

# Clomifene citrato o inibitori dell'aromatasi per l'induzione dell'ovulazione?

Stefano Palomba, Caterina Materazzo, Giovanni Battista La Sala  
UNITÀ DI MEDICINA E CHIRURGIA DELLA RIPRODUZIONE, IRCCS - ASMN DI REGGIO EMILIA, ITALIA  
CORRISPONDENZA: STEFANOPALOMBA@TIN.IT

## ABSTRACT

{ITA} L'Anovulazione Normogonadotropica, tra cui la sindrome dell'ovaio policistico (polycystic ovary syndrome, PCOS), è una delle principali cause di infertilità. Una recente meta-analisi ed uno studio randomizzato controllato suggeriscono l'uso di inibitori dell'aromatasi, ossia letrozole, come farmaco efficace e trattamento di prima linea per ripristinare la fertilità in queste pazienti.

{ENG} Normogonadotropic Anovulation, including polycystic ovary syndrome (PCOS), is a leading cause of infertility. A recent meta-analysis and a randomized controlled trial suggest the use of aromatase inhibitors, i.e. letrozole, as effective drug and first-line treatment to restore fertility in these patients.

## INTRODUZIONE

L'Anovulazione Normogonadotropica, nota anche come anovulazione di classe II secondo la classificazione della *World Health Organization (WHO)*, è una delle principali cause di infertilità. Fino al 90% delle pazienti con infertilità anovulatoria normogonadotropica di tipo II WHO sono affette da sindrome dell'ovaio policistico (polycystic ovary syndrome, PCOS), che, a sua volta, è una delle principali cause di infertilità [1]. La PCOS è un disordine endocrino comune che colpisce soprattutto le donne in età riproduttiva con tassi di prevalenza fino al 10% [2]. Mentre diversi meccanismi ancillari sono stati proposti come co-fattori per spiegare la subfertilità nelle donne con sindrome dell'ovaio policistico, dalla riduzione endometriale e /o competenza oocitaria [3] all'aumento del rischio di complicanze della gravidanza [4], dati basati sull'evidenza mettono in luce una potenziale alterazione della fertilità in queste pazienti solo in presenza di oligo-anovulazione [5]. In letteratura sono disponibili dati non a lungo termine che dimostrano che le pazienti con PCOS sono più infertili rispetto alla popolazione generale: le popolazioni subfertili PCOS che hanno effettuato cicli di fecondazione in vitro (in vitro fertilization, IVF) hanno la stessa capacità riproduttiva dei controlli [6] e studi di coorte suggeriscono che le donne con PCOS hanno, al termine della loro vita riproduttiva, lo stesso potenziale di donne non affette da PCOS. Questi dati potrebbero dipendere da una migliore riserva ovarica [7-10], che può influire sulla finestra di riproduzione durante l'invecchiamento, e/o sull'efficacia dei trattamenti per il miglioramento della fertilità.

Gli ultimi 50 anni hanno visto un incremento notevole riguardante la sperimentazione sulle tecniche di induzione dell'ovulazione. L'uso di gonadotropina si è dimostrato un trattamento efficace, ma richiede competenze e comporta elevati costi diretti e indiretti (a causa del monitoraggio follicolare) e un alto

rischio di ovulazione multipla, gravidanze multiple, e sindrome da iperstimolazione ovarica (ovarian hyperstimulation syndrome, OHSS) [11].

Purtroppo, queste problematiche sono sempre più frequenti e sono clinicamente significative per le donne con PCOS poiché non è facile prevedere la caratteristica risposta multi-follicolare, né questa può essere controllata regolando il dosaggio delle gonadotropine. A tal proposito, molte tecniche e trattamenti, come il clomifene citrato (CC) e/o metformina [12,13], sono stati proposti e introdotti nella pratica clinica al fine di ottenere mono-ovulazioni in modo semplice ed economico. Ciò è particolarmente importante in considerazione del tasso estremamente elevato di gravidanze multiple in tutto il mondo correlato all'induzione dell'ovulazione [11]. I dati scientifici evidenziano che l'uso di ogni specifico trattamento è molto eterogeneo e apparentemente dipendente dalla specializzazione medica / competenze del personale medico (endocrinologi, ginecologi e medici generali) [14].

## IL TRATTAMENTO DI PRIMA LINEA PER L'ANOVULAZIONE: IL PRINCIPALE CAMPO DI BATTAGLIA PER I VECCHI E NUOVI FARMACI STIMOLANTI LA FERTILITÀ.

Il CC (nome chimico 1- [p (b-dietilaminoetossi) fenil]-1,2-difenilcloroetilene) è stato originariamente sviluppato per l'uso clinico dalla Wm. S. Merrell Co nel 1956 e fu approvato per l'uso nelle donne con anovulazione nel 1967. Quasi 50 anni dopo, il CC rappresenta la strategia di trattamento di prima linea nella maggior parte dei casi di infertilità anovulatoria ed è ancora oggi il farmaco più usato in tutto il mondo per le terapie dell'infertilità [15]. A causa della presenza del gruppo dietilamminico, il clomifene è talvolta definito un catecol-estrogeno, anche se la porzione di catecolamina della molecola appare del tutto inerte e solo la porzione difeni-

lica è attiva. Il CC è costituito da una miscela racemica di due stereoisomeri: lo zuclomifene (cis-isomero trans-clomifene) e l'enclomifene (trans-isomero cis-clomifene). Lo zuclomifene (38% del composto) ha proprietà estrogeniche ed anti-estrogeniche, mentre l'enclomifene (62% del composto) è un "puro" anti-estrogeno. Lo zuclomifene è circa cinque volte più potente dell'enclomifene nell'indurre l'ovulazione. Il primo ha un'emivita relativamente breve, mentre il secondo ha una *clearance* lunga e può accumularsi nel corso di cicli consecutivi. In particolare, dopo somministrazione orale di 50 mg di CC, le concentrazioni plasmatiche massime di zuclomifene si verificano dopo 6 ore e la sua emivita è di 5 giorni. L'enclomifene, invece, raggiunge il picco di concentrazione plasmatica più lentamente e può essere escreto per almeno 6 settimane. Pertanto, il CC è un modulatore selettivo non steroideo del recettore degli estrogeni con proprietà sia estrogeniche che antiestrogeniche. La somministrazione di CC induce il rilascio delle gonadotropine dall'ipofisi mediante il legame delle sue molecole ai recettori degli estrogeni presenti nell'ipotalamo ed interferisce in tal modo con i normali meccanismi di *feedback* (ad esempio, bloccando l'effetto di *feedback* negativo dell'estradiolo). Ciò porta ad un'aumentata e prolungata secrezione di FSH, che a sua volta stimola la crescita follicolare (Fig.1). Considerando la farmacodinamica e farmacocinetica del CC, la sua somministrazione ripetuta induce un effetto cumulativo con un aumento di circa il 50% al mese dei livelli basali. In tal modo, nonostante l'uso di un dosaggio invariato, il CC è più efficace nell'indurre l'ovulazione durante il secondo e/o terzo ciclo di somministrazione. Inoltre, dopo il trattamento a lungo termine, l'accumulo di enclomifene induce effetti anti-estrogenici deboli e prevalenti.

Il CC rimane il trattamento di scelta come prima linea per l'anovulazione per diversi motivi: i suoi costi sono bassi, può essere somministrato per via orale, ha pochi effetti collaterali,

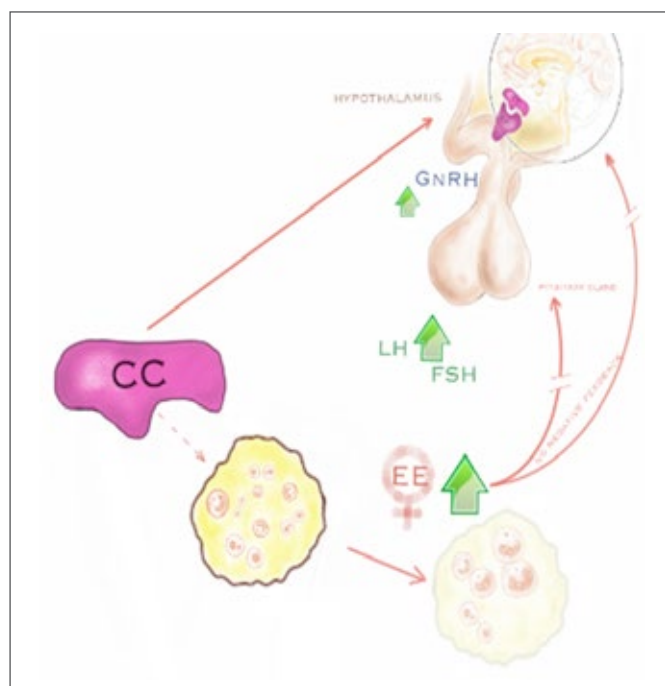


Figura 1 Meccanismo d'azione del Clomifene Citrato

è generalmente considerato sicuro sulla prole ed è ragionevolmente efficace. Sono stati riportati tassi di successo concernenti il trattamento con CC per l'induzione dell'ovulazione nelle pazienti con PCOS dal 60% all'80%. Più del 70% di coloro che ovulano rispondono a livelli di dosaggio di 50 o 100 mg. Nel complesso, la fecondità per ciclo risulta essere circa il 30% nelle donne che ovulano in risposta al trattamento. Nonostante il divario tra i tassi di ovulazione e la gravidanza, probabilmente a causa degli effetti anti-estrogenici legati al CC su endometrio e/o ovaio (difetto di fase luteale e/o follicologenesi) [16], una meta-analisi di studi randomizzati controllati (randomized controlled studies, RCTs), ha confermato la chiara efficacia di CC rispetto al placebo nell'indurre l'ovulazione (OR 7,47, IC 95% 3,24-17,23) e nell'ottenere una gravidanza (OR 5,77, IC 95% 1,55-21,48) [17]. Nuovi studi clinici [18,19] hanno confermato l'efficacia di CC per il trattamento dell'infertilità anovulatoria nelle pazienti con sindrome dell'ovaio policistico, riportando tassi cumulativi di ovulazione e nati vivi di circa il 50% e 30%, rispettivamente.

Un gruppo di lavoro ha valutato i potenziali trattamenti per l'infertilità in pazienti con sindrome dell'ovaio policistico e ha definito il CC come terapia di prima linea per queste pazienti [20]. Tuttavia, quest'ultimo non dovrebbe essere somministrato per più di 3 cicli anovulatori al dosaggio massimo (resistenza al CC) o per più di 6 cicli ovulatori (fallimento del CC) [15]. Questo gruppo di lavoro ha considerato altri trattamenti sperimentali (ad esempio, gli inibitori dell'aromatasi, IA) da impiegare solo in casi selezionati (per esempio, metformina nei pazienti con intolleranza al glucosio) [20]. Nel 2013, l'Istituto Nazionale per l'Eccellenza Clinica (NICE) ha pubblicato le linee guida per la gestione dell'infertilità [21]. Tali orientamenti hanno sottolineato che la somministrazione di IA non dovrebbe essere offerta ai pazienti con infertilità inspiegata né a pazienti con anovulazione di tipo II secondo l'OMS come prima linea e/o seconda linea di trattamento (pazienti CC-resistenti). Recentemente, la Società Americana di Medicina Riproduttiva (ASRM) ha pubblicato un documento sull'uso di CC per il trattamento dell'infertilità [15].

Anche se sono trascorsi solo pochi anni, un numero crescente di studi clinici sono stati pubblicati e molte meta-analisi hanno fornito nuove proposte in materia di induzione dell'ovulazione. Uno degli enzimi chiave responsabili dello sviluppo (e il trattamento) di molte malattie ormono-dipendenti è il citocromo P450. Un citocromo P450 di particolare interesse per le malattie non maligne e maligne dipendenti dagli ormoni sessuali è l'aromatasi, un complesso enzimatico ubiquitario (ma principalmente rappresentato nelle cellule della granulosa e tessuto adiposo) responsabile della conversione di steroidi C19 [androgeni come androstene-3, 17-dione (A) e testosterone (T)] a steroidi C18 (estrogeni come estrone ed estradiolo rispettivamente) mediante la perdita del gruppo metilico C-19 dal substrato e la formazione di un anello A-benzoide (aromatizzazione o 3-idrossilazione). In tal modo, esso catalizza la tappa limitante nel processo di sintesi degli estrogeni (Fig.2). Gli IA di terza generazione (anastrozolo, letrozolo, exemestane) sono generalmente presi in considerazione, e sono stati approvati dalla Food and Drug Administration (FDA), come terapie adiuvanti di prima linea per il cancro al seno esprimente il recettore per gli estrogeni (RE), [22]. Gli IA non steroidei

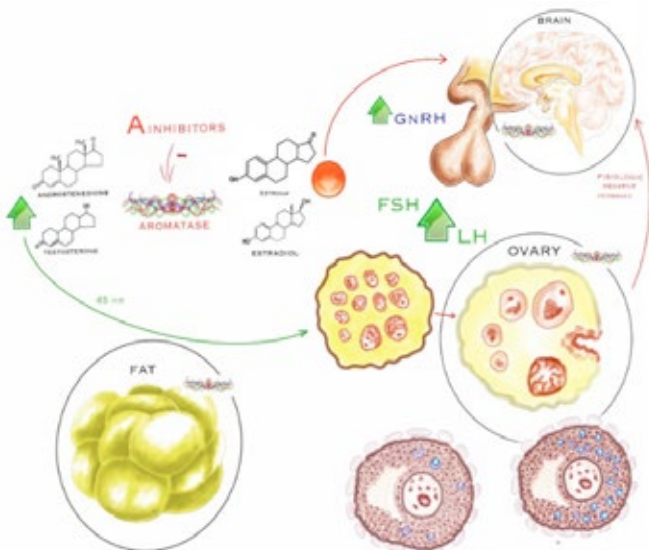


Figura 2 Meccanismo d'azione degli Inibitori delle Aromatasi

specifici e reversibili, come il letrozolo e anastrozolo, hanno effetti inducenti l'ovulazione mediante l'inibizione della conversione degli androgeni a estrogeni. Il conseguente stato ipoestrogenico acuto libera l'asse ipotalamo-ipofisi dal feedback negativo degli estrogeni, che a sua volta aumenta la secrezione di FSH e lo sviluppo del follicolo ovarico. Gli IA aumentano i livelli sierici dell'ormone luteinizzante (LH), dell'androstenedione (A), e di testosterone (T); l'aumento intraovarico acuto dei livelli di androgeni agisce sulla crescita follicolare, aumentando così la sensibilità follicolare all'FSH mediante l'amplificazione genica di FSH e/o la stimolazione del fattore di crescita 1 insulino-simile (IGF-1), che può essere sinergico con l'FSH [23,24]. Il normale feedback negativo di FSH con l'inibina non sembra essere influenzato dagli IA. In realtà, sotto somministrazione di AI, non è stato dimostrato antagonismo del recettore dell'estrogeno (né periferico né centrale) e il meccanismo di protezione fisiologica per l'ovulazione multipla e la sindrome da iperstimolazione ovarica (OHSS) dovrebbe essere conservato in quanto, nel momento in cui il follicolo dominante cresce e i livelli di estrogeni aumentano, si verificano la normale soppressione di FSH e l'atresia dei follicoli crescenti più piccoli. Nonostante questo complesso meccanismo, nessuna differenza nella dinamica follicolare è stata rilevata tra letrozolo (a dosi basse e alte) e cicli naturali [25]. Questi IA hanno emivite relativamente brevi (~ 45 ore), così vengono risparmiati gli effetti negativi sui tessuti bersaglio degli estrogeni. Ciò sembra particolarmente vero per l'endometrio. Inoltre, è stato ipotizzato che la soppressione delle concentrazioni degli estrogeni nella circolazione e nei tessuti periferici può risultare in un'up-regulation dei recettori degli estrogeni nell'endometrio, portando ad una rapida crescita endometriale una volta che viene ripristinata la secrezione degli estrogeni [26]. Dati clinici comparativi hanno dimostrato che la somministrazione di letrozolo è legata ad un aumento dello spessore endometriale (versus CC) nonostante le inferiori concentrazioni sieriche di estradiolo. Gli effetti del letrozolo sull'endometrio (versus placebo e CC) sono stati testati, senza mostrare alcun effetto deleterio sui marcatori endometriali di ricettività [27]. A causa di questi meccanismi, si ipotizza che gli IA possano avere

proprietà ottimali come induttori dell'ovulazione in termini di crescita monofollicolare e sviluppo endometriale, fattori molto importanti per l'impianto dell'embrione.

Nel 2000, Mitwally e Casper sono stati i primi a proporre l'uso di IA come agenti per indurre l'ovulazione. Essi hanno dimostrato che 7 donne con PCOS su 10 hanno ovulato con il letrozolo (2,5 mg al giorno dal 3° al 7° giorno delle mestruazioni indotte); due gravidanze singole sono stati ottenute. Nel 2001, gli stessi ricercatori (2001) hanno confermato l'efficacia del letrozolo anche in 12 pazienti infertili con sindrome dell'ovaio policistico CC resistenti; l'ovulazione si è verificata in 9 pazienti e la gravidanza in 3 (due delle quali erano gravidanze cliniche Singleton e l'altra era una gravidanza biochimica). Nonostante i molti limiti, tra cui le piccole dimensioni del campione, il disegno "aperto" e l'uso di un singolo ciclo di farmaco, lo studio ha suggerito per la prima volta che il letrozolo può essere efficace come farmaco per la fertilità in terapia naïve e/o in pazienti CC-resistenti con sindrome dell'ovaio policistico.

Da allora, gli IA sono stati usati da soli o in combinazione con gonadotropine per la stimolazione ovarica controllata nella non-FIV e/o cicli di fecondazione in vitro per le pazienti infertili con PCOS, con endometriosi, o infertilità inspiegata, per la conservazione della fertilità in pazienti con tumori ormonosensibili sesso, per pazienti infertili con risposta scarsa, e così via [28]. Tuttavia, il principale campo di interesse clinico è rimasto quello delle pazienti con PCOS CC-resistenti o naïve alla terapia in queste pazienti. Le evidenze sulla valutazione dell'efficacia degli IA per l'induzione dell'ovulazione e la gravidanza nelle donne con sindrome dell'ovaio policistico che sono CC-resistenti o naïve al trattamento sono promettenti. Gli studi hanno riportato tassi per gli IA che vanno dal 54,6% al 90,6% per l'ovulazione e dal 9,1% al 40,6% per la gravidanza, che non sono significativamente diversi da quelli ottenuti con CC (37,5-80,6% e 0-18,8%, rispettivamente). Gli ampi range dei tassi di ovulazione e di gravidanza osservati tra i risultati degli studi pubblicati sono molto interessanti. Diversi fattori possono spiegare queste discrepanze, comprese le caratteristiche delle pazienti e i metodi per valutare gli endpoints. Sono state utilizzate molteplici definizioni per la diagnosi di PCOS, per la determinazione della resistenza al CC e la rilevazione della gravidanza. Anche l'indice di massa corporea (body mass index, BMI) medio delle pazienti variava in modo significativo, da magro a grave obesità.

