.

## Kompetansespredning

8. En nasjonal eller flerregional behandlingstjeneste skal blant annet spre informasjon om tjenestens innhold, behandlingstilbud, henvisningskriterier, henvisningsrutiner og understøttelse av at helhetlig pasientforløp til helsepersonell og brukere av tjenesten. Det

forventes derfor at alle nasjonale tjenester har utarbeidet en plan for kompetansespredning.

Det bes om at plan for kompetansespredning legges ved.

### **Tilleggsinformasjon**

9. Eventuelle andre forhold som er viktig for å forstå hvordan tjenesten fungerer som en nasjonal eller flerregional behandlingstjeneste:

Vi ønsker å invitere Helsedirektoratet til en inspeksjon av avdelingen, som kan gi førstehåndsintrykk av hvordan tjenesten fungerer som en nasjonal behandlingstjeneste og kan bygge tillit.

### **Signering av ansvarlig leder**

Dato og underskrift:

### **Vedlegg**

Det bes om følgende vedlegg:

- Tjenestens plan for kompetansespredning
- Henvisningskriterier til tjenesten
- Dokumentasjon for oppnådde behandlingsresultater og kvalitetsmål

191216 arl

## 1. Hensikt og omfang

Nasjonal behandlingstjeneste for fertilitetsbevarende behandling med autologt ovarialvev tilbyr vurdering, utredning og behandling til kvinner som skal til behandling som kan skade fruktbarheten.

Hensikten med plan for kompetansespredning er å oppnå at henvisende leger og behandlingstjenestens brukere har nok informasjon til å

- unngå forsinkelser i behandlingsprosessen;
- vite om alternativene;
- ha realistiske forventninger om suksess.

## 2. Ansvar

Avdelingsleder ved Reproduksjonsmedisinsk avdeling har ansvar for å utarbeide, implementere og følge opp planen. Referansegruppen for nasjonal behandlingstjeneste evaluerer planen og gjennomføringen.

## 3. Bakgrunn

Alle nasjonale og flerregionale behandlingstjenester skal utarbeide en plan for kompetansespredning. Planen skal bygge på en kartlegging og analyse av behov for kompetansespredning og skal beskrive hvordan kunnskap om tjenestens innhold og henvisningskriterier gjøres kjent nasjonalt for helsepersonell, brukere og pårørende og hvordan veiledning og rådgivning er tilrettelagt.

### Hvilket informasjonsbehov finnes?

- hvem henviser; hvordan hun fikk vite om oss; hvilke pasienter spør man oftest om; hva er hyppigst avslagsgrunn?

### Hva skal behandlingstjenesten gi informasjon om?

- ansvarsområde
- behandlingstilbud, alternativer
- henvisningskriterier
- henvisningsrutiner
- hvordan søke råd og veiledning
- etterbehandling, helhetlig løp
- faglig utvikling, internasjonale trender
- oppfølging av pasientene
- behandlingsresultater

### Målgrupper for informasjon

- leger ved OUS
- helsepersonell ved annet sykehus
- publikum
- pasienter
- Helsedirektoratet, myndigheter
- pasientforeninger (Ønskebarn, Kreftforeningen)
- Bioteknologirådet
- medisinstudenter
- faglige foreninger (NBCG, osv)

Vær oppmerksom på at dokumentet kan være endret etter utskrift.

|                                                            |              |                                  |                           |
|------------------------------------------------------------|--------------|----------------------------------|---------------------------|
| Plandokument Ovarialvevsbank - plan om kompetansespredning |              |                                  | Utskriftsdato: 08.02.2017 |
| Dokumentansvarlig: Peter Zoltan Fedorcsak                  | Under arbeid | Dokument-ID: 114309 - Versjon: 0 | Side 1 av 2               |

## 1. Hensikt og omfang

### Formål

Beskrive preoperative forberedelser og rutiner i forbindelse med cryopreservasjon av ovarialvev

### Omfang

Reproduksjonsmedisinsk avdeling har landsdekkende funksjon for kryopreservering av ovarialvev. Hensikten med ovarialvevsfrysning (cryopreservasjon) er å bevare fertilitet hos kvinner som skal gjennomgå en behandling som med stor sannsynlighet vil gi irreversibel destruksjon av primordialfollikler i ovariene. Kjemoterapi og eller stråleterapi ved kreftbehandling kan føre til prematur menopause eller sterilitet. Risikoen er avhengig av pasientenes alder, samt type og kumulative dose av cytostatika eller stråling. Det er ingen nedre aldersgrense for kryopreservering av ovarialvev.

