

36. Preservación de la fertilidad de la paciente oncológica

INTRODUCCIÓN

La fertilidad de los pacientes tratados en su infancia por cáncer es menor que la de la población general. Byrne *et al.*, 1987⁽¹⁾ en un estudio retrospectivo de casos tratados antes de cumplir 20 años, entre 1945 y 1975, y controles, encontraron que la fertilidad relativa ajustada de los supervivientes comparada con la de sus hermanos fue de 0,85 (con un intervalo de confianza para el 95% comprendido entre 0,78 y 0,92), siendo la fertilidad relativa ajustada de los varones (0,76; IC 95%: 0,68-0,86) menor que la de las mujeres (0,93; IC 95%: 0,83-1,04). El tratamiento radioterápico empleado por debajo del diafragma disminuyó la fertilidad en aproximadamente un 25% en ambos sexos. La quimioterapia con agentes alquilantes, asociados o no a irradiación bajo el diafragma, se asoció con déficit de la fertilidad en aproximadamente un 60% en los varones, no encontrándose este efecto negativo de los alquilantes empleados aisladamente en las mujeres (fertilidad relativa de 1,02), y un descenso moderado de la fertilidad cuando se asociaron con irradiación bajo el diafragma (0,81).

Este mismo grupo⁽²⁾ realizó un estudio para conocer los defectos genéticos advertidos entre los hijos de los supervivientes de tratamientos de cáncer, encontrando enfermedades genéticas en el 3,4%, lo que no era diferente estadísticamente de los síndromes citogenéticos, defectos génicos o malformaciones encontrados entre los hijos de los controles. Este estudio tranquiliza sobre los protocolos con drogas potencialmente mutagénicas empleados antes de 1976, aunque no descarta la posibilidad de que las nuevas drogas empleadas en la actualidad puedan dañar a las células germinales.

La experiencia acumulada hasta la actualidad no ha puesto de manifiesto un mayor riesgo de enfermedades genéticas entre los hijos de pacientes libres de enfermedad tras tratamientos oncológicos.

C

Los tumores más frecuentes en las edades infantiles o juveniles son los hematológicos y los de células germinales. Podrán observarse también otros tumores de localización genital. Los tumores hematológicos son igual de frecuentes en ambos sexos y tienen el problema de poder alterar la capacidad fértil al ser tratados con quimioterápicos.

El conocimiento de esta posibilidad hace que muchos de estos pacientes vayan a ser atendidos en unidades de fertilidad y tratados con las técnicas oportunas.

En la edad adulta los cánceres uterinos, sobre todo los cervicales, los cánceres de ovario, los intestinales o los hematológicos son los que más comprometen la función ovárica, produciendo infertilidad y menopausia precoz.

Los cánceres del aparato genital más frecuentes son los de útero, sobre todos los de cérvix, y los de ovario. En todos los casos en que la fertilidad no sea completa se procurará que los tratamientos sean lo más conservadores posibles.

ACCIÓN DE LA RADIOTERAPIA SOBRE LA GÓNADA

La radioterapia pélvica o la irradiación corporal total pueden dañar al ovario disminuyendo el número de folículos primordiales, produciendo infertilidad y menopausia precoz. Es conocido que la función ovárica cesa permanentemente y se produce una menopausia artificial con una dosis de 500 a 800 rads sobre ambos ovarios^(3,4). Bianchi (1983) estimó que la dosis letal media (LD50) para los ovocitos humanos oscilaba entre 8 y 16 Gy, produciéndose fallo ovárico permanente en el 97% de 2000 pacientes tratadas por menorragia con dosis de entre 5 y 10,5 Gy.

El fallo ovárico producido como consecuencia de tratamiento radioterápico en la infancia puede presentarse en la adolescencia como fallo o detención de la pubertad espontánea o como infertilidad o menopausia precoz en la edad adulta.

Mediante un modelo matemático que valora el descenso natural del número de ovocitos hasta la edad de la menopausia (considerada por término medio a los 51 años), se ha establecido la radiosensibilidad del ovocito humano realizando su cálculo con los datos de pacientes tratadas en la infancia o adolescencia con radioterapia abdominal o irradiación corporal completa. De esta manera se ha concluido que la radiación capaz de destruir el 50% de los folículos primordiales, (dosis letal media), es menor de 2 Gy⁽⁵⁾, la mitad de la que se consideraba hace unos años⁽⁶⁾.

El ovario es más resistente a las radiaciones que el testículo, seguramente por su constante división celular.

La radioterapia pélvica o la irradiación corporal total pueden lesionar el ovario produciendo infertilidad y menopausia precoz.

B

Las mujeres tratadas previamente con irradiación abdominal tienen un riesgo mayor de abortos (38 frente a 12% de la población normal) y de tener fetos de bajo peso (62% frente a 6%), debido al riesgo sufrido por los folículos y por el propio útero respectivamente^(7,8).

ACCIÓN DE LOS QUIMIOTERÁPICOS SOBRE LA GÓNADA

Es conocido que los quimioterápicos oncológicos actúan sobre la gónada produciendo, en ocasiones, el cese de su función prematuramente, tanto más frecuentemente cuanto mayor sea la edad de la paciente⁽⁹⁾. Se ha considerado que una parte de la actividad oncológica de algunos agentes o de algunas combinaciones, al menos en algunos tumores hormonodependientes, se realizaría por esta acción hormonal. Sus efectos, por tanto, dependen del agente, la dosis empleada y la edad de la mujer.

Si estos preparados se emplean durante tiempo prolongado pueden producir esterilidad permanente, independientemente de de la dosis total, de la vía de administración y del esquema de tratamiento⁽¹⁰⁾. Por otro lado, es preciso tener en cuenta que el uso asociado de varios agentes potencia no solamente sus efectos oncológicos, sino también sus efectos secundarios.

Según el modo de acción, los antineoplásicos pueden separarse en cinco grupos⁽¹¹⁾: alquilantes, inductores de aneuploidía, inhibidores de la topoisomerasa II, antimetabolitos y radiomiméticos. Los alquilantes son los productos más empleados en ginecología. Producen depleción folicular y ovocitaria⁽¹²⁻¹⁴⁾. También pueden comportarse como mutágenos de los ovocitos preovulatorios⁽¹⁵⁻¹⁶⁾. Producen alteraciones cromosómicas que inducen efectos genéticos en los ovocitos que pueden ser responsables de abortos⁽¹⁷⁾.

Los inductores de aneuploidía, como la vinblastina, causan atrofia ovárica⁽¹⁸⁾. Los inhibidores de la oipoisomerasa II (bleomicina y adriamicina) son considerados mutágenos específicos en la mujer, induciendo mutaciones en los folículos preovulatorios en experimentación animal⁽¹⁹⁾.

También los antiblásticos, han demostrado actuar sobre las gónadas, sobre todo sobre el testículo.

Los quimioterápicos oncológicos tienen un efecto adverso sobre el ovario, pudiendo producir esterilidad permanente.

B

Los efectos adversos sobre la fertilidad dependen del tipo de quimioterápico empleado, su dosis, su duración, la asociación a otros fármacos, la edad de la paciente y la variabilidad individual.

C

TÉCNICAS EMPLEADAS CON INTENCIÓN DE PRESERVAR LA FERTILIDAD

La conducta más frecuentemente empleada para preservar la fertilidad de la mujer en procesos oncológicos ha sido la realización de intervenciones conservadoras del aparato genital, cuando el tratamiento correcto de la enfermedad lo permite. Es el caso de enfermedades oncológicas no infiltrantes, cánceres con bajo potencial de malignidad (tumores *borderline*) o tumores infiltrantes aparentemente limitados en su extensión. En otros casos en los que la enfermedad no asienta en el aparato genital, pero su tratamiento puede lesionarlo, se pretende impedir la afectación de los ovarios, mediante su transposición a regiones no incluidas dentro de los campos del tratamiento radioterápico, aunque la aparición de las técnicas de reproducción asistida ha permitido desarrollar otras estrategias como la protección farmacológica del ovario, la congelación de embriones y, ahora también, de ovocitos y la criopreservación y trasplante posterior de tejido ovárico.

Procedimientos quirúrgicos conservadores

Los procesos susceptibles de ser tratados conservando el aparato genital en su mayor parte, o partes de él suficientes para la reproducción mediante técnicas de reproducción asistida o sin el concurso de ellas, asientan fundamentalmente en el cérvix uterino, en el endometrio y en el ovario, siendo muy raros los localizados en la trompa o en vagina, y sobre todo los que pudieran afectar a la vulva en edades genésicas.

Se ha demostrado sobradamente la seguridad de los tratamientos conservadores desde el punto de vista oncológico, mediante la realización de estudios randomizados. Sin embargo, para los resultados referentes a la fertilidad las evidencias son las obtenidas por la experiencia personal de los autores que publican los resultados.

Los procedimientos quirúrgicos conservadores son seguros para el tratamiento oncológico, aunque no siempre se consiga resolver el problema reproductivo.

A

Patología cervical

Lesiones premalignas o microinvasivas

Las lesiones oncológicas más frecuentes del cérvix, en nuestro medio en el que el cribado citológico ha hecho disminuir los cánceres infiltrantes, son, sobre todo, las lesiones escamosas premalignas (CIN/SIL), los carcinomas *in situ* y los tumores

microinvasivos. Todas estas lesiones permiten un tratamiento conservador del cérvix mediante la conización cervical en los casos más importantes o tratamientos más limitados mediante el empleo de crioterapia, láser o asas diatérmicas para realizar la excisión amplia de la zona de transformación (LLETZ o LEEP), conservando la fertilidad.

Teóricamente el tratamiento del CIN puede disminuir la fertilidad por cuatro vías: estenosis cervical, disminución de la cantidad de moco cervical, incompetencia cervical o alteraciones tubáricas secundarias a una posible infección postquirúrgica⁽²⁰⁾. Estas lesiones son más frecuentes con la conización fría que con las otras técnicas, debido al mayor volumen de tejido cervical que se extirpa⁽²¹⁾. En ocasiones, sobre todo en casos de conizaciones extensas, podrá necesitarse la realización de inseminaciones intrauterinas. La complicación más frecuente será el desencadenamiento de abortos tardíos o partos prematuros por insuficiencia cervical.

El tratamiento recomendado para preservar la fertilidad de pacientes con lesiones premalignas y carcinoma *in situ* de cérvix sería la resección con asa diatérmica. La conización con láser o la conización fría son adecuadas también, reservándose esta última para las lesiones extensas y los tumores microinvasivos.

C

Tumores invasivos de cérvix

En algunos tumores invasivos de cérvix, con extensión limitada, también podrá conservarse la mayor parte del útero, mediante la realización de traquelectomía radical con linfadenectomía pélvica, para la extirpación del cérvix, en pacientes con deseos de fertilidad. En general estas intervenciones están indicadas en estadios IA2, sobre todo, pero también pueden realizarse en tumores en estadios IB y IIA iniciales.

Algunos autores establecen criterios de selección para permitir este tratamiento en que, además de los deseos genésicos y la firma del consentimiento informado, se requiere que el tumor sea igual o menor a 2 cm, sin extensión al endocérnix comprobada por biopsias múltiples, conización o LEEP, y que haya ausencia de afectación ganglionar pélvica o de los espacios linfovascuales⁽²²⁾.

Al ser una técnica que se ha reincorporado recientemente al tratamiento oncológico no existen estadísticas ni seguimientos muy amplios, pero la mayoría de los autores publican tasas de embarazos de hasta el 40%, siendo los mayores problemas los planteados por los partos prematuros. La evidencia que se obtiene en cuanto a la

curación de la enfermedad, cuando se compara con procedimientos convencionales es de tipo A⁽²³⁻²⁵⁾.

Covens *et al.*, 1999, realizaron un estudio controlado con 32 pacientes a las que sometieron a esta técnica y compararon sus resultados con un grupo mayor de pacientes tratadas convencionalmente. Las tasas de supervivencia fueron del 95% en el grupo problema y del 100% y 97% en las tratadas convencionalmente, con o sin radioterapia, por no poseer ganglios pélvicos afectados, y la tasa actuarial de concepción a los 12 meses fue del 37% en el grupo tratado mediante traquelectomía radical. Sobre una serie mayor (80 casos) estos mismos autores⁽²⁶⁾, publican que 39 pacientes concibieron en 11 meses de mediana (1-85 meses), obteniendo un total de 22 embarazos en 18 pacientes, de las que 12 parieron mediante cesárea y en el resto se produjo el parto prematuramente por rotura prematura de membranas. Dargent *et al.*, 2000, en una serie de 47 pacientes con un seguimiento de 52 meses obtuvieron 13 niños normales, aunque refieren una tasa de abortos del 25%. Shepherd *et al.*, 2001⁽²⁷⁾, refieren que 13 mujeres que intentaron la gestación en un grupo de 30 pacientes tuvieron 14 embarazos y 9 recién nacidos vivos, de los que siete fueron prematuros.

Plante *et al.*, 2005⁽²⁸⁾, publican el análisis retrospectivo de la serie más grande, 50 embarazos en 31 mujeres de un grupo de 72 traquelectomías radicales. La tasa de abortos en el primer trimestre fue del 16%. Treinta y seis embarazos (72%) llegaron al tercer trimestre, de ellos 3 finalizaron antes de las 32 semanas de gestación, 5 entre las semanas 32 y 36, y 28 (78%) a término.

La traquelectomía sería el tratamiento recomendado para preservar la fertilidad de pacientes con lesiones invasivas de cérvix en estadios I A2. En algunos casos podría emplearse también en estadios I B y II A.

C

Patología endometrial

El cáncer de endometrio de mujeres jóvenes tiene un fuerte componente endocrino, en comparación con los de las mujeres post-menopáusicas, pudiendo responder favorablemente a tratamientos hormonales. Este hecho permitiría conservar el útero, empleando solo cirugía diagnóstica, para un eventual embarazo posterior.

La selección de pacientes debe hacerse en función de la extensión y profundidad de la afectación maligna y del grado de diferenciación mediante histeroscopia y biopsia. Aunque no sea imposible la curación de procesos avanzados, las pacientes en las que podría permitirse el tratamiento hormonal habrían de ser mujeres jóvenes con deseos de fertili-

dad, cuyos tumores estuviesen localizados en el endometrio (estadios IA) con alto grado de diferenciación histológico (G1).

Los tratamientos endocrinos más empleados han sido los progestágenos y, últimamente, los análogos de la GnRH y los inhibidores de la aromatasa, también tamoxifeno asociado a progestágenos. Dentro de los progestágenos, el más empleado en la actualidad es el acetato de megestrol a dosis elevadas.

Ramírez *et al.*, 2004⁽²⁹⁾, revisaron la literatura publicada en inglés sobre el tratamiento hormonal del cáncer de endometrio en estadio temprano. Las publicaciones (79 artículos) son de pocos casos, pudiendo recopilar 81, en 27 artículos, que reunían las condiciones requeridas para el estudio: pacientes jóvenes, en estadios tempranos, tratadas con hormonas exclusivamente. Sesenta y dos pacientes (78%) respondieron al tratamiento. Quince pacientes (24%) que respondieron al principio recidivaron después. Hubo 19 pacientes que no respondieron favorablemente. Veinte pacientes tuvieron al menos un embarazo después del tratamiento.

El tratamiento recomendado para preservar la fertilidad de pacientes con lesiones malignas de endometrio en estadios IA G1 puede consistir en la hormonoterapia con altas dosis de progestágenos.

C

Patología ovárica

Algunos cánceres tempranos de ovario o con bajo potencial de malignidad pueden ser tratados conservadoramente, en aras de conservar la fertilidad de la paciente. También algunos tumores no epiteliales pueden, en ocasiones, ser tratados conservadoramente. El tratamiento llamado conservador sería el que preservase tejido ovárico suficiente para ovular cíclicamente o que, al menos, conservase el útero para que mediante técnicas de reproducción asistida, pudiese albergarse una gestación.

TBPM

Los tumores que reúnen los criterios de bajo potencial de malignidad (TBPM), con falta de invasión estromal principalmente, constituyen un grupo relativamente abundante, hasta el 15% de los tumores epiteliales malignos de ovario. El 25% de estos tumores se observan en pacientes menores de 40 años. La supervivencia actuarial a cinco años oscila entre el 90 y el 100%. La supervivencia a más largo plazo se modifica en función del estadio de tumor.

El 24º volumen del *Annual Report on the Results of Treatment in Gynaecological Cancer*⁽³⁰⁾ presenta 549 casos de tumores de bajo potencial de malignidad y 3.409 casos de tumo-

res invasivos de ovario; la supervivencia a 5 años fue del 87,6% y del 48,4%, respectivamente para ambos tipos de tumores. El 32,06% de los tumores *borderline* se presentaron en mujeres de menos de 40 años.

En principio en estos tumores de bajo potencial de malignidad podría llevarse a cabo el tratamiento conservador, mediante tumorectomía u ovariectomía recomendando completar los deseos de fertilidad lo más pronto posible para proceder después, si se estima necesario, al tratamiento quirúrgico completo, según las recomendaciones de Morice *et al.*, 2003⁽³¹⁾. Los autores mencionados exponen que para llevar a cabo tratamiento conservado en pacientes jóvenes con deseo de fertilidad con TBPM, deben reunirse las siguientes condiciones: tumor unilateral (1^a), grado 1 de diferenciación (dudoso en casos G2), clasificación quirúrgica adecuada y seguimiento cuidadoso. Camatte *et al.*, 2002⁽³²⁾, consideran la existencia de implantes peritoneales una contraindicación para el tratamiento conservador, debido a la alta tasa de recidivas tempranas que presentan.

No existen grandes casuísticas sobre fertilidad posterior, considerándose que se consiguen embarazos espontáneos en un tercio de los casos⁽³¹⁾. Fauvet *et al.*, 2005⁽³³⁾, publican un estudio multicéntrico en el que analizan la fertilidad de 162 pacientes con tumores de bajo potencial de malignidad, hallando 30 embarazos en 21 (32,3%) de las 65 mujeres que deseaban embarazarse después del tratamiento. Fueron espontáneos 27 embarazos, uno se produjo después IAC/IU y dos tras FIV-TE. La tasa de recidivas y el tiempo en que se produjeron no fueron diferentes en las mujeres que tuvieron hijos que en las que no los tuvieron.

Los tumores ováricos de bajo potencial de malignidad en estadios IA, bien diferenciados (G1), pueden tratarse conservadoramente, si se desea preservar la fertilidad, mediante tumorectomía u ovariectomía. Posteriormente a conseguir la fertilidad deberá sopesarse la conveniencia de realizar el tratamiento quirúrgico completo. También los estadios IB G1 pueden tratarse conservadoramente aunque en estos casos, si se realizara ovariectomía bilateral habrá de recurrirse a otras técnicas de reproducción asistida.

C

Tumores epiteliales malignos en estadios Ia o Ib bien diferenciados

La misma conducta puede desarrollarse en los tumores epiteliales malignos en estadios IA o IB bien diferenciados (G1), tumores limitados a uno o los dos ovarios, con cápsula intacta, sin tumor en la superficie y con líquido ascítico o lavado peritoneal negativos. Serán precisas una adecuada clasificación quirúrgica y la consideración de las posibles recidivas de la enfermedad, lo que habrá de ser discutido con la paciente, a la que se exigirá un seguimiento estricto y la búsqueda del embarazo con premura, así como la firma del consentimiento informado como en todas las ocasiones.

Los casos de estos tumores IA y IB referenciados en la publicación indicada de la FIGO⁽³⁰⁾, representan el 31 % de los tumores de mujeres de menos de 40 años (119 sobre 384).

En el tratamiento de estos tumores no sería necesario el empleo de quimioterapia⁽³⁴⁾. En los tumores IB será preciso en muchos casos, cuando se extirpen los dos ovarios, emplear técnicas de reproducción asistida. Una vez que se consiga la fertilidad deseada puede completarse preventivamente el tratamiento quirúrgico.

Algunos autores aceptarían tratar conservadoramente también a los estadios IC⁽³⁵⁾, pero emplean quimioterapia en los casos con grado de diferenciación histológico deficiente, (G2, G3) y en los estadios IC y, aunque refieren tasas de embarazo importantes, también citan dos casos de muertes en sus 52 pacientes. Otros autores⁽³⁶⁾, aceptan tumores en estadio I con grados I o II. Esto último plantearía dudas a Morice *et al.*, 2003, que en otro artículo anterior⁽³⁷⁾ era contrario a tratar conservadoramente procesos que no fueran IAG1 y que finalmente después de realizar un estudio multicéntrico⁽³⁸⁾, se reafirma en ello indicando que los casos la >G1 no deben tratarse conservadoramente, pues todos sus casos recidivaron. Estos autores revisan 12 series tratadas conservadoramente entre 1995 y 2002 encontrando un total de 198 casos, en los que se trataron pacientes en estadios, IA, IB y IC, incluyendo todos los grados de diferenciación. Veintiséis pacientes presentaron recidivas tumorales, catorce en el ovario restante, trece pacientes fallecieron y se obtuvieron 74 embarazos en 62 pacientes.

Otros tumores no epiteliales

Otros tumores no epiteliales, más raros, como los tumores de células germinales, el disgerminoma, el tumor del seno endodérmico o el teratoma inmaduro, cuando se hallen en estadios IA pueden tratarse con ovariectomía unilateral. El disgerminoma y el tumor del seno endodérmico que fueron tratados anteriormente con radioterapia, son quimiosensibles y pueden no necesitar ser operados en estadios tempranos para obtener su curación con poliquimioterapia con bleomicina, etopósido y platino (Morrow *et al.*, 1996). Estadios más avanzados pueden tratarse con ovariectomía y quimioterapia, con la combinación indicada, con la intención de conservar la fertilidad⁽³⁹⁻⁴¹⁾.

Zanetta *et al.*, 2001⁽⁴²⁾, refieren que a 138 (81%) de sus 169 pacientes con tumores malignos de células germinales realizaron tratamiento conservador de la fertilidad obteniendo las mismas cifras de supervivencia que en las demás pacientes. A los nueve meses del tratamiento todas, salvo una, recuperaron las menstruaciones. En el seguimiento observaron que 12 pacientes no tratadas y 20 tratadas con quimioterapia tuvieron 55 embarazos. De ellos, 40 llegaron a término, seis se interrumpieron y nueve abortaron espontá-

neamente. Se observaron cuatro malformaciones en los recién nacidos, una entre 14 concepciones de las no tratadas y tres entre las 41 de las tratadas con quimioterapia, careciendo de diferencias de significación estadística.

Tangir *et al.*, 2003⁽⁴³⁾, revisan también la fertilidad posterior de sus pacientes tratadas por tumores de células germinales malignos encontrando que el 38% de 64 de las 106 pacientes, a las que se había tratado con la intención de preservar la fertilidad concibieron y que 29 de ellas tuvieron al menos un hijo. Ocho de ellas habían sido tratadas por tumores en estadio III.

La misma pauta conservadora de los ovarios, con o sin cirugía, puede emplearse en tumores más raros cuando sus estadios sean IA o IB, en casos de tumores de células de la granulosa o de tumores de los cordones sexuales⁽³⁶⁾.

Las mujeres con cáncer de ovario estadio IA bien diferenciado, con deseo de preservar su fertilidad, pueden ser objeto de tratamiento conservador.	C
En los tumores de células germinales estadios I-III puede intentarse tratamiento adyuvante sólo con quimioterapia si las pacientes quieren preservar su fertilidad.	RSAA
Pueden tratarse también con técnicas conservadoras los estadios IB, aunque en muchos de estos casos habrá de recurrirse a técnicas de reproducción asistida (conservación de tejido ovárico, congelación de ovocitos, etc.), por haberse extirpado los dos ovarios.	C

Transposición ovárica

Con la intención de impedir la afectación de la gónada por las radiaciones ionizantes empleadas en el tratamiento de algunos cánceres como linfomas, cánceres de cérvix o de intestino, se ha realizado la transposición del ovario a regiones alejadas del área de irradiación, fundamentalmente en las correderas cólicas o, menos frecuentemente, a regiones extrabdominales; también detrás del útero. Este procedimiento debe reservarse a pacientes menores de 40 años, sin evidencia de metástasis.

Puede realizarse mediante cirugía abierta, con ocasión de clasificar quirúrgicamente algunos procesos y más recientemente por laparoscopia. La eficacia del procedimiento puede verificarse por las determinaciones hormonales de gonadotropinas o esteroides. Cuando la transposición ovárica se acompaña de la tubárica son posibles

los embarazos espontáneos. No es obligatoria la reposición ovárica para que se produzcan embarazos, aunque esto dependerá del lugar de la transposición. La reposición de los ovarios transpuestos puede ser espontánea también, dependiendo del procedimiento de fijación empleado.

En 92 pacientes que pudieron ser seguidas de un grupo de 104 a las que se realizó transposición ovárica por cáncer de cérvix, se consiguió preservar la función ovárica en el 83% de ellas. Las tasas de preservación fueron: 100% en los casos tratados solamente con cirugía; 90% en los casos tratados con braquiterapia postquirúrgica y 60% en los tratados con radioterapia externa y braquiterapia vaginal postquirúrgicamente⁽⁴⁴⁾.

Los resultados que se obtienen, referidos a casuísticas muy escasas son alentadores. Morice *et al.*, 1998, publican la mayor casuística y refieren 16 embarazos en 12 mujeres de un grupo de 37 a las que se había realizado transposición de los ovarios por adenocarcinoma de células claras de la vagina, disgerminoma de ovario y, en un caso, sarcoma de tejidos blandos periuterinos. La tasa de embarazo fue del 80% en los casos de disgerminoma de ovario. Otros autores recurren en casos aislados a la recuperación de ovocitos y a la maternidad subrogada.

La transposición ovárica es una técnica apropiada para intentar preservar la fertilidad de pacientes que han de sufrir irradiación pélvica.

C

Protección farmacológica del ovario

Los tratamientos quimioterápicos realizados prepuberalmente por procesos oncológicos malignos no suelen impedir la instauración posterior de la función ovárica normal. Con esta base, se ha investigado la posibilidad de utilizar un fármaco capaz de suprimir la actividad ovárica durante los tratamientos quimioterápicos, en mujeres con ciclos menstruales establecidos, que permita posteriormente la recuperación de la función ovárica y posibilite la fertilidad.

Con este fin emplearemos inicialmente contraceptivos orales, aunque la medida más frecuentemente empleada para preservar la fertilidad en caso de tratamientos con quimioterapia es la administración de análogos de la GnRH (GnRH_a).

Administración de contraceptivos hormonales

Existen muy pocas publicaciones sobre este tipo de tratamientos y todas sobre un número reducido de casos. Chapman *et al.*^(45,46) demostraron que pacientes con linfoma de Hodgkin tratadas con anovulatorios durante la quimioterapia, tenían más

folículos primordiales en las biopsias de ovario que las pacientes que no fueron tratadas simultáneamente con contraceptivos. Cinco de sus seis pacientes recuperaron la normalidad de sus ciclos pocos meses después del tratamiento, obteniendo una, incluso, un embarazo. Sin embargo, otros autores⁽⁴⁷⁾ solamente encontraron este efecto en dos de sus nueve pacientes tratadas con contraceptivos durante la quimioterapia. En la literatura se encuentra un artículo en el que se ha empleado este tratamiento en 95 pacientes con la recuperación de los ciclos después de quimioterapia del 86%.

Desde el advenimiento de los GnRHa, por su mayor eficacia, los centros que pretenden poner a sus pacientes en situación de hipogonadismo han dejado de emplear los contraceptivos.

Administración de análogos de la GNRH

Los GnRHa de depósito en administración mantenida son utilizados en la actualidad para mantener en reposo los ovarios durante el tiempo que dure el tratamiento quimioterápico. Los resultados que se comunican son diversos^(48,49), pero hay autores que recomiendan la administración en paralelo al tratamiento quimioterápico de GnRHa, sobre todo en tumores de órganos con receptores positivos a GnRH. Blumenfeld *et al.*, 2005⁽⁵⁰⁾, en la publicación más importante al respecto, refieren que mantener bajo protección ovárica con análogos de la GnRH durante la quimioterapia por diversos procesos oncológicos, permitió recuperar los ciclos menstruales o embarazarse al 100% de las pacientes que sobrevivieron (87 de 92 casos) frente al 52% de 82 casos en que no se estableció la protección hormonal con GnRHa. Esta actuación está respaldada por un estudio randomizado prospectivo⁽⁵¹⁾, realizado en monos Rhesus tratados con ciclofosfamida en el que los GnRHa fueron capaces de proteger al ovario, disminuyendo la pérdida folicular en los estudios histológicos, al compararlos con los de ovarios tratados exclusivamente con ciclofosfamida.

Mardesic *et al.*, 2004⁽⁵²⁾, proponen un protocolo de actuación rápida para suprimir el eje hipofisario gonadal. Combinando D-Trp6-GnRH-a (3,75 mg) y el antagonista cetorelix (3 mg), consiguen la supresión de gonadotropinas en 96 horas y puede empezarse de inmediato la quimioterapia.

La protección farmacológica del ovario durante la quimioterapia puede conseguirse mediante la administración de análogos de la GnRH con la intención de mantener en reposo los ovarios.

C

Estimulación ovárica alternativa en pacientes con tumores hormonodependientes

Para inducir la ovulación en casos de pacientes tratadas por cáncer de mama y evitar la hipotética recidiva o estimulación del cáncer por la estimulación con gonadotropinas, se está utilizando por algunos autores tamoxifeno solo o asociado con letrozol, con resultados aparentemente favorables⁽⁵³⁾.

Técnicas de criopreservación

Las técnicas de congelación, desarrolladas primero para la conservación de semen, permiten afrontar la posible esterilidad producida por los tratamientos oncológicos. Las técnicas en uso son la congelación de embriones, de ovocitos o de tejido ovárico. Las dos primeras tienen el inconveniente, en las pacientes oncológicas, de tener que recurrir a la hiperestimulación ovárica, que en algunos tumores puede ser indeseable, o a la necesidad de la existencia de una pareja estable en el caso de congelación de embriones, lo que en pacientes muy jóvenes puede no ser viable.

La congelación de embriones

Es el procedimiento más desarrollado y es de uso habitual en las clínicas de fertilidad. Consigue tasas de embarazo semejantes a las de las técnicas habituales^(54,55) en relación con la edad de las pacientes, pero precisa, como ya se ha dicho, de la existencia de una pareja estable que permita llevar a cabo la técnica. Tiene por otro lado el inconveniente de que tumores hormonosensibles contraindicarían la hiperestimulación ovárica. Desde el punto de vista técnico está perfectamente acreditada y, salvo imposibilidad, es la técnica a utilizar. Pero la congelación de embriones plantea el problema del destino de los embriones en caso de disolución de la pareja.

La criopreservación de ovocitos

Es una técnica más reciente que presenta mayores dificultades pero que están en vías de solucionarse, habiéndose referido ya numerosos embarazos obtenidos con el procedimiento, aproximadamente 100 nacimientos hasta diciembre de 2004⁽⁵⁶⁻⁵⁸⁾. Sería la técnica a emplear en pacientes muy jóvenes o sin pareja, caso de que no estuviera contraindicada la hiperestimulación ovárica necesaria.

El tamaño del citoplasma de los ovocitos y su mayor contenido de agua que otras células y el que el núcleo esté bloqueado en la metafase II de la meiosis los hace más frágiles y sensibles a los cambios osmóticos y de temperatura⁽⁵⁹⁾. Algunas modificaciones de la técnica, como la cristalización^(60,61), pueden aumentar su viabilidad que ya alcanza en algunos centros el 54%⁽⁶²⁾. De todas maneras debe considerarse en experimentación todavía.

El comité ético de la Sociedad Americana de Medicina Reproductiva⁽⁶³⁾ considera que la tasa de embarazos que se obtienen con esta técnica o con la conservación de tejido ovárico no justifican el uso rutinario de estos procedimientos⁽⁶³⁾.

La criopreservación de tejido ovárico

Para su posterior trasplante o estimulación y obtención de ovocitos, en pacientes con procesos oncológicos parece un procedimiento que, en el futuro, habrá de practicarse con mayor frecuencia. Todavía, como la criopreservación de ovocitos, debe considerarse en experimentación, aunque cada vez son más numerosas las publicaciones sobre esta técnica^(65,66).

La obtención de tiras o fragmentos de biopsias de los ovarios de las pacientes y su conservación han sido publicadas desde hace algún tiempo. No es un procedimiento fácil, aunque ha permitido documentar ciclos menstruales durante algún tiempo en series cortas de pacientes autotransplantadas⁽⁶⁷⁾ o desarrollo folicular *in vitro* en otros casos. Hasta ahora se han documentado algunos embarazos por autores diferentes.

El hecho de que los folículos primordiales con sus ovocitos en profase I puedan conservarse abre por tanto amplias perspectivas. Habrán de salvarse, sin embargo, primero las dificultades de conservación del tejido que pasa por la verificación previa de que en el tejido a conservar no existen células malignas. Otro punto importante será la realización del trasplante y su viabilidad prolongada. También habrá de prestarse atención a otros factores como la supervivencia esperada de las pacientes y el costo de la técnica⁽⁶⁹⁾.

A pesar de los éxitos obtenidos, la criopreservación de tejido ovárico debe considerarse en experimentación todavía.

El comité ético de la Sociedad Americana de Medicina Reproductiva⁽⁶³⁾ considera que la tasa de embarazos que se obtienen con esta técnica o con la criopreservación ovocitaria no justifican el uso rutinario de estos procedimientos.

La criopreservación de ovocitos y de tejido ovárico ofrece nuevas posibilidades de preservación de la fertilidad en las pacientes oncológicas. Sin embargo, aún no está justificado su empleo sistemático en estas pacientes.

RSAA

BIBLIOGRAFÍA

- Byrne J, Mulvihill JJ, Myers MH, Connelly RR, Naughton MD, Krauss MR, Steinhorn SC, Hassinger DD, Austin DF, Bragg K, et al. Effects of treatment on fertility in long-term survivors of childhood or adolescent cancer. *N Engl J Med* 1987;317:1315-21.
- Byrne J, Rasmussen SA, Steinhorn SC, Connelly RR, Myers MH, Lynch CF. Genetic disease in offspring of long-term survivors of childhood and adolescent cancer. *Am J Hum Genet* 1998;62:45-52.
- Kaplan HS. *Hodgkin's disease*. 2nd Ed. Boston: Harvard University Press, 1980: 434.
- Dolan ME. Sexuality in gynecological patients undergoing radiation therapy treatments In: Nori D, Hilaris BS, eds. *Radiation Therapy of Gynecological Cancer*. New York: Alan R. Liss, Inc., 1987: 404-5.
- Wallace WH, Thomson AB, Kelsey TW. The radiosensitivity of the human oocyte. *Hum Reprod* 2003;18:117-21.
- Wallace WH, Shalet SM, Hendry JH, Morris-Jones PH, Gattamaneni HR. Ovarian failure following abdominal irradiation in childhood. The radiosensitivity of human oocyte. *Br J Radiol* 1989; 62: 995-8.
- Li FP, Gimbrere K, Gelber RD, Sallan SE, Flamant F, Green DM, Heyn RM, Meadows AT. Outcome of pregnancy in survivors of Wilms' tumor. *JAMA* 1987; 257: 216-9.
- Hawkins MM, Smith RA. Pregnancy outcomes in childhood cancer survivors: probable effects of abdominal irradiation. *Int J Cancer* 1989; 43: 399-402.
- Rose DP, Davis TE. Ovarian function in patients receiving adjuvant chemotherapy for breast cancer. *Lancet* 1977;1:1174-6.
- Bonnadonna G. Lesiones por fármacos. In: Bonnadonna G, Robustelli della Cuna G, eds. *Manual de Oncología Médica*. Barcelona: Masson S.A., 1983: 928.
- Meirow D. Ovarian injury and modern options to preserve fertility in female cancer patients treated with high dose radio-chemotherapy for hemato-oncological neoplasias and other cancers. *Leuk Lymphoma* 1999; 33: 65-76.
- Warne GL, Fairley KF, Hobbs JB, Martin FI. Cyclophosphamide-induced ovarian failure. *N Engl J Med* 1973; 289: 1159-62.
- Himelstein-Braw R, Peters H, Faber M. Morphological study of the ovaries of leukaemic children. *Br J Cancer* 1978; 38: 82-7.
- Familiari G, Caggiati A, Nottola SA, Ermini M, Di-Benedetto MR, Motta PM. Ultrastructure of human ovarian primordial follicles after combination chemotherapy for Hodgkin's disease. *Hum Reprod* 1993; 8: 2080-7.
- Generoso WM, Huff SW, Stout SK. Chemically induced dominant-lethal mutations and cell killing mouse oocytes in the advanced stages of follicular development. *Mutat Res* 1971; 11: 411-20.
- Becker K, Schoneich J. Expression of genetic damage induced by alkylating agents in germ cells of female mice. *Mutat Res* 1982; 92: 447-64.
- Katoh MA, Cain KT, Hughes LA, Foxworth LB, Bishop JB, Generoso WM. Female-specific dominant lethal effects in mice. *Mutat Res* 1990; 230: 205-17.
- Albanese R. Induction and transmission of chemically induced chromosome aberrations in female germ cells. *Environ Mol Mutagen* 1987; 10: 231-43.
- Sudman PD, Rutledge JC, Bishop JB, Generoso WM. Bleomycin: female-specific dominant lethal effects in mice. *Mutat Res* 1992; 296: 143-56.
- Hammond RH, Edmonds DK. Does treatment for cervical intraepithelial neoplasia affect fertility and pregnancy? Little to worry about. *Br Med J* 1990; 301: 1344-5.
- Cox JT. Management of cervical intraepithelial neoplasia. *Lancet* 1999; 353: 857-9.
- Puente R, Guzmán S, Israel A, Carpio P. Traquelectomía una alternativa terapéutica para conservar la fertilidad en el cáncer cérvico-uterino inicialmente invasor. *Rev Chil Obstet Ginecol* 2004; 69: 92-9.
- Covens A, Shaw P, Murphy J, De Petrillo D, Lickrish G, Laframboise S, Rosen B. Is radical trachelectomy a safe alternative to radical hysterectomy for patients with stage IA-B carcinoma of the cervix? *Cancer* 1999; 86: 2273-9.
- Dargent D. Using radical trachelectomy to preserve fertility in early invasive cervical cancer. *Contemporary Ob/Gin* 2000; 5: 23-49.
- Dargent D, Martin X, Sacchetti A, Mathevet P. Laparoscopic vaginal radical trachelectomy: a treatment to preserve the fertility of cervical carcinoma patients. *Cancer* 2000; 88: 1877-82.
- Bernardini M, Barrett J, Seaward G, Covens A. Pregnancy outcomes in patients after radical trachelectomy. *Am J Obstet Gynecol* 2003; 189: 1378-82.

27. Shepherd JH, Mould T, Oram DH. Radical trachelectomy in early stage carcinoma of the cervix: outcome as judged by recurrence and fertility rates. *Br J Obstet Gynaecol* 2001; 108: 882-5.
28. Plante M, Renaud MC, Hoskins IA, Roy M. Vaginal radical trachelectomy: a valuable fertility-preserving option in the management of early-stage cervical cancer. A series of 50 pregnancies and review of the literature. *Gynecol Oncol* 2005; 98: 3-10.
29. Ramírez PT, Frumovitz M, Bodurka DC, Sun CC, Levenback C. Hormonal therapy for the management of grade I endometrial adenocarcinoma: a literature review. *Gynecol Oncol* 2004; 95: 133-8.
30. Heintz AP, Odicino F, Maissonneuve P, Beller U, Benedet JL, Creasman WT, Ngan HY, Siceri M, Pecorelli S. Carcinoma of the ovary. *J Epidemiol Biostat* 2001; 6: 107-38.
31. Morice P, Camatte S, Wicart-Poque F, Atallah D, Rouzier R, Pautier P, Pomel C, Lhomme C, Duvillard P, Castaigne D. Results of conservative management of epithelial malignant and borderline ovarian tumors. *Hum Reprod Update* 2003; 9: 185-92.
32. Camatte S, Morice P, Pautier P, Atallah D, Duvillard P, Castaigne D. Fertility results after conservative treatment of advanced stage serous borderline tumour of the ovary. *Br J Obstet Gynaecol* 2002; 109: 376-80.
33. Fauvet R, Poncelet C, Boccarda J, Descamps P, Fondrinier E, Darai E. Fertility after conservative treatment for borderline ovarian tumors: a French multicenter study. *Fertil Steril* 2005; 83: 284-90.
34. Berkenblit A, Cannistra SA. Advances in the management of epithelial ovarian cancer. *J Reprod Med* 2005; 50: 426-38.
35. Schilder JM, Thompson AM, DePriest PD, Ueland FR, Cibull ML, Kryscio RJ, Modesitt SC, Lu KH, Geisler JP, Higgins RV, Magtibay PM, Cohn DE, Powell MA, Chu C, Stehman FB, van Nagell J. Outcome of reproductive age women with stage IA or IC invasive epithelial ovarian cancer treated with fertility-sparing therapy. *Gynecol Oncol* 2002; 87: 1-7.
36. Zanagnolo V, Sartori E, Trussardi E, Pasinetti B, Maggino T. Preservation of ovarian function, reproductive ability and emotional attitudes in patients with malignant ovarian tumors. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2005; 123: 235-43.
37. Morice P, Wicart-Poque F, Rey A, El-Hassan J, Pautier P, Lhomme C, de Crevosier R, Haie-Meder C, Duvillard P, Castaigne D. Results of conservative treatment in epithelial ovarian carcinoma. *Cancer* 2001; 92: 2412-8.
38. Morice P, Leblanc E, Rey A, Baron M, Querleu D, Blanchot J, Duvillard P, Lhomme C, Castaigne D, Classe JM, Bonnier P; GCCLCC and SFOG. Conservative treatment in epithelial ovarian cancer: results of a multicentre study of the GCCLCC (Groupe des Chirurgiens de Centre de Lutte Contre le Cancer) and SFOG (Societe Francaise d'Oncologie Gynecologique). *Hum Reprod* 2005; 20: 1379-85.
39. Thomas GM, Dembo AJ, Hacker NF, De Petrillo AD. Current therapy for dysgerminoma of the ovary. *Obstet Gynecol* 1987; 70: 268-75.
40. Wu PC, Huang RL, Lang JH, Huang HF, Lian LJ, Tang MY. Treatment of malignant ovarian germ cell tumors with preservation of fertility: a report of 28 cases. *Gynecol Oncol* 1991; 40: 2-6.
41. Lu KH, Gershenson DM. Update on the management of ovarian germ cell tumors. *J Reprod Med* 2005; 50: 417-25.
42. Zanetta G, Bonazzi C, Cantu M, Binidagger S, Locatelli A, Bratina G, Mangioni C. Survival and reproductive function after treatment of malignant germ cell ovarian tumors. *J Clin Oncol* 2001; 19: 1015-20.
43. Tangir J, Zelterman D, Ma W, Schwartz PE. Reproductive function after conservative surgery and chemotherapy for malignant germ cell tumors of the ovary. *Obstet Gynecol* 2003; 101: 251-7.
44. Morice P, Juncker L, Rey A, El-Hassan J, Haie-Meder C, Castaigne D. Ovarian transposition for patients with cervical carcinoma treated by radiosurgical combination. *Fertil Steril* 2000; 74: 743-8.
45. Chapman RM, Sutcliffe SB. Protection of ovarian function by oral contraceptives in women receiving chemotherapy for Hodgkin's disease. *Blood* 1981; 58: 849-51.
46. Chapman RM. Effect of cytotoxic therapy on sexuality and gonadal function. *Semin Oncol* 1982; 9: 84-94.
47. Whitehead E, Shalet SM, Blackledge G, Todd I, Crowther D, Beardwell CG. The effect of combination chemotherapy on ovarian function in women treated for Hodgkin's disease. *Cancer* 1983; 52: 988-93.
48. Simon B, Lee SJ, Partridge AH, Runowicz CD. Preserving fertility after cancer. *CA Cancer J Clin* 2005; 55: 211-28.
49. Oktay K, Sonmez M. Ovarian tissue banking for cancer patients: fertility preservation, not just ovarian cryopreservation. *Hum Reprod* 2004; 19: 477-80.
50. Blumenfeld Z, Eckman A. Preservation of fertility and ovarian function and minimization of chemotherapy-

- induced gonadotoxicity in young women by GnRH-a. *J Natl Cancer Inst Monogr* 2005; 34: 40-3.
51. Ataya K, Rao LV, Kimmel R. Luteinizing hormone-releasing hormone agonist inhibits cyclophosphamide-induced ovarian follicular depletion in rhesus monkeys. *Biol Reprod* 1995; 52: 365-72.
 52. Mardesic T, Snajderova M, Sramkova L, Keslova P, Sedlacek P, Stary J. Protocol combining GnRH agonists and GnRH antagonists for rapid suppression and prevention of gonadal damage during cytotoxic therapy. *Eur J Gynaecol Oncol* 2004; 25: 90-2.
 53. Oktay K, Buyuk E, Davis O, Yermakova I, Veek L, Rosenwaks Z. Fertility preservation in breast cancer patients: IVF and embryo cryopreservation after ovarian stimulation with tamoxifen. *Hum Reprod* 2003; 18: 90-5.
 54. Veiga A, Torello MJ, Boiso I, Sandalinas M, Busquets A, Calderon G, Barri PN. Optimization of implantation in the in-vitro fertilization laboratory. *Hum Reprod* 1995; 10 Suppl 2: 98-106.
 55. Ruiz A, Cobo A, Romero JL, Escudero E, Santos MJ, Remohi J, Pellicer A. Actual papel de la fecundación in vitro (FIV). In: Remohi J, Pellicer A, Simon C, Navarro J, eds. *Reproducción humana* Madrid: McGraw-Hill. Interamericana, 2002: 437-42.
 56. Chen C. Pregnancy after human oocyte cryopreservation. *Lancet* 1986; 1: 884-6.
 57. Porcu E, Fabbri R, Seracchioli R, Ciotti PM, Magrini O, Flamigni C. Birth of a healthy female after intracytoplasmic sperm injection of cryopreserved human oocytes. *Fertil Steril* 1997; 68: 724-6.
 58. Fosas N, Marina F, Torres PJ, Jové L, Martín P, Pérez N, Arnedo N, Marina S. The births of five Spanish babies from cryopreserved donated oocytes. *Hum Reprod* 2003; 18: 1417-21.
 59. Poirot C, Vacher-Lavenu MC, Helardot P, Guibert J, Brugieres L, Jouannet P. Human ovarian tissue cryopreservation: indications and feasibility. *Hum Reprod* 2002; 17: 1447-52.
 60. Tucker M, Morton P, Liebermann J. Human oocyte cryopreservation: a valid alternