

化疗致卵巢损伤机制及评估在乳腺癌患者中的应用

李宁宁, 黎璞, 唐毅, 苏榕

(广州医科大学附属第三医院, 广东 广州 510150)

摘要: 早期乳腺癌患者生存期明显延长, 年轻患者的生育功能保护日益受到重视, 肿瘤与生育成为近年肿瘤学中快速发展的领域。全文就化疗所致卵巢损伤机制、卵巢功能评估在乳腺癌患者内分泌治疗选择中的价值以及生育功能保护方式等内容作一综述。

关键词: 乳腺癌; 化疗; 卵巢功能; 生育功能; 内分泌治疗

中图分类号: R737.9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2019)07-0616-06

doi: 10.11735/j.issn.1671-170X.2019.07.B006

Mechanism and Assessment of Chemotherapy-Induced Ovarian Toxicity and Its Application in Breast Cancer Patients

LI Ning-ning, LI Pu, TANG Yi, SU Rong

(The Third Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University, Guangzhou 510150, China)

Abstract: The survival time of early breast cancer patients has been significantly prolonged because of the improvement of diagnosis and treatment. More attention has been paid to the fertility preservation in young patients. Oncofertility is a new and rapidly growing field in oncology. This article reviews chemotherapy-induced ovarian toxicity, the application of ovarian function assessment in endocrine therapy, and the strategies for fertility preservation in young patients with early breast cancer.

Subject words: breast cancer; chemotherapy; ovarian function; fertility; endocrine therapy

乳腺癌患者, 特别是 40 岁之前年轻患者的生存期明显延长, 但由此付出生育能力丧失的代价, 却是年轻乳腺癌患者最难以面对的治疗副作用之一, 甚至有患者因此拒绝接受系统性治疗^[1-2]。近年来肿瘤与生育成为肿瘤学中快速发展的领域, 保护女性生育能力的技术已逐渐用于临床。本文就化疗所致卵巢损伤机制、卵巢功能评估及临床应用、生育功能保护方式等方面作一综述, 以期年轻乳腺癌患者的治疗选择提供参考依据。

1 卵巢结构及卵泡发育

胚胎 20 周时, 卵母细胞数达到顶峰, 约 600~

700 万; 出生时, 卵母细胞处于第一次减数分裂前期, 外周围绕单层梭形前颗粒细胞, 形成原始卵泡, 原始卵泡约 100~200 万个, 主要位于卵巢皮质浅层与髓质交界处, 周围血供丰富; 青春期, 原始卵泡减少至 30~40 万个, 每个月经周期会启动生长一组原始卵泡(10~20 个), 经过约 9 个月生长演变, 成为窦前卵泡, 此时颗粒细胞层数增加, 其内出现卵泡刺激素受体、雌激素受体和雄激素受体, 在雌二醇(estradiol, E2)和卵泡刺激素(follicle-stimulating hormone, FSH)的协同作用下, 颗粒细胞间隙集聚的卵泡液逐渐增加, 最后融合成卵泡腔, 经过约 71 天的变化, 成为窦状卵泡; 窦前卵泡和窦状卵泡为生长卵泡, 主要位于卵巢皮质深层; 窦状卵泡随后继续生长, 其中一个约 14 天后成为优势卵泡, 突出于卵巢表面, 最终排出卵母细胞, 此时卵母细胞处于第二次减数分裂中期, 可以受精。原始卵泡一旦启动生长就是一个连续不断的发育分化过程, 要么变成优势卵泡, 使卵子

基金项目: 广东省医学科学技术研究基金项目(A2016441)

通信作者: 李宁宁, 主治医师, 博士研究生; 广州医科大学附属第三医院 乳腺外科, 广东省广州市荔湾区多宝路 63 号(510150); E-mail: LNN345@163.com