Etter kurativ behandling, når tilbaketransplantasjon er aktuelt, kan pasientens ovarialvev tines og tilbaketransplanteres med henblikk på å gjenetablere ovarial funksjon. Tilbaketransplantasjon av vevet er ikke aktuelt ved generell kreftsykdom, for eksempel leukemi, hvor risikoen for tilbakeføring av sykdom vil være stor. For denne pasientgruppen er in vitro modning av primordialfollikler til modne egg for assistert befruktning på forsøksstadiet.

## 2. Ansvar

Ansvar for gjennomføring av prosedyren:

Seksjonsleder ved seksjon for reproduksjonsmedisin

Enhetsleder for laboratorieenheten

Koordinator ved seksjon for reproduksjonsmedisin

Leger ved gynekologisk avdeling, reproduksjonsmedisinsk avdeling og seksjon for generell gynekologi.

Ansvar for oppdatering av prosedyren:

Seksjonsleder ved seksjon for reproduksjonsmedisin

Enhetesleder for laboratorieenheten

Koordinator ved seksjon for reproduksjonsmedisin

## 3. Fremgangsmåte

Henvisning fra onkolog eller annen spesialist som behandler pasienten. Henvisningen vurderes av lege på avdeling for reproduksjonsmedisin.

- Kvinnen skal være under 35 år.
- Sannsynlighet for varig sterilitet skal være mer enn 50%, vurderes av henvisende lege.
- Kryopreservasjon gjøres kun for kvinner som har en reell sjanse for å bli gravid senere. Vurderes av gynekolog.
- Kvinner som har barn vurderes individuelt.

Innkalling til preoperativ samtale/ undersøkelse ved Reproduksjonsmedisinsk avdeling.

- Samtale og gynekologisk undersøkelse av pasient før oppstart av stråle/ kjemoterapi
- Muntlig og skriftlig informasjon om nedfrysing av ovarialvev
- Underskrift av samtykkeskjema
- Rekvisisjon av følgende blodprøver, tas minimum en dag før operasjon:
  - **AMH, LH, FSH Østradiol**
  - **Infeksjonsstatus- HIV, HTLV, Hepatitt B og C og syfilis**
  - **Na, K, Cl, Urea, kreatinin og Hb**
  - **Blodprøvene må tas minst en dag før operasjon.**
- Elektronisk melding til operasjon

Vær oppmerksom på at dokumentet kan være endret etter utskrift.

|                                                          |                                     |                                |                           |
|----------------------------------------------------------|-------------------------------------|--------------------------------|---------------------------|
| Prosedyre Nedfrysing av ovarialvev: henvisningskriterier |                                     |                                | Utskriftsdato: 08.02.2017 |
| Dokumentansvarlig: Peter Zoltan Fedorcsak                | Godkjent av: Peter Zoltan Fedorcsak | Dokument-Id: 9972 - Versjon: 4 | Side 1 av 2               |

#### Kontaktinformasjon:

- Avtale om kryopreservasjon med dato og klokkeslett. Bioingeniør på laboratoriet, Reproduksjonsmedisinsk avdeling, Tlf 23073126/ 23072331
- Avtale om operasjon, Gynekologisk avdeling, inntakskontoret, tlf 22119299 (Merete Ones). Faks 22118640

#### Vedlegg

[Vedlegg til ovarialvevfrys logistikk skjema og rekv](#)

#### Vedlegg

- [Informasjon til pasienter om lagring av eggstokkvev](#)

#### Andre eHåndboksdokumenter

- [Nedfrysning av ovarialvev: kliniske- og laboratorieprosedyrer](#)

- brukerrådet i klinikken

#### Virkemidler

- nettsider
- sosiale medier
- kurs, seminar
- elæring
- utdanningsprogram
- hospitering
- nyhetsbrev
- kommentarartikler, osv
- public events
- RRI
- app
- eHåndbok
- personlig faglig nettverk
- referansegruppens nettverk