La maggior parte degli studi e dei dati pubblicati sono stati sull'impiego di letrozolo per indurre l'ovulazione; meno si sa circa l'anastrozolo, probabilmente perché studi clinici iniziali di fase 2 non hanno dimostrato alcun vantaggio significativo rispetto al CC [29]. Anche se il letrozolo a dosi di 1-5 mg/die inibisce l'attività dell'aromatasi per il 97%-99%. Il regime posologico per il letrozolo, negli studi pubblicati, variava da 2,5 mg/die a 7,5 mg/die per cinque giorni (generalmente dosi fisse dal giorno 3 al giorno 7), mentre l'anastrozolo era impiegato con dosi fisse di 1mg al giorno per cinque giorni. Una singola dose di 20 mg di letrozolo è stata utilizzata anche per migliorare la compliance delle pazienti, ma l'esperienza scientifica nell'uso di tale protocollo è limitata. Sembra che dosi più elevate (5 o 7,5 mg al giorno) di letrozolo consentano un periodo di stimolazione più breve e un maggiore reclutamento di follicoli, anche se nessun beneficio riproduttivo nell'induzione

dell'ovulazione è stato riportato rispetto a dosi più basse (2,5 mg al giorno) [30]. Il Letrozolo è stato anche proposto in protocollo step-up con dosaggio incrementale (da 2,5 mg al giorno 3 fino a 10 mg il giorno 6) [31] o in protocollo esteso (continuando il letrozolo fino a 7-10 giorni se non si osserva alcun follicolo crescente dopo il trattamento usuale di 5 giorni) [32]. Il protocollo generalmente impiegato (cinque giorni di somministrazione a dosi standard in fase proliferativa precoce) è totalmente empirico e basato sull'esperienza clinica con il protocollo con CC. Tuttavia, non è stato ancora pubblicato uno studio di individuazione della dose con un buon potere statistico ed un buon disegno di studio relativo al miglior dosaggio, i tempi e la durata sia del trattamento con letrozolo che con anastrozolo e quasi tutti i dati disponibili sugli IA nell'induzione dell'ovulazione provengono da studi su animali (scimmie, ratti, e così via).

#### MEDICINA BASATA SULLEVIDENZA O EVIDENZA BASATA SULLA MEDICINA?

**I**n una recente revisione sistematica con sintesi dei dati, il letrozolo è stato confrontato con il placebo, con l'anastrozolo, con il CC, e con il CC più metformina. Non sono state trovate differenze statisticamente significative nei tassi di gravidanza, tassi di nati vivi, e tassi di aborto spontaneo. Allo stesso modo, i tassi di gravidanza multipla non erano statisticamente differenti per il letrozolo rispetto ad altri trattamenti [33]. Una recente revisione sistematica di studi randomizzati controllati con meta-analisi, aggiornata ad ottobre 2013 e comprendente nove studi e 1.783 partecipanti, ha concluso che il letrozolo è associato a tassi di natalità molto più elevati di quanto sia il CC (OR 1,64, 95% CI 1,32-2,04) [13]. Inoltre, la qualità delle evidenze valutate in base ai gradi di raccomandazione, valutazione, sviluppo e valutazione (Grades of Recommendation, Assessment, Development and Evaluation, GRADE), è stata considerata bassa a causa della scarsa trasparenza dello studio nel riportare i metodi ed in considerazione dei risultati più favorevoli negli studi riportanti i nati vivi come end point primario [13]. Quindi, nessuna raccomandazione possibile è stata fornita dagli autori che hanno suggerito in riferimento ai reperti pubblicati una certa cautela [13].

Studi pubblicati di recente sono stati principalmente disegnati e dimensionati per valutare gli *endpoints* surrogate, che non sempre sono correlati con la gravidanza. Solo uno studio esaminato ha confrontato i tassi di gravidanza a termine, mentre gli altri non hanno specificato se le pazienti fossero state seguite fino al parto. Si tratta di una modifica importante da applicare per i *trials future*, poichè un unico bambino in buona salute dovrebbe essere l'outcome ottimale del trattamento, tenendo presente la sicurezza di ogni intervento per le mamme [34].

Sulla base di questi dati, Legro et al. ha recentemente pubblicato sul *New England Journal of Medicine* una grande multicentrico randomizzato in gruppi paralleli controllati in doppio cieco (Pregnancy in PCOS *trial* II, PPCOS II), il cui scopo era quello di dimostrare la superiorità del letrozolo come trattamento di prima linea per l'infertilità anovulatoria nelle donne con PCOS, avendo il CC come braccio di confronto [19]. Lo studio è il più grande (750 donne con PCOS come dimensione del campione) *trial* sull'infertilità ad indagare l'efficacia

di un induttore dell'ovulazione. Un'elevata trasparenza scientifica è stata fornita anche seguendo gli standard più recenti. L'endpoint primario è stato il tasso cumulativo dei nati vivi e, tra gli endpoint secondari, la sicurezza sulla prole. Nonostante il fatto che il letrozolo è risultato significativamente più efficace del CC, la differenza assoluta tra i bracci era inferiore al previsto (8,4% vs. 10%) in considerazione del tasso cumulativo dei nati vivi del 27,5% e del 19,1% per il braccio con letrozolo e con CC, rispettivamente. Da segnalare, il tasso di gravidanza singola in donne che hanno ovulato è stato significativamente più alto dopo la somministrazione di letrozolo che dopo somministrazione di CC (34% vs 26%, rispettivamente).

Un'ovvia domanda è se le conclusioni dello studio di Legro e collaboratori possono essere tradotte in pratica clinica su scala globale. Il peso corporeo della paziente è noto influenzare il tasso di successo di induzione dell'ovulazione. I dati disponibili in letteratura sul letrozolo (tra cui lo studio di Legro) hanno considerato una popolazione di donne con PCOS con BMI molto alto (includere le pazienti con obesità moderata e grave); le caratteristiche cliniche delle pazienti statunitensi con PCOS sono probabilmente molto diverse da quelle delle pazienti europee o asiatiche, dove le popolazioni PCOS possono includere una certa proporzione di pazienti magre, normopeso o in sovrappeso [31]. Nei paesi europei, e in particolare nell'area del Mediterraneo, la prevalenza di obesità nelle pazienti con PCOS è significativamente più bassa e vi è una differenza di circa 10 punti nei BMI tra le popolazioni PCOS [35]. Questa preoccupazione è particolarmente vera per lo studio di Legro, in cui le partecipanti allo studio avevano un BMI medio superiore a 35 kg / m<sup>2</sup>, e i tassi di nati vivi riportati sono stati inferiori a quelli riportati in letteratura. Da notare che, a differenza del CC, il letrozolo ha dimostrato di essere più efficace nelle donne obese rispetto alle pazienti non-obese. D'altra parte, potrebbe essere anche ipotizzato un effetto benefico del letrozolo superiore al CC nelle donne magre con PCOS (anche se sono sempre più rare) in considerazione dell'azione anti-estrogenica del CC.

Le partecipanti incluse nello studio di Legro e colleghi non sono state arruolate in alcun intervento sullo stile di vita. Inoltre, in molti paesi (e basati sul buon senso), qualsiasi trattamento per migliorare la fertilità dovrebbe seguire i cambiamenti nello stile di vita e non dovrebbe iniziare prima che venga conseguita la perdita di peso al fine di trarre qualsiasi degli effetti benefici sulla riproduzione (inclusa la salute delle madri e dei bambini) [34].

Una delle principali preoccupazioni nel campo della medicina riproduttiva, e in medicina in generale, è il valore scientifico degli RCT pragmatici volti a valutare l'impatto di un intervento su una grande popolazione non molto selezionata e degli RCT esplicativi che hanno lo scopo di valutare un potenziale meccanismo di azione di un intervento che studi un campione ben selezionato con caratteristiche specifiche. A mio avviso, sempre più (e probabilmente troppo) la ricerca si basa sulla valutazione della efficacia clinica di un intervento, bypassando gli studi di base e traslazionali che mirano a valutare il potenziale meccanismo di azione, il miglior regime, e i fattori predittivi di efficacia. Solo ulteriori studi sull'efficacia su grandi ma ben selezionate popolazioni e secondo fattori predittivi dovrebbero essere progettati. Attualmente, in letteratura ci sono pochis-

simi studi per la ricerca dei dosaggi sulla somministrazione di letrozolo, sulla durata del trattamento e il numero totale di cicli di somministrazione, aventi per endpoint il rapporto rischio-beneficio. E' chiaro che un intervento che è utile per la popolazione in generale sarebbe stato considerato il "Sacro Graal". Tuttavia, le scienze mediche hanno chiarito nel corso degli anni il ruolo dei trattamenti su misura e delle strategie personalizzate; tali trattamenti su misura sono ancora più importanti nelle pazienti con PCOS, data la loro eterogeneità [4]. Nel corso degli anni, specialmente per la personalizzazione oncologica, e contrariamente a quanto suggerito dai fan della medicina basata sull'evidenza "pura", le analisi di sottostudio sono diventate cruciali per definire i fattori per la progettazione di uno studio su una popolazione ben selezionata. E' chiaro che le sotto-analisi sono comunemente sottodimensionate per rilevare le differenze nell'endpoint primario. Tuttavia, esse sono utili per la stratificazione delle pazienti e per valutare l'effetto delle caratteristiche cliniche / biochimiche delle pazienti. In questa prospettiva, gli ampi studi clinici dovrebbero essere considerati come un "vaso di Pandora" da cui estrarre informazioni utili per l'individualizzazione del trattamento [35]. A questo proposito, la filosofia della "taglia unica" è perdente, specialmente per una malattia eterogenea come la PCOS, mentre dovremmo essere in grado di identificare una "impronta digitale" di ogni paziente e, quindi, il miglior trattamento da suggerire.

Lo studio di Legro del 2014 è stato progettato per testare la differenza tra i bracci per tasso di alla nati vivi superiore al 10% (anche se era circa l'8%) [19]. Questo punto è importante; infatti, i criteri di inclusione per l'arruolamento sono stati anovulazione combinata con iperandrogenismo o PCO (ovaio policistico, PolyCystic Ovary, PCO) o entrambi (Rotterdam 2004). Anche se i due bracci erano ben equilibrati in termini di incidenza di PCO e di numero medio di conta dei follicoli antrali, sapere se i risultati principali sono stati analizzati in base al diverso fenotipo è essenziale per individuare la migliore candidata per la somministrazione di letrozolo o CC. Le pazienti con irsutismo non hanno avuto una valutazione dei livelli di androgeni nel siero, contrariamente a quanto suggerito dai criteri ESHRE / ASRM del 2012. Secondo la letteratura, l'iperandrogenemia è un predittore di risposta ovulatoria al CC [16]. Essa può, tuttavia, essere anche un indicatore di attività anormale dell'aromatasi. Gli IA potrebbero così agire in maniera subottimale (o anche meglio) nelle pazienti iperandrogeniche. Inoltre, poiché sono ad alto rischio di ovulazione multipla e gravidanza multipla, le pazienti con un'alta conta di follicoli antrali come le pazienti affette da PCOS con PCO potrebbero beneficiare della somministrazione di letrozolo in termini di sviluppo di follicoli multipli, tasso di gravidanza multipla e rischio OHSS. Sebbene le recenti linee guida pubblicate da The Endocrine Society [5] suggeriscono nessuna distinzione tra i diversi fenotipi PCOS nella pratica clinica al momento della diagnosi, riteniamo che conoscere la presenza / assenza di tutte le caratteristiche della PCOS aiuterà non solo i ricercatori, ma anche i clinici nella corretta gestione di queste pazienti [4].

In medicina, come in tutte le bioscienze, è importante ricordare gli insegnamenti del passato. Non più di cinque anni fa, il New England Journal of Medicine ha pubblicato un confronto randomizzato tra CC e metformina è [18], in cui è stata rile-

vata una significativa efficacia di CC sulla metformina. Una sottoanalisi in seguito alla pubblicazione di tale studio ha dimostrato una significativa influenza del genotipo e fenotipo delle pazienti nello spiegare i dati controversi, e una recente meta-analisi [36] ha dimostrato la mancanza di superiorità di CC sulla metformina in donne non obese con sindrome dell'ovaio policistico (con un BMI inferiore a 32). Al momento, numerose società scientifiche (ad es quella australiana, greca, e così via) ancora suggeriscono l'uso di metformina per le pazienti con PCOS.

E' possibile accettare i dati di Legro [19] ed i dati della meta-analisi di Franik [13] sulla migliore efficacia del letrozolo rispetto al CC senza critiche o scetticismo. Tuttavia, accettare e prendere in considerazione la migliore efficacia del letrozolo rispetto al CC non significa che il letrozolo deve essere considerato un nuovo trattamento di prima linea per le donne anovulatorie con PCOS. In realtà, al momento non sappiamo come un trattamento di prima linea con letrozolo possa modificare le successive fasi terapeutiche. Poiché ogni trattamento potenzialmente seleziona una popolazione che può essere più o meno sensibile ad ulteriori trattamenti, non si può escludere che le pazienti che in precedenza hanno ricevuto letrozolo possano avere bisogno di una strategia di gestione diversa.

Inoltre ancora non sappiamo come definire il fallimento o la resistenza al letrozolo (ed anche al CC).

Le linee guida internazionali [17, 16] suggeriscono di usare non più di 150 mg al giorno di CC per non più di 6 cicli. Sebbene i dati più recenti [34] supportino l'uso di CC per più di 6 cicli, molti medici evitano trattamenti a lungo termine con CC, nonostante cicli ovulatori, a causa degli effetti deleteri sull'endometrio causati dall'accumulo del farmaco (Fig. 3).

In questa prospettiva, non è chiaro se le medie di "fallimento" dopo CC e letrozolo siano le stesse. Il fallimento con letrozolo

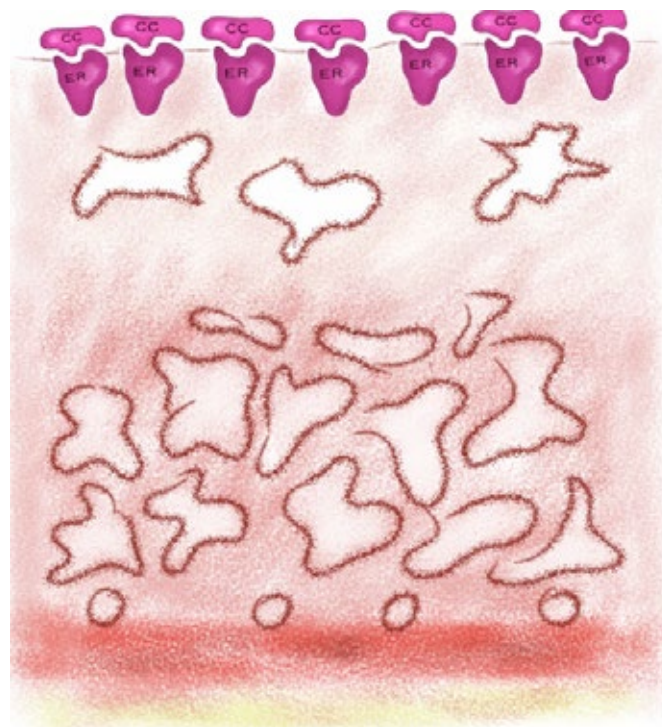


Figura 3 Recettori estrogenici a cui si lega il CC a livello endometriale

deve essere gestito (in modo più aggressivo) come infertilità inspiegata mentre le pazienti che riportano un fallimento terapeutico con CC potrebbero trarre beneficio da altri induttori dell'ovulazione con minore impatto endometriale. Quale potrebbe essere il ruolo del CC in una futura era del letrozolo? Potrebbe essere un trattamento di seconda linea nelle pazienti in cui il letrozolo ha fallito? O potrebbe non avere più alcun ruolo? La metformina potrebbe davvero migliorare l'efficacia nelle pazienti letrozolo resistenti, come suggerito da un RCT pilota?

Come spiegato sopra, il letrozolo ha dimostrato di esercitare un meccanismo d'azione potenzialmente più sicuro di quello del CC in termini di riduzione del tasso di gravidanza multipla. Inoltre, nel più grande RCT pubblicato [19], nessun beneficio è stato rilevato nella somministrazione di letrozolo. In letteratura, il trattamento con CC è legato a tassi di gravidanza multipla fino all'11% [11], mentre un tasso del 7,4% è stato osservato nel PPCOS II, dopo un impiego ottimale che è stato attentamente monitorato durante la sperimentazione clinica. Non ci si può fare a meno di chiedere se un tasso di gravidanza multipla di più del doppio di quello del letrozolo (3,4%) sia clinicamente significativo, anche se non statisticamente significativo. Il letrozolo potrebbe avere un limite di sicurezza superiore a quello del CC nella pratica clinica e in un ambiente di non-ricerca?

Attualmente, nessun RCT volto a valutare l'efficacia degli IA è mai stato eseguito in Europa. Uno studio è stato effettuato negli Stati Uniti [19] e tutti gli altri in Asia e in Africa [13]. Pertanto, la differenza genetica nella risposta al letrozolo, non può essere esclusa.

#### MAMME E BAMBINI SANI COME *END-POINTS* PRIMARI PER GLI STUDI SULL'INFERTILITÀ

**I**l CC è un farmaco ben tollerato e il suo profilo di sicurezza a breve termine è ben noto. I disturbi visivi (tra cui visione offuscata o doppia, scotomi, e sensibilità alla luce) sono specifici (<2% di prevalenza) ma rari e reversibili. Effetti collaterali meno specifici includono tensione mammaria, dolore pelvico, e nausea (tutti osservati nel 2% -5% dei casi). Gli eventi avversi principali sono legati al suo effetto anti-estrogenico. In particolare, il CC può inibire l'adeguato ispessimento endometriale, e ciò può influenzare l'impianto. Inoltre, la riduzione del muco cervicale può influenzare la penetrazione degli spermatozoi. Altri effetti avversi degli anti-estrogeni sono vampate di calore, gravidanze multiple (2-13%), dolori addominali e iperstimolazione ovarica (1-6%) [17].

Gli IA sono anch'essi considerati comunemente ben tollerati, con un tasso molto basso di effetti collaterali, che sono considerati idiosincratichi quando appaiono durante l'induzione dell'ovulazione (es dolore muscolare) [32]. Inoltre, solo una recente valutazione complessiva degli effetti collaterali legati al trattamento ha dimostrato la vera sicurezza a breve termine degli IA [19].

È stato anche ipotizzato un possibile nesso di causalità tra l'uso di CC e vari tipi di tumori maligni (ad es. melanoma, carcinoma tiroideo e tumori della sfera genitale femminile). Tuttavia, gli studi disponibili su questo argomento hanno delle limitazioni metodologiche, come l'esiguo numero di *outcomes*, follow-up brevi ed incomplete e l'incapacità di controllare potenziali fat-

tori confondenti; pertanto, ulteriori studi ben disegnati sono necessari [15].

Un altro aspetto da considerare per quanto riguarda l'impiego di IA / letrozolo è il potenziale rischio per il feto. Anche se non è biologicamente plausibile nel contesto dell'induzione dell'ovulazione in considerazione della breve emivita, della mancanza di accumulo di metaboliti, delle basse dosi utilizzate e del *timing* di somministrazione, un'elevata incidenza di malformazioni cardiache e delle ossa è stata ipotizzata nei bambini di donne trattate con letrozolo [37]. Tuttavia, molte studi tra cui due longitudinali [19,30] hanno dimostrato l'assoluta sicurezza di letrozolo. Sono anche attesi i dati provenienti dalla Valutazione delle Gravidanze Multiple Intrauterine della Stimolazione Ovarica (Assessment of Multiple Intrauterine Gestations of Ovarian Stimulation, AMIGOS) e dal PPCOS-II sulla salute della prole a 3 anni di follow-up [37].

Inoltre, in modelli animali il letrozolo ha dimostrato di essere teratogeno quando si verifica l'esposizione durante l'organogenesi, ma anche embriotossico e fetotossico, e la FDA negli Stati Uniti ha classificato il letrozolo tra i farmaci di gravidanza di categoria D, suggerendo evidenza positiva di rischio di danno fetale umano. D'altra parte, il CC è classificato dalla FDA come farmaco di gravidanza di categoria "X", dal momento che il rischio di danno fetale supera nettamente i potenziali benefici. Inoltre, l'evidenza disponibile per quanto riguarda il profilo di sicurezza a lungo termine del CC è limitata e datata, ed i lavori più recenti sono stati pubblicati per valutare la sicurezza del letrozolo [37]. In modelli animali, il CC ha alterato la fecondazione oocitaria e lo sviluppo embrionale; nell'uomo il suo impiego è stato associato a rischio di difetti congeniti 3 volte maggiore e ad un rischio aumentato di difetti del tubo neural e anomalie cardiovascolari nella prole [37].

In base a quanto detto, dovrebbe essere obbligatorio escludere sempre la gravidanza mediante dosaggio sierico della gonadotropina corionica umana prima di somministrare letrozolo o CC, ed alle pazienti dovrebbe essere consigliato di evitare l'esposizione involontaria e incontrollata al farmaco.

Una questione importante riguarda i costi di trattamento. La letteratura scientifica afferma di frequente che il CC e il letrozolo sono due farmaci a basso costo. Tuttavia, va sottolineato che il letrozolo costa 3 volte di più del CC. Sono necessari ulteriori studi volti a valutare il costo di ogni trattamento corretto per i nati vivi sani.

#### CONCLUSIONI

**C**ome dice una famosa canzone, "Tutto sommato è solo un altro mattone nel muro". Tuttavia, la somministrazione di letrozolo non può essere considerata il primo step per l'induzione dell'ovulazione nelle donne con sindrome dell'ovaio policistico solo in base alle recenti evidenze [19]. In questo caso, tutte le "vecchie" strategie e gli algoritmi per l'induzione dell'ovulazione devono essere modificati e quelli nuovi richiederanno conferma scientifica.

La somministrazione degli IA per l'induzione dell'ovulazione è ancora empirica sotto molti aspetti. Pertanto, sono necessari ulteriori studi prima che il letrozolo possa essere raccomandato come trattamento di prima linea per l'induzione dell'ovulazione nelle donne con sindrome dell'ovaio policistico. Al momento, infatti, i dati di efficacia sono limitati a donne con

PCOS e dimostrano che il letrozolo è almeno altrettanto efficace nell'induzione dell'ovulazione quanto il CC. Non è noto se gli IA possono essere utili anche in pazienti non PCOS con anovulazione di tipo II sec. l'OMS. Nonostante non ci sia una plausibilità biologica per sospettare problemi di sicurezza in considerazione della farmacocinetica degli IA, l'era "evidence-based" richiede ulteriori dati clinici concernenti la sicurezza

sulla prole. Questo, tuttavia, è vero anche per il CC. Infine, la ricerca clinica sull'efficacia e la sicurezza degli IA, e del letrozolo in particolare, è stata condotta solo da pochi gruppi. Il loro impiego per l'induzione dell'ovulazione nella pratica clinica in questo momento è "off label" e ciò porta sicuramente con sé implicazioni medico-legali.

#### {BIBLIOGRAFIA}

1. ESHRE Capri Workshop Group Health and fertility in World Health Organization group 2 anovulatory women. *Hum Reprod Update* 2012;18:586-599.
2. Jayasena CN, Franks S. The management of patients with polycystic ovary syndrome. *Nat Rev Endocrinol* 2014;10:624-636.
3. Cakmak H, Taylor HS. Implantation failure: molecular mechanisms and clinical treatment. *Hum Reprod Update* 2011;17:242-253.
4. Orio F, Palomba S. Reproductive endocrinology: new guidelines for the diagnosis and treatment of PCOS. *Nat Rev Endocrinol* 2014;10:130-132.
5. Legro RS, Arslanian SA, Ehrmann DA, Hoeger KM, Murad MH, Pasquali R, Welt CK. Diagnosis and treatment of polycystic ovary syndrome: an endocrine society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 2013;98:4565-4592.
6. Heijnen EM, Eijkemans MJ, Hughes EG, Laven JS, Macklon NS, Fauser BC. A meta-analysis of *outcomes* of conventional IVF in women with polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod Update* 2006;12:13-21.
7. Hudecova M, Holte J, Olovsson M, Sundström Poromaa I. Long-term follow-up of patients with polycystic ovary syndrome: reproductive outcome and ovarian reserve. *Hum Reprod* 2009;24:1176-1183.
8. Holte J, Brodin T, Berglund L, Hadziostmanovic N, Olovsson M, Bergh T. Antral follicle counts are strongly associated with live-birth rates after assisted reproduction, with superior treatment outcome in women with polycystic ovaries. *Fertil Steril* 2011;96:594-599.
9. Wiser A, Shalom-Paz E, Hyman JH, Sokal-Arnon T, Bantan N, Holzer H, Tulandi T. Age-related normogram for antral follicle count in women with polycystic ovary syndrome. *Reprod Biomed Online* 2013;27:414-418.
10. Kalra SK, Ratcliffe SJ, Dokras A. Is the fertile window extended in women with polycystic ovary syndrome? Utilizing the Society for Assisted Reproductive Technology registry to assess the impact of reproductive aging on live-birth rate. *Fertil Steril* 2013;100:208-213.
11. Dickey RP. Strategies to reduce multiple pregnancies due to ovulation stimulation. *Fertil Steril* 2009;9:1-17.
12. Bhagavath B, Carson SA. Ovulation induction in women with polycystic ovary syndrome: an update. *Am J Obstet Gynecol* 2012;206:195-198.
13. Franik S, Kremer JA, Nelen WL, Farquhar C. Aromatase inhibitors for subfertile women with polycystic ovary syndrome. *Cochrane Database Syst Rev* 2014 24;2:CD010287.
14. Conway G, Dewailly D, Diamanti-Kandarakis E, Escobar-Morreale HF, Franks S, Gambineri A, Kelestimir F, Macut D, Micic D, Pasquali R, Pfeifer M, Pignatelli D, Pugeat M, Yildiz BO; ESE PCOS Special Interest Group. The polycystic ovary syndrome: a position statement from the European Society of Endocrinology. *Eur J Endocrinol*. 2014;171:1-29.
15. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Use of clomiphene citrate in infertile women: a committee opinion. *Fertil Steril* 2013;100:341-348.
16. Palomba S, Falbo A, Orio F Jr, Tolino A, Zullo F. Efficacy predictors for metformin and clomiphene citrate treatment in anovulatory infertile patients with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2009;91:2557-67.
17. Brown J, Farquhar C, Beck J, Boothroyd C, Hughes E. Clomiphene and anti-oestrogens for ovulation induction in PCOS. *Cochrane Database Syst Rev* 2009;4:CD002249.
18. Legro RS, Barnhart HX, Schlaff WD, Carr BR, Diamond MP, Carson SA, Steinkampf MP, Coutifaris C, McGovern PG, Cataldo NA, Gosman GG, Nestler JE, Giudice LC, Leppert PC, Myers ER, Cooperative Multicenter Reproductive Medicine Network. Clomiphene, metformin, or both for infertility in the polycystic ovary syndrome. *N Engl J Med* 2007;356:551-566.
19. Legro RS, Brzyski RG, Diamond MP, Coutifaris C, Schlaff WD, Alvero R, Casson P, Christman GM, Huang H, Yan Q, Haisenleder DJ, Barnhart KT, Bates GW, Usadi R, Lucidi R, Baker V, Trussell JC, Krawetz SA, Snyder P, Ohl D, Santoro N, Eisenberg E, Zhang H; National Institute of Child Health and Human Development Reproductive Medicine Network. Letrozole versus clomiphene for infertility in the polycystic ovary syndrome. *N Engl J Med* 2014;371:119-129.
20. Thessaloniki ESHRE/ASRM-Sponsored PCOS Consensus Workshop Group. Consensus on infertility treatment related to polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod* 2008;23:462-477.
21. Fields E, Chard J, James D, Treasure T; Guideline Development Group Fertility (update): summary of NICE guidance. *BMJ* 2013;346:f650.

22. Dowsett M, Cuzick J, Ingle J, Coates A, Forbes J, Bliss J, Buyse M, Baum M, Buzdar A, Colleoni M, Coombes C, Snowdon C, Gnani M, Jakesz R, Kaufmann M, Boccardo F, Godwin J, Davies C, Peto R 2010 Meta-analysis of breast cancer *outcomes* in adjuvant *trials* of aromatase inhibitors versus tamoxifen. *J Clin Oncol* 28:509-518.
23. Mitwally MF, Casper RF. Aromatase inhibition: a novel method of ovulation induction in women with polycystic ovary syndrome. *Reprod Technol* 2000;10:244-247.
24. Mitwally MF, Casper RF. Use of an aromatase inhibitor for induction of ovulation in patients with inadequate response to clomiphene citrate. *Fertil Steril* 2001;75:305-309.
25. Jirge PR, Patil RS. Comparison of endocrine and ultrasound profile during ovulation induction with clomiphene citrate and letrozole in ovulatory volunteer women. *Fertil Steril* 2010; 93:174-183.
26. Casper RF, Mitwally MF. Review: aromatase inhibitors for ovulation induction. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:760-71.
27. Bao SH, Sheng SL, Peng YF, Lin QD 2009 Effects of letrozole and clomiphene citrate on the expression of HOXA10 and integrin alpha v beta 3 in uterine epithelium of rats. *Fertil Steril* 91:244-248.
28. Requena A, Herrero J, Landeras J, Navarro E, Neyro JL, Salvador C, Tur R, Callejo J, Checa MA, Farré M, Espinos JJ, Fabregues F, Grana-Barcia M, Reproductive Endocrinology Interest Group of the Spanish Society of Fertility 2008 Use of letrozole in assisted reproduction: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update* 6:571-582.
29. Tredway DR, Schertz JC. Anastrozole versus clomiphene citrate: which is better for ovulation induction? *Fertil Steril* 2011;95:1549-51.
30. Badawy A, Shokeir T, Allam AF, Abdelhady H. Pregnancy outcome after ovulation induction with aromatase inhibitors or clomiphene citrate in unexplained infertility. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2009b;88:187-191.
31. Mitwally MF, Said T, Galal A, et al. Letrozole step-up protocol: a successful superovulation protocol. *Fertil Steril*, 2008; 89, Supplement 1, S23-S24.
32. Casper RF, Mitwally MF. Use of the aromatase inhibitor letrozole for ovulation induction in women with polycystic ovarian syndrome. *Clin Obstet Gynecol* 2011;54:685-95.
33. Misso ML, Wong JL, Teede HJ, Hart R, Rombauts L, Melder AM, Norman RJ, Costello MF. Aromatase inhibitors for PCOS: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update* 2012;18:301-312.
34. Harbin Consensus Conference Workshop Group. Improving the Reporting of Clinical *Trials* of Infertility Treatments (IM-PRINT): modifying the CONSORT statement. *Hum Reprod* 2014; 29: 2075-82.
35. Palomba S, Orio F Jr, Zullo F What is the best first-step therapeutic approach in treating anovulatory infertility in patients with polycystic ovary syndrome? Questions that are still unanswered. *Gynecol Endocrinol* 2007;23:245-247.
36. Misso ML, Costello MF, Garrubba M, Wong J, Hart R, Rombauts L, Melder AM, Norman RJ, Teede HJ. Metformin versus clomiphene citrate for infertility in non-obese women with polycystic ovary syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update* 2013;19:2-11.
37. Palomba S. Aromatase inhibitors for ovulation induction. *J Clin Endocrinol Metab* 2015;100:1742-7.