收稿日期: 2019-03-12; **修回日期:** 2019-05-15

成熟、排放,要么中途凋亡闭锁^[3-4]。

2 化疗诱导卵巢损伤机制

2.1 卵母细胞、颗粒细胞凋亡

卵母细胞凋亡是化疗致原始卵泡丢失的主要原因。原始卵泡中的卵母细胞长期处于第一次减数分裂前期,对毒性物质所致的遗传性损伤很敏感,特别在 DNA 损伤修复失败时极易积累损伤,且多数情况下受损卵母细胞修复失败,进而凋亡^[5]。化疗药物可使卵母细胞 DNA 发生多种损伤,其中 DNA 双链断裂危害最大,烷化剂和拓扑异构酶抑制剂均能导致此类损伤,注射环磷酰胺 12 小时就可出现以 TUNEL 标记的原始卵泡凋亡高峰,48 小时后出现原始卵泡丢失高峰。而生长长期卵泡中的卵母细胞处于减数分裂期,此时对任何化疗药物都很敏感,包括对原始卵泡来说低毒的药物^[6]。此外,化疗药物还可诱导颗粒细胞凋亡,也能导致卵泡闭锁及丢失^[7]。

2.2 原始卵泡过度招募

目前提出原始卵泡过度招募的假说,来解释对化疗药物相对不敏感的静止期原始卵泡在治疗中不断耗竭的原因,即生长期卵泡受损,对原始卵泡招募的抑制作用减弱,原始卵泡招募增多,过度活化,以取代受损的窦前卵泡、窦卵泡,继而被加速消耗^[8-10]。

2.3 卵巢基质损伤

化疗药物对卵巢基质细胞造成的损害主要表现为血管损伤和基质纤维化,蒽环类、烷化剂及抗代谢类药物均可导致卵巢血流量减少、血管密度降低、基质细胞凋亡及纤维化表现^[11-12]。原始卵泡及生长期卵泡均依赖卵巢基质充足的血供及其支持和保护作用,生长期卵泡对急性缺血更加敏感^[12-13]。因此,卵巢基质损伤可间接导致化疗后卵泡数量减少。

3 化疗药物生殖毒性及机制

通常化疗药物按其导致不孕风险的高低分为以下几类^[14-16]。

高风险药物:推测单药化疗出现永久闭经的风险大于 80%。烷化剂包括环磷酰胺、氮芥、瘤可宁、白消安和美法仑等,属于细胞周期非特异性药物,其活性代谢物与 DNA 形成铰链,抑制 DNA 合成及其

功能,造成 DNA 双链断裂,导致 p53 介导的细胞凋亡,主要损害原始卵泡、颗粒细胞及基质细胞血管。

中风险药物:推测单药化疗出现永久闭经的风险 40%~60%。主要包含以下 2 类:(1)铂类,如顺铂、卡铂,属于细胞周期非特异性药物,可与 DNA 共价结合,形成 DNA 链间、链内铰链,导致复制时 DNA 断裂,造成 DNA 合成、转录和功能抑制,主要损害原始卵泡和颗粒细胞。(2)蒽环类,如阿霉素及表阿霉素,也为细胞周期非特异性药物,通过抑制拓扑异构酶 II,导致 DNA 断裂,还形成毒性自由基,促使 DNA 链断裂,从而抑制 DNA 合成及功能,干扰 DNA 转录,对原始卵泡、颗粒细胞及基质细胞血管均可造成损害。

低风险药物:推测单药化疗出现永久闭经的风险小于 20%。主要包含以下 3 类:(1)紫杉烷类,如紫杉醇、多西紫杉醇,属于细胞周期特异性药物,作用于 M 期,可通过与微管结合增加微管蛋白聚合,稳定微管,导致细胞分裂异常或停止。(2)长春碱类,如长春花碱、长春新碱、长春瑞滨,属于细胞周期特异性药物,作用于 M 期,可与微管蛋白聚合,干扰细胞分裂期微管蛋白聚合,抑制微管形成,使细胞分裂停止于分裂中期,造成细胞死亡。(3)抗代谢药,如甲氨蝶呤、5-氟尿嘧啶。甲氨蝶呤使二氢叶酸还原酶失活,抑制嘌呤核苷酸从头合成。5-氟尿嘧啶抑制胸苷酸合成酶并改变 RNA 加工,抑制 DNA 合成及其功能。发现低风险药物对鼠类成熟卵泡造成损害,未发现对人卵泡的毒性。