## 4. Handling - tiltak

#### Mål for 2017

| Område                                           | Tiltak                                                                                                                                                                           |
|--------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Hvilket informasjonsbehov finnes?                | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Etablere systematisk registrering av forespørslene om fertilitetsbevarende behandling (nettskjema.uio.no)</li> <li>• Analyse</li> </ul> |
| Hva skal behandlingstjenesten gi informasjon om? | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Revidere nettsidene for pasienter med informasjon om oppfølging og resultater</li> <li>• Revidere sidene ved kreftlex.no.</li> </ul>    |
| Målgrupper                                       | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Styrke informasjon til referansegruppen om pågående aktiviteter.</li> </ul>                                                             |
| Virkemidler                                      | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Etablere samarbeid med eksperter i RRI for å utarbeide tiltak for øke <i>public engagement</i>.</li> </ul>                              |

## 5. Oppfølging av plan

Gjennomføring av tiltak 2017:

- pågår.

## AOGS ORIGINAL RESEARCH ARTICLE

# Autotransplantation of cryopreserved ovarian tissue after treatment for malignant disease – the first Norwegian results

TOM TANBO<sup>1,2</sup>, GARETH GREGGAINS<sup>1,\*</sup>, RITSA STORENG<sup>3,\*</sup>, BJØRN BUSUND<sup>1</sup>,  
ANTON LANGEBREKKE<sup>1</sup> & PETER FEDORCSAK<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Department of Gynecology, Oslo University Hospital, Oslo, <sup>2</sup>Institute of Clinical Medicine, University of Oslo, Oslo, and

<sup>3</sup>Norwegian National Advisory Unit on Women's Health, Oslo University Hospital, Oslo, Norway

## Key words

Autotransplantation, cancer, chemotherapy, cryopreservation, fertility, ovary

## Correspondence

Tom Tanbo, Department of Gynecology, Oslo University Hospital, PO Box 4950 Nydalen, 0424 Oslo, Norway.

E-mail: ttanbo@ous-hf.no

\*Ritsa Storeng and Gareth Greggains contributed equally to the manuscript.

## Conflict of interest

The authors have stated explicitly that there are no conflicts of interest in connection with this article.

Please cite this article as: Tanbo T, Greggains G, Storeng R, Busund B, Langebrekke A, Fedorcsak P. Autotransplantation of cryopreserved ovarian tissue after treatment for malignant disease – the first Norwegian results. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2015; 94:937–941.

Received: 16 February 2015

Accepted: 13 June 2015

DOI: 10.1111/aogs.12700

## Abstract

**Introduction.** With increasing survival rates after treatment for cancer in prepubertal girls and women of reproductive age, an increasing focus on quality of life has emerged. Both irradiation and cytotoxic drugs can be detrimental to future fertility, consequently several treatment alternatives have been developed to spare or restore fertility in young females diagnosed with cancer. One of these options is cryopreservation of ovarian tissue before treatment and autotransplantation at a later time. **Material and methods.** We present the Norwegian experience after 11 years of practice with ovarian tissue cryopreservation. A total of 164 patients have had ovarian tissue cryopreserved during the period 2004–2014. Fifteen patients died during the observation period. Six patients requested autotransplantation, which was performed in two women. **Results.** Both patients conceived, one spontaneously and one after assisted reproduction due to a concomitant male factor. The pregnancies were uneventful and they each gave birth to a healthy child. **Conclusions.** Cryopreservation with later autotransplantation of ovarian tissue should be offered to a selected group of young women with cancer.

**Abbreviations:** AMH, anti-Müllerian hormone; FSH, follicle-stimulating hormone; HMAS, high-dose melphalan with autologous stem cell support; ProH, propanediol.

## Introduction

During the last decades, the cure rate in girls and young women who have been treated for a malignant disease has increased substantially, partly as the result of more effective multimodal chemotherapy treatment. As a result of this increased survival rate, a focus on future quality of life has emerged. In light of findings that ovarian function in young cancer survivors is lower than in other women of

## Key Message

Chemotherapy for malignant disease may have a cytotoxic effect on ovarian follicles, thereby resulting in ovarian failure. Ovarian tissue harvesting before treatment with subsequent autotransplantation after recovery has been reported. We report two successful cases after treatment for lymphoma.

similar ages, future fertility of patients undergoing treatment for cancer has become a key area of interest (1,2).

Factors that substantially affect fertility in female cancer survivors include age at start of treatment, chemotherapy regimen, and cumulative dose of chemotherapeutic agents. Cyclophosphamide, for example, is frequently used in the treatment of malignancies and in certain autoimmune diseases, and it has been shown to induce depletion of the primordial follicle pool (3,4).

Harvesting, cryopreserving and subsequent autologous grafting of ovarian tissue, as a means of preserving fertility in prepubertal girls and women of reproductive age who have to undergo gonadotoxic treatment, was developed during the end of the twentieth century, and the first birth of a human offspring after such treatment occurred in 2004 (5,6). After an amendment to the Norwegian Biotechnology Act in 2004, cryopreservation of ovarian tissue has been allowed in patients who have to undergo treatment that will adversely affect their future fertility. The Ministry of Health and Care Services has decided that ovarian tissue cryopreservation in Norway shall be centralized to Oslo University Hospital.

We report our experiences so far here.

## Material and methods

Patients referred for ovarian tissue cryopreservation were thoroughly examined for their clinical suitability and eligibility according to criteria set out in the Biotechnology Act. The assessment was based on age, the type of treatment planned for the patient, the probability of post-treatment sterility, whether malignant cells could be present in ovarian tissue, and general prognosis.

For patients with a localized tumor or non-malignant disease, the upper age limit was 35 years. For patients with a systemic disease like leukemia, the upper age limit was 25 years. Patients were tested for hepatitis B virus, hepatitis C virus, human immunodeficiency virus types 1 and 2, and syphilis. In the early years of our program, early follicular phase serum follicle-stimulating hormone (FSH) was taken as an indicator of ovarian reserve, later serum anti-Müllerian hormone (AMH) was measured.

In most cases, unilateral oophorectomy was performed; in a few women, multiple biopsies of the ovarian cortex were collected by laparoscopy. Harvested cortical tissue was cut into  $5 \times 5 \times 1$ -mm slices under sterile conditions, and cryopreserved according to a programmed slow-freezing protocol. Briefly, equilibration of ovarian tissue was carried out according to standard instructions for a propanediol (PrOH) -containing embryo cryopreservation pack (Origio, Måløv, Denmark). Tissue pieces were washed through the three cryopreservation solutions as follows: medium 1 for 10 min (basal medium), med-

ium 2 for 10 min (1.5 M PrOH), and briefly through medium 3 (1.5 M PrOH and 0.1 M sucrose), followed by transfer to 1.8-mL cryovials containing medium 3. Slow freezing was conducted according to a standard embryo freezing programme ( $-2.0^{\circ}\text{C}/\text{min}$  to  $7^{\circ}\text{C}$ , seeding,  $-0.3^{\circ}\text{C}/\text{min}$  to  $-30^{\circ}\text{C}$ ,  $-30^{\circ}\text{C}/\text{min}$  to  $-150^{\circ}\text{C}$ ). Patients living far from Oslo had the ovarian tissue removed at the nearest university hospital, and the tissue was transported on ice in insulated transportation containers. Time from operation to delivery took no more than 6 h.

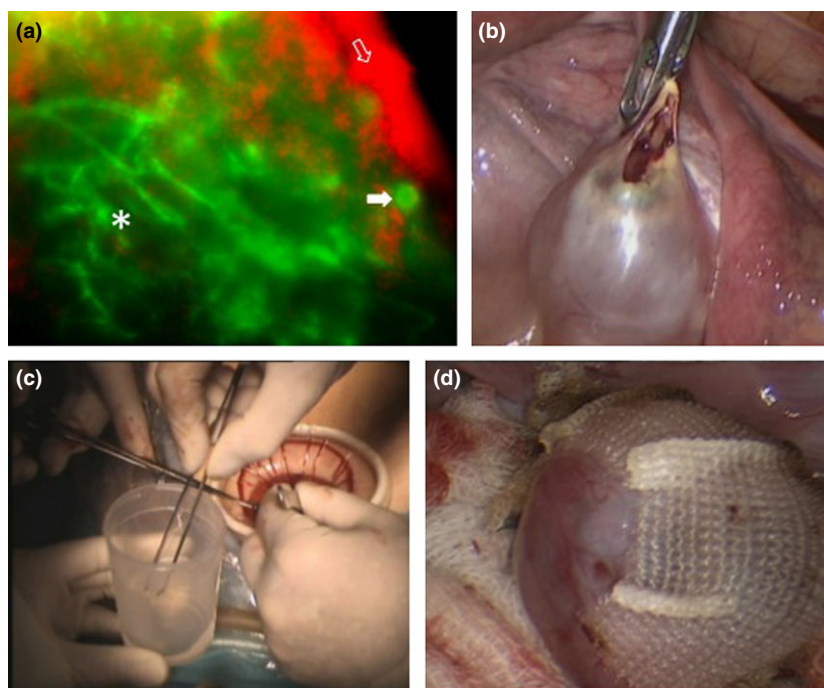
For autologous transplantation, tissue slices were thawed for 1 min in air, and then 2 min in a  $30^{\circ}\text{C}$  water bath. Tissue pieces were washed through thawing solutions, according to standard instructions for an embryo thawing pack (Origio), as follows: 5 min in medium 1 (1 M PrOH, 0.2 M sucrose), 5 min in medium 2 (0.5 M PrOH, 0.2 M sucrose), 5 min in medium 3 (0.2 M sucrose), and 5 min in medium 4 (basal medium). Five to six thawed tissue pieces per patient were placed into a pouch created in the remaining ovary by mini-laparotomy (Figure 1).

After autotransplantation the patients were followed up regularly with serum FSH and AMH measurements and assessment of follicle development by vaginal ultrasound scans.

Two patients that have undergone autotransplantation are described in detail. They have both read the manuscript and given written consent for use of the data.

## Results

During the period January 2004 to December 2014, 164 patients underwent ovarian tissue cryopreservation for breast cancer (40%), lymphomas (25%), sarcomas (15%), and other malignant or benign conditions (20%). Fifteen of the patients died during the observation period. Six patients requested autotransplantation during the period. One patient previously treated for breast cancer had conceived spontaneously immediately before surgery. Another patient with breast cancer had ovarian tissue harvesting performed at another hospital and sent to us for cryopreservation. Later, after ovarian tissue harvesting and cryopreservation, she was diagnosed with *BRCA-1* and *BRCA-2* gene mutations. In addition, she had a family history with several cases of *BRCA*-related cancers, leading us to advise against autotransplantation. The third patient was diagnosed with acute lymphatic leukemia at the age of 22 years and underwent ovarian tissue cryopreservation before cytotoxic treatment. She had conceived while on chemotherapy and gave birth to a healthy child at the age of 23 years. She has since returned for autotransplantation of ovarian tissue, which we advised against after demonstration of leukemia-specific gene re-arrangements (*IgH* and *TCRD/A*) in the cryopreserved ovarian tissue using quantitative



**Figure 1.** Autotransplantation of frozen–thawed ovarian tissue with surviving follicles. (a) Surviving follicles and vascular network in frozen–thawed ovarian tissue before autografting. Fragments of thawed ovarian cortical tissue were incubated at 37°C with ethidium bromide (red) and calcein AM (green) for 2 h to label dead and live cells, respectively. The unfixed tissue is oriented on an inverted microscope ( $\times 100$  magnification) on the cortex (left) to medulla (right) axis. Although cortical connective tissue is replete with dead cells (open arrow), some ovarian follicles (closed arrow) and the vascular network of the medulla (asterisk) survive for up to 2 h post-thawing. (b) Incision has been made in the ovary. (c) Thawed cortical biopsies are deposited in the incision. (d) The incision is closed and covered with Surgicel®.

TaqMan-PCR. The contamination of leukemic cells was estimated to be 0.7%. A fourth patient treated for diffuse natural killer cell lymphoma is currently under assessment for autotransplantation.

Two patients have undergone autologous tissue transplantation to their remaining ovary. The first patient was a 24-year-old, para 1, who had T-cell lymphoma diagnosed 1 year after a successful pregnancy. She was initially treated with several courses of multimodal chemotherapy cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine and etoposide. Due to relapse, however, high-dose chemotherapy with stem cell support [(high-dose melphalan with autologous stem cell support (HMAS))] was scheduled. We performed unilateral oophorectomy with cryopreservation of ovarian cortex slices to preserve her fertility.

Five years after HMAS treatment, the patient was in complete remission, but experienced post-treatment amenorrhea for 2.5 years, and subsequently had irregular periods with 1- to 4-month intervals. After unsuccessfully trying to become pregnant for 1 year, vaginal ultrasound revealed one small follicle in her remaining ovary. Serum AMH was  $<1$  pmol/L and FSH was 23.7 IU/L, indicating severely reduced ovarian reserve. We transplanted thawed ovarian cortex slices to her remaining ovary. For 3 months

after the surgery, serum AMH remained low ( $<1$  pmol/L). The patient was divorced and lost to further follow up, but after 3 years she contacted us again, 20 weeks pregnant after a spontaneous conception. She delivered a healthy girl of normal weight after an uneventful pregnancy and with induction of labor 1 week before term on suspicion of intrauterine growth restriction.

The second patient was a 22-year-old, gravida 0, treated for Hodgkin lymphoma. Because of resistance to conventional chemotherapy, HMAS and irradiation of supradiaphragmatic lymph nodes were planned. Before HMAS, we cryopreserved ovarian tissue after unilateral oophorectomy. The patient resumed spontaneous, but irregular menstrual periods. Repeated serum FSH measurements showed values above the reference level. Three years after HMAS, we found FSH levels of 35 IU/L in the early follicular phase, and 40 IU/L after 5 days of clomiphene citrate (cycle day 9–10). Five years after HMAS, the patient wished to conceive, and, because of concomitant severe male factor infertility, two treatments with intracytoplasmic injection were performed, using controlled ovarian stimulation with high cumulative FSH dosage (5100 IU and 9900 IU, respectively). We observed poor follicular response and failed to obtain embryos for

**Table 1.** Serum anti-Müllerian hormone (AMH) concentrations with reference values in brackets measured before (–) and after autotransplantation in Patient No. 2.

| Months related to autotransplantation | AMH                 |
|---------------------------------------|---------------------|
| –17                                   | <0.3 µg/L (0.3–6.8) |
| – 2                                   | <1 pmol/L (3–60)    |
| 2                                     | 2 pmol/L (3–60)     |
| 5                                     | 2 pmol/L (3–60)     |
| 6                                     | 4 pmol/L (3–60)     |
| 10                                    | 4 pmol/L (3–60)     |
| 14                                    | 1 pmol/L (3–60)     |
| 16                                    | 2 pmol/L (3–60)     |
| 17                                    | 8 pmol/L (3–60)     |
| 40                                    | 9 pmol/L (3–60)     |

transfer. One year later, we transplanted thawed ovarian cortex slices to the remaining ovary (Figure 1). During the following 6 months, serum AMH levels increased from <1 to 4 pmol/L (reference level 3–60 pmol/L). Sixteen months after transplantation, serum AMH reached a level of 8 pmol/L (Table 1). Encouraged by the return of ovarian function, we performed seven cycles of assisted reproduction treatment with intracytoplasmic sperm injection (Table 2). The first cycle was performed with minimal stimulation according to Pelinck *et al.* (7). As opposed to the two unsuccessful attempts before transplantation, we obtained multiple oocytes in five out of seven attempts, and transferred fresh embryos in three treatments. Eventually, she conceived after the seventh attempt, underwent an uneventful pregnancy, and delivered a healthy boy by vaginal delivery, induced due to postmaturity. Five months after delivery and 40 months after transplantation her AMH level peaked at 9 pmol/L.

## Discussion

The number of ovarian autotransplantations performed worldwide is unknown, but restoration of ovarian activity

after transplantation has been reported to be as high as 90%, and resulted in the birth of approximately 40 children (8,9). Since the introduction of ovarian tissue cryopreservation in Norway in 2004, 164 procedures have been performed, six patients (3.7%) requested autotransplantation, and two (1.2%) replacements have been carried out. Possible causes for the few replacement requests may be resumption of spontaneous fertility after treatment, age of the patient, no desire to become pregnant, no partner, or short observation period.

After the first successful ovarian tissue transplantation (6), it was questioned whether residual follicular activity in the remaining ovary or follicles from the transplanted ovarian tissue resulted in the pregnancy. This question is also relevant to the two cases outlined here. In the second patient, the results of the two initial unsuccessful *in vitro* fertilization attempts, compared with those after transplantation, argue against residual ovarian activity as the cause of a successful pregnancy. To our knowledge, only two live births have been reported after autotransplantation in patients with bilateral oophorectomy (10,11).

With increasing age, the primordial follicle cohort generated during the fetal period falls, whereas the proportion of aneuploid oocytes increases, resulting in a decline in female fertility (12). We therefore maintain an upper age limit of 35 years for cryopreservation of ovarian tissue and this is in accordance with the practice in many clinics performing ovarian tissue cryopreservation. In patients with systemic cancers, such as leukemia, we have an upper age limit of 25 years. In such cases, contamination of ovarian tissue with malignant cells may result in relapse of disease following transplantation, and we are not aware that transplantation of ovarian tissue in patients with leukemia has ever been performed (13). However, in very young patients the tissue can be stored for decades in the hope that methods for *in vitro* growth of follicles, safe xenotransplantation to immunosuppressed animals or techniques for purging of malignant

**Table 2.** Summary of *in vitro* fertilization/intracytoplasmic injection treatments in Patient No. 2.

| Attempt no. | Months since transplantation | Dose hMG (IE) | No. of oocytes retrieved | No. of MII oocytes | No. of 2PN zygotes | No. of cleavage-stage embryos | No. of embryos transferred |
|-------------|------------------------------|---------------|--------------------------|--------------------|--------------------|-------------------------------|----------------------------|
| 1*          | –                            | 5100          | 0                        | 0                  | –                  | –                             | –                          |
| 2*          | –                            | 9900          | 2                        | 1                  | 0                  | –                             | –                          |
| 3           | 6                            | 600           | 0                        | –                  | –                  | –                             | –                          |
| 4           | 8                            | 3000          | 1                        | 1                  | 0                  | –                             | –                          |
| 5           | 10                           | 4500          | 3                        | 2                  | 1                  | 1                             | 1                          |
| 6           | 15                           | 5025          | 0                        | –                  | –                  | –                             | –                          |
| 7           | 20                           | 3450          | 4                        | 4                  | 2                  | 2                             | 2                          |
| 8           | 23                           | 4650          | 4                        | 1                  | 0                  | –                             | –                          |
| 9           | 25                           | 4900          | 3                        | 2                  | 1                  | 1                             | 1                          |

hMG, human menopausal gonadotropin; MII, metaphase II; PN, pronuclei.

\*Attempts before transplantation.

cells from the cryopreserved ovarian tissue, may become available.

Several methods for preserving fertility in patients undergoing treatment for cancer have been developed in recent years. The available options include embryo and oocyte banking, gonadal suppression with gonadotropin-releasing hormone agonists, and ovarian tissue cryopreservation (14). Embryo and oocyte banking have predictable success rates, but require time for preceding ovarian stimulation, and may be unsuitable in hormone-sensitive cancers. Despite the obvious benefit of preserving natural fertility without time delay or surgery, the efficacy of gonadotropin-releasing hormone agonists remains controversial. Although ovarian tissue cryopreservation is still regarded by many as experimental, ever increasing experience may show that orthotopic, autologous ovarian tissue transplantation is a reasonable alternative for preserving fertility in girls and women of reproductive age who have to receive gonadotoxic treatment.

## Funding

No specific funding.