4 卵巢储备功能评估与内分泌治疗选择

4.1 卵巢储备功能评估主要指标

4.1.1 年龄

随着女性年龄的增加,决定卵巢储备功能的原始卵泡进行性减少,卵巢储备功能逐年降低。年龄超过 35~37 岁预示卵巢储备下降,超过 40 岁是卵巢低反应的公认高危因素^[17]。化疗后闭经者,年龄越大月经恢复率越低,接受 AC×4-T×4 方案乳腺癌患者的月经恢复率在 <40 岁者为 45.3%,40~50 岁为 10.9%,>50 岁仅为 3.2%^[18]。

4.1.2 抗苗勒管激素

一旦原始卵泡被募集就开始分泌抗苗勒管激素

(anti-Mullerian hormone, AMH), 当直径超过 8mm 时分泌停止, 因此 AMH 可间接反映原始卵泡数。目前认为年龄 20~40 岁女性 AMH 1.0~3.0ng/ml 为卵巢储备功能正常, 0.7~0.9ng/ml 为偏低, 0.3~0.6ng/ml 为降低, <0.3ng/ml 为极低, 绝经后 AMH 不能测及。AMH 对判断卵巢储备功能有较好的敏感性和特异性^[19]。化疗前 AMH 低于 1.87 ng/ml 是乳腺癌患者化疗后闭经的预测因子, 如化疗前 AMH 低于 3.32ng/ml 的患者即使化疗后月经恢复其卵巢储备功能也会明显受损, 应考虑生育功能保留^[20]。

4.1.3 基础 E2 及 FSH

E2 主要由生长期卵泡分泌, 随着卵泡的生长 E2 逐渐升高。当卵巢内储备的卵泡减少, 不能产生足够的抑制素来抑制 FSH 时, 更多的 FSH 促使原始卵泡提前进入募集和生长阶段, 导致后一月经周期的卵泡早期已存在提前发育的卵泡, 并产生较高水平 E2。因此, 基础 E2 升高提示卵巢储备功能降低, 其升高早于基础 FSH 升高。基础血清 E2 大于 184~367pmol/L 预测卵巢低反应, 但应与 FSH 结合判断^[21]。FSH 由垂体前叶分泌, 刺激生长期卵泡颗粒细胞增生分化并刺激卵泡产生雌激素。卵泡早期基础 FSH 水平可间接反映卵泡池的大小, 超过 10IU/L 对判断卵巢储备功能降低有很高的特异性, 但敏感性不高。FSH 正常而基础 E2 升高, 是介于卵巢储备功能明显降低和正常之间的过渡阶段。如果基础 FSH 和 E2 水平均升高, 则提示卵巢储备降低^[17, 21]。

4.1.4 基础窦卵泡数

AFC 是两侧卵巢直径 2~10mm 的窦卵泡数量总和, 可经阴道超声在卵泡早期测量, 与原始卵泡数稳定相关, 存在周期内和周期间变异, 也依赖检查者的经验^[22]。绝经前乳腺癌患者基线 AFC<13 个, 化疗后闭经的可能增大^[20], 化疗后闭经者基线 AFC (8.7±1.2) 个明显少于未闭经者 (19.8±3.0) 个^[23]。