## References

- Nielsen SN, Andersen AN, Schmidt KT, Rechnitzer C, Schmiegelow K, Bentzen JG, et al. A 10-year follow up of reproductive function in women treated for childhood cancer. *Reprod Biomed Online*. 2013;27:192–200.
- Sklar CA, Mertens AC, Mitby P, Whitton J, Stovall M, Kasper C, et al. Premature menopause in survivors of childhood cancer: a report from the childhood cancer survivor study. *J Natl Cancer Inst*. 2006;98:890–6.
- Warne GL, Fairley KF, Hobbs JB, Martin FI. Cyclophosphamide-induced ovarian failure. *N Engl J Med*. 1973;289:1159–62.
- Green DM, Nolan VG, Goodman PJ, Whitton JA, Srivastava D, Leisenring WM, et al. The cyclophosphamide equivalent dose as an approach for quantifying alkylating agent exposure: a report from the Childhood Cancer Survivor Study. *Pediatr Blood Cancer*. 2014;61:53–67.
- Gosden RG, Baird DT, Wade JC, Webb R. Restoration of fertility to oophorectomized sheep by ovarian autografts stored at  $-196^{\circ}\text{C}$ . *Hum Reprod*. 1994;9:597–603.
- Donnez J, Dolmans MM, Demylle D, Jadoul P, Pirard C, Squifflet J, et al. Livebirth after orthotopic transplantation of cryopreserved ovarian tissue. *Lancet*. 2004;364:1405–10.
- Pelincx MJ, Vogel NE, Hoek A, Arts EG, Simons AH, Heineman MJ. Minimal stimulation IVF with late follicular phase administration of the GnRH antagonist cetrorelix and concomitant substitution with recombinant FSH: a pilot study. *Hum Reprod*. 2005;20:642–8.
- Donnez J, Dolmans MM, 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;99:1503–13.
- Donnez J, Dolmans MM. Transplantation of ovarian tissue. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2014;28:1188–97.
- Donnez J, Jadoul P, Pirard C, Hutchings G, Demylle D, Squifflet J, et al. Live birth after transplantation of frozen-thawed ovarian tissue after bilateral oophorectomy for benign disease. *Fertil Steril*. 2012;98:720–5.
- Stern CJ, Gook D, Hale LG, Agresta F, Oldham J, Rozen G, et al. Delivery of twins following heterotopic grafting of frozen-thawed ovarian tissue. *Hum Reprod*. 2014;29:1828.
- Broekmans FJ, Soules MR, Fauser BC. Ovarian aging: mechanisms and clinical consequences. *Endocr Rev*. 2009;30:465–93.
- Dolmans MM, Marinescu C, Saussoy P, Van Langendonck A, Amorim C, Donnez J. Reimplantation of cryopreserved ovarian tissue from patients with acute lymphoblastic leukemia is potentially unsafe. *Blood*. 2010;116:2908–14.
- McLaren JF, Bates GW. Fertility preservation in women of reproductive age with cancer. *Am J Obstet Gynecol*. 2012;207:455–62.

# Helhetlig gjennomgang av nasjonale og flerregionale behandlingstjenester i spesialisthelsetjenesten 2017

## Spørsmål til tjenestens faglige referansegruppe

SETT MARKØREN I DET GRÅ FELTET FØR DU STARTER SKRIVINGEN.

|                                                                                                                                                                                                                                                                                       |                                                                                                 |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Navn på tjenesten:                                                                                                                                                                                                                                                                    | <b>Nasjonal behandlingstjeneste for fertilitetsbevarende behandling med autologt ovarialvev</b> |
| Lokalisering:                                                                                                                                                                                                                                                                         | <b>Oslo Universitetssykehus HF</b>                                                              |
| 1. Hvor ofte arrangeres det møter mellom tjenesten og referansegruppen?<br><br>0-1                                                                                                                                                                                                    |                                                                                                 |
| 2. Deltar den faglige referansegruppen i utarbeidelse av tjenestens årsrapport?<br><br>Vanligvis                                                                                                                                                                                      |                                                                                                 |
| 3. Har referansegruppen bidratt i utarbeidelse av henvisningskriterier og henvisningsrutiner?<br><br>Referansegruppensmedlemmer har deltatt ved utarbeidelse av oppdaterter henvisningskriterier og -rutiner.                                                                         |                                                                                                 |
| 4. Har referansegruppen bidratt i utarbeidelse av informasjon om tjenesten til helsepersonell og brukere av tjenesten?<br><br>Ja, både lokalt ved egne institusjoner og nasjonalt                                                                                                     |                                                                                                 |
| 5. Mandat for faglige referansegrupper forutsetter at det enkelte medlem skal overvåke om tjenesten drives etter intensjonen, når det gjelder å gi et klinisk tilbud til pasienter fra egen region. Har referansegruppens medlemmer etablert rutiner for tilbakemelding til eget RHF? |                                                                                                 |

|                                                                                                                                                                                 |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Ja                                                                                                                                                                              |
| 6. Har tjenesten etablert et system for å ivareta brukermedvirkning?<br><br>Ja                                                                                                  |
| <b>Tilleggsinformasjon</b>                                                                                                                                                      |
| 7. Dersom du har informasjon som er viktig for å forstå hvordan tjenesten fungerer som en nasjonal eller flerregional behandlingstjeneste, så kan dette beskrives her:<br><br>- |

191216 arl