4.2 内分泌治疗选择

临床实践中, 明确绝经前乳腺癌患者的残余卵巢储备功能, 不仅用于评估化疗后的生育能力, 还有助于激素受体阳性患者内分泌药物的选择。

尽管小于 40 岁者化疗后可能持续闭经, 但通常残余卵巢储备功能尚存, 因此这些患者不应单独使用芳香化酶抑制剂, 若考虑使用, 应同时加用促性腺激素释放激素类似物 (gonadotropin releasing hormone

analog, GnRHα) 抑制卵巢功能或行卵巢切除^[24]。超过 40 岁者出现化疗相关闭经 (chemotherapy-related amenorrhea, CRA) 或在使用他莫昔芬期间闭经者, 应检测 FSH 及 E2, 其中质谱技术检测的敏感性和特异性均很高, 且与其他类固醇分子无交叉反应^[25-26]。(1) FSH<30IU/L 且 E2>20pmol/L 提示绝经前状态, 应单独使用他莫昔芬, 或卵巢功能抑制+他莫昔芬。(2) FSH>40IU/L 且 E2<10pmol/L 通常提示绝经后状态, 特别是 AMH 同时低于检测下限, 可以考虑使用芳香化酶抑制剂 (AIs), 但仍需密切监测 E2 及 FSH 水平。DATA 研究纳入他莫昔芬治疗 2~3 年且 E2 及 FSH 处于绝经后水平的 CRA 患者, 对这些患者转 AIs 治疗后的激素水平进行 30 个月的随访观察发现, 45~50 岁者中仍有 15.2% (38/250) E2/FSH 恢复绝经前水平或月经恢复, 50~57 岁者占 1.2% (1/79)。5 年无远处复发生存率在卵巢功能恢复的患者为 76.9%, 未恢复者为 92.1%, 5 年总生存率分别为 80.8% 和 94.4%, 尽管研究并未发现结果有统计学差异^[27]。由此可见, 即使在化疗后闭经超过 1 年且 E2 及 FSH 水平在绝经后的患者在使用芳香化酶抑制剂时也应动态监测激素水平, 确保位于绝经后水平, 且一旦有患者阴道出血或潮热缓解, 应及时判断卵巢功能^[28-29], 此外, 即使出现 CRA 也应嘱患者做好避孕措施。

5 乳腺癌患者生育功能保护措施

大量流行病学研究证实乳腺癌治疗后妊娠生育并不增加肿瘤复发转移的概率, 也不会造成出生婴儿缺陷或其他严重儿童疾病的增加, 有生育要求的育龄期女性应及时获得生殖专家的会诊, 就生育功能保留方法、成功率及风险进行充分沟通, 应在全身性治疗 (化疗或内分泌治疗) 前进行生育功能保留^[24]。

5.1 促性腺激素释放激素类似物

有关 GnRHα 能否保护卵巢免受化疗相关损害的问题仍有争议, 主要原因在于决定卵巢储备功能的原始卵泡不表达促性腺激素或 GnRH 受体, 可能不受血清促性腺激素或 GnRH 影响, 而且, 高风险生殖毒性药物能够诱导原始卵泡中卵母细胞以非细胞周期依赖方式发生 DNA 双链断裂而凋亡, 而 GnRH 并没有修复 DNA 损伤的作用^[30-31]。

POEMS/S0230 随机对照研究发现戈舍瑞林能减少激素受体阴性乳腺癌患者化疗后的卵巢衰竭(8% vs 22%; $P=0.04$),并提高妊娠率(21% vs 11%, $P=0.03$),但妊娠比例仍不尽如人意^[32]。虽然 GnRH α 作为一种保留生育能力的方法在证据方面存在矛盾,美国肿瘤临床协会(American Society of Clinical Oncology, ASCO)仍建议可用于年轻乳腺癌患者,或希望减轻化疗相关卵巢功能损伤,但又无法实现胚胎冻存、卵子冻存或卵巢组织冻存的患者,目前, GnRH α 尚不应被认为是完全证实有效的生育功能保留方法^[33]。

5.2 体外受精胚胎冻存

这是目前最有效并作为常规使用的生育功能保留措施。适用人群为有男性伴侣的成年女性,其主要步骤包括控制性促排卵(一般 10~14 天)、获取成熟卵母细胞、体外受精、胚胎冻存。

体外受精胚胎冻存其优势在于可靠的成功率。平均年龄(35.1 ± 4.03)岁的不孕女性植入冷冻胚胎的临床妊娠率约为 60%,活产率约 34%,与植入新鲜胚胎类似^[34]。如果在植入前完善基因筛查,则植入整倍体冻融胚胎的活产率可达到 77%^[35]。平均年龄(35.8 ± 4.1)岁的乳腺癌女性的冷冻胚胎临床妊娠率约为 65%,活产率约为 45%,高于 35~37 岁年龄段不孕女性植入新鲜胚胎的活产率 38.2%,但差异无统计学意义,在这项研究中患者于胚胎冻存 5.25 年(2~8.2 年)后接受胚胎植入,植入胚胎(1.97 ± 0.7)个,胎龄(38 ± 2.3)周,新生儿体重(3071.4 ± 711.1)克($2300\sim 4100$ 克),未发现出生缺陷,随访 6~84 个月未发现婴幼儿生长问题^[36]。

5.3 成熟卵母细胞冻存

这是一项广泛应用辅助生殖技术。适用人群为无男性伴侣的成年女性,或限于法律、伦理或宗教因素无法使用捐赠精子者。其主要步骤包括控制性促排卵(10~14 天)、获取成熟卵母细胞、卵母细胞冻存。

近期一项多中心回顾研究对比了成熟卵母细胞玻璃化法冻融用于平均年龄(34.8 ± 2.1)岁恶性肿瘤患者(乳腺癌患者占 65%)和(37.6 ± 3.5)岁普通女性的差异,发现恶性肿瘤女性单次获取 M2 卵母细胞数多于普通女性(8.7 ± 6.9 vs 7.3 ± 5.6 , $P<0.001$),复苏后卵母细胞存活率相似(81.8% vs 83.9%),虽然临

床妊娠率偏低(38.4% vs 52.7%),但累计活产率类似(33.9% vs 35.2%)。不过亚组分析 35 岁以下年轻女性发现,肿瘤患者的卵母细胞存活率(81.2% vs 91.4%)、临床妊娠率(42.8% vs 65.9%)及累计活产率(42.1% vs 68.8%)均低于普通女性($P<0.05$),而 35 岁以上组,肿瘤患者与普通女比较上述三项指标均类似(82.7% vs 82.1%; 38.5.7% vs 36.5%; 29.0% vs 25.5%)^[37]。成熟卵母细胞复苏后的受精率和妊娠率在年轻女性中接近新鲜卵母细胞,但活产率仍不及胚胎冻存者^[38]。

5.4 未成熟卵母细胞冻存

在治疗时间紧迫时可直接获取并冻存未成熟卵母细胞,无需卵巢刺激,不必推迟治疗时间。未成熟卵母细胞可直接冻存,也可经体外成熟后再冻存^[39]。有研究认为先体外成熟再冻存的卵母细胞其成熟并存活率高于解冻后再体外成熟者(64% vs 33%, $P<0.05$)^[40]。尽管卵母细胞体外成熟后冻存是一项试验性的方法,仅有部分生殖中心掌握,但这种方法已有活产的报道^[41]。

5.5 卵巢组织冻存

卵巢组织冻存是既能保留生育功能也能恢复卵巢功能的方法,且无需卵巢刺激。虽然卵巢组织的获取及移植均需通过手术,也存在将潜在的卵巢转移肿瘤细胞植回体内的顾虑,但是,手术风险并不高,而且目前对仅有骨、软组织转移早期乳腺癌患者的研究并未发现冻存卵巢组织存在恶性肿瘤细胞的证据^[42]。目前此方法的卵巢功能恢复率约 94%,临床妊娠率约 36%,活产率约 30%,且近 50%的患者可以自然受孕,并已有超过 80 例婴儿出生^[43]。卵巢组织冻存也是青春期前患者唯一的生育功能保留方法。此外在获取卵巢组织的同时可分离未成熟卵母细胞,进一步保存生育功能。

乳腺癌患者从诊断到怀孕需等待的理想时间间隔尚不清楚。目前建议患者等待直至处于较低复发风险并停止抗癌治疗后 3~6 个月,还需综合考虑患者年龄、卵巢储备功能、系统治疗时间以及个体复发风险。对于仅需辅助内分泌治疗的低复发风险患者,在与患者充分沟通肿瘤复发风险与生育需求的基础上,在至少 2~3 年内内分泌治疗后,可以慎重选择妊娠,但强烈建议患者分娩后继续行内分泌治疗^[44]。对于不愿等待至肿瘤治疗结束再妊娠或存在妊娠禁忌的患

者,在法律允许的情况下可以考虑妊娠代孕技术^[14]。

化疗造成的卵巢功能损害不容忽视,患者应充分获知化疗的作用及致卵巢损伤的可能。若患者有保留生育功能的意愿,肿瘤专科医生应同生殖医学专家一起,在患者开始肿瘤治疗前,制定卵巢功能保护方案。临床肿瘤医师在面对肿瘤患者时不仅应仅关注肿瘤治疗问题,还应对有生育要求的患者主动提供指导,充分尊重患者的意愿。

参考文献:

- [1] Ruddy KJ, Gelber SI, Tamimi RM, et al. Prospective study of fertility concerns and preservation strategies in young women with breast cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2014, 10, 32(11): 1151-1156.
- [2] Llarena NC, Estevez SL, Tucker SL. Impact of fertility concerns on tamoxifen initiation and persistence[J]. *J Natl Cancer Inst*, 2015, 107(10): djv202.
- [3] Grive KJ, Freiman RN. The developmental origins of the mammalian ovarian reserve[J]. *Development*, 2015, 142(15): 2554-2563.
- [4] Lew R. Natural history of ovarian function including assessment of ovarian reserve and premature ovarian failure [J]. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*, 2019, 55: 2-13.
- [5] Carroll J, Marangos P. The DNA damage response in mammalian oocytes[J]. *Front Genet*, 2013, 4: 117.
- [6] Winship AL, Stringer JM, Liew SH, et al. The importance of DNA repair for maintaining oocyte quality in response to anti-cancer treatments, environmental toxins and maternal ageing[J]. *Hum Reprod Update*, 2018, 25(2): 119-134.
- [7] Yuksel A, Bildik G, Senbabaoglu F, et al. The magnitude of gonadotoxicity of chemotherapy drugs on ovarian follicles and granulosa cells varies depending upon the category of the drugs and the type of granulosa cells [J]. *Hum Reprod*, 2015, 30(12): 2926-2935.
- [8] Kalich-Philosoph L, Roness H, Carmely A, et al. Cyclophosphamide triggers follicle activation and "burnout"; AS101 prevents follicle loss and preserves fertility [J]. *Sci Transl Med*, 2013, 5(185): 185ra62.
- [9] Chang EM, Lim E, Yoon S, et al. Cisplatin induces over-activation of the dormant primordial follicle through PTEN/AKT/FOXO3a pathway which leads to loss of ovarian reserve in mice[J]. *PLoS One*, 2015, 10(12): e0144245.
- [10] Lande Y, Fisch B, Tsur A, et al. Short-term exposure of human ovarian follicles to cyclophosphamide metabolites seems to promote follicular activation in vitro [J]. *Reprod*

Biomed Online, 2017, 34(1): 104-114.

- [11] Meirow D, Dor J, Kaufman B, et al. Cortical fibrosis and blood-vessels damage in human ovaries exposed to chemotherapy: potential mechanisms of ovarian injury[J]. *Hum Reprod*, 2007, 22(6): 1626-1633.
- [12] Bar-Joseph H, Stemmer SM, Tsarfaty I, et al. Chemotherapy-induced vascular toxicity-real-time in vivo imaging of vessel impairment[J]. *J Vis Exp*, 2015, (95): e51650.
- [13] Fabbri R, Macciocca M, Vicenti R, et al. Doxorubicin and cisplatin induce apoptosis in ovarian stromal cells obtained from cryopreserved human ovarian tissue[J]. *Future Oncol*, 2016, 12(14): 1699-1711.
- [14] Taylan E, Oktay KH. Current state and controversies in fertility preservation in women with breast cancer [J]. *World J Clin Oncol*, 2017, 8(3): 241-248.
- [15] Bedoschi GM, Navarro PA, Oktay KH. Novel insights into the pathophysiology of chemotherapy-induced damage to the ovary[J]. *Panminerva Med*, 2019, 61(1): 68-75.
- [16] Balachandren N, Davies M, Davies M. Fertility, ovarian reserve and cancer[J]. *Maturitas*, 2017, 105: 64-68.
- [17] Dunlop CE, Anderson RA. Uses of anti-mullerian hormone (AMH) measurement before and after cancer treatment in women[J]. *Maturitas*, 2015, 80(3): 245-250.
- [18] Swain SM, Land SR, Ritter MW, et al. Amenorrhea in premenopausal women on the doxorubicin-and-cyclophosphamide-followed-by-docetaxel arm of NSABP B-30 trial [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2009, 113(2): 315-320.
- [19] Jamil Z, Fatima SS, Ahmed K. Anti-mullerian hormone: above and beyond conventional ovarian reserve markers [J]. *Dis Markers*, 2016, 2016: 5246217.
- [20] D'Avila ÂM, Biolchi V, Capp E. Age, anti-müllerian hormone, antral follicles count to predict amenorrhea or oligomenorrhea after chemotherapy with cyclophosphamide [J]. *J Ovarian Res*, 2015, 8: 82.
- [21] Chen X, Chen SL. Evaluation and clinical significance of hormone test on ovarian reserve function[J]. *Practical Obstetrics and Gynecology*, 2013, 29(9): 646-649. [陈薪, 陈士岭. 激素检测对卵巢储备功能的评价及临床意义[J]. *实用妇产科杂志*, 2013, 29(9): 646-649.]
- [22] Tal R, Seifer DB. Ovarian reserve testing: a user's guide [J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2017, 217(2): 129-140.
- [23] Anderson RA, Cameron DA. Pretreatment serum anti-mullerian hormone predicts long-term ovarian function and bone mass after chemotherapy for early breast cancer[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2011, 96(5): 1336-1343.
- [24] Aigner J, Smetanay K, Hof H, et al. Omission of axillary

- dissection according to ACOSOG Z0011: impact on adjuvant treatment recommendations [J]. *Annals of Surgical Oncology*, 2013, 20(5): 1538–1544.
- [25] Ketha SS, Singh RJ, Ketha H. Role of mass spectrometry in clinical endocrinology [J]. *Endocrinol Metab Clin North Am*, 2017, 46(3): 593–613.
- [26] Wang Q, Mesaros C, Blair IA. Ultra-high sensitivity analysis of estrogens for special populations in serum and plasma by liquid chromatography-mass spectrometry: Assay considerations and suggested practices[J]. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2016, 162: 70–79.
- [27] van Hellemond IEG, Vriens IJH, Peer PGM, et al. Efficacy of anastrozole after tamoxifen in early breast cancer patients with chemotherapy-induced ovarian function failure [J]. *Int J Cancer*, 2019, 145(1): 274–283.
- [28] van Hellemond IEG, Vriens IJH, Peer PGM, et al. Ovarian function recovery during anastrozole in breast cancer patients with chemotherapy-induced ovarian function failure [J]. *J Natl Cancer Inst*, 2017, 109(12).
- [29] Krekow LK, Hellerstedt BA, Collea RP, et al. Incidence and predictive factors for recovery of ovarian function in amenorrheic women in their 40s treated with letrozole[J]. *J Clin Oncol*, 2016, 34(14): 1594–1600.
- [30] Oktay K, Bedoschi G. Appraising the biological evidence for and against the utility of GnRHα for preservation of fertility in patients with cancer [J]. *J Clin Oncol*, 2016, 34(22): 2563–2565.
- [31] Soleimani R, Heytens E, Darzynkiewicz Z, et al. Mechanisms of chemotherapy-induced human ovarian aging: double strand DNA breaks and microvascular compromise [J]. *Aging (Albany NY)*, 2011, 3(8): 782–793.
- [32] Moore HC, Unger JM, Phillips KA, et al. Goserelin for ovarian protection during breast-cancer adjuvant chemotherapy[J]. *N Engl J Med*, 2015, 372(10): 923–932.
- [33] Oktay K, Harvey BE, Partridge AH, et al. Fertility preservation in patients with cancer: ASCO clinical practice guideline update[J]. *J Clin Oncol*, 2018, 36(19): 1994–2001.
- [34] Check JH, Katsoff B, Wilson C, et al. Pregnancy outcome following fresh vs frozen embryo transfer into gestational carriers using a simplified slow freeze protocol [J]. *Clin Exp Obstet Gynecol*, 2012, 39(1): 23–24.
- [35] Coates A, Kung A, Mounts E, et al. Optimal euploid embryo transfer strategy, fresh versus frozen, after preimplantation genetic screening with next generation sequencing: a randomized controlled trial [J]. *Fertil Steril*, 2017, 107(3): 723–730.e3.
- [36] Oktay K, Turan V, Bedoschi G, et al. Fertility preservation success subsequent to concurrent aromatase inhibitor treatment and ovarian stimulation in women with breast cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2015, 33(22): 2424–2429.
- [37] Cobo A, García-Velasco J, Domingo J, et al. Elective and onco-fertility preservation: factors related to IVF outcomes [J]. *Hum Reprod*, 2018, 33(12): 2222–2231.
- [38] Cobo A, Garcia-Velasco JA, Domingo J, et al. Is vitrification of oocytes useful for fertility preservation for age-related fertility decline and in cancer patients [J]. *Fertil Steril*, 2013, 99(6): 1485–1495.
- [39] Park CW, Lee SH, Yang KM, et al. Cryopreservation of in vitro matured oocytes after ex vivo oocyte retrieval from gynecologic cancer patients undergoing radical surgery[J]. *Clin Exp Reprod Med*, 2016, 43(2): 119–125.
- [40] Lee JA, Barritt J, Moschini RM, et al. Optimizing human oocyte cryopreservation for fertility preservation patients: should we mature then freeze or freeze then mature [J]. *Fertil Steril*, 2013, 99(5): 1356–1362.
- [41] Chian RC, Huang JY, Gilbert L, et al. Obstetric outcomes following vitrification of in vitro and in vivo matured oocytes[J]. *Fertil Steril*, 2009, 91(6): 2391–2398.
- [42] Dolmans MM, Iwahara Y, Donnez J, et al. Evaluation of minimal disseminated disease in cryopreserved ovarian tissue from bone and soft tissue sarcoma patients [J]. *Hum Reprod*, 2016, 31(10): 2292–2302.
- [43] Oktay K, Bedoschi G, Pacheco F, et al. First pregnancies, live birth, and in vitro fertilization outcomes after transplantation of frozen-banked ovarian tissue with a human extracellular matrix scaffold using robot-assisted minimally invasive surgery [J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2016, 214(1): 94.e1–e9.
- [44] Chinese Society of Gynecological Endocrinology Affiliated to International Society of Gynecological Endocrinology. Chinese expert consensus on ovarian tissue cryopreservation and transplantation[J]. *Chinese Journal for Clinicians*, 2018, 46(4): 496–500. [国际妇科内分泌学会中国妇科内分泌学分会. 卵巢组织冻存与移植中国专家共识[J]. 中国临床医生杂志, 2018, 46(04): 496–500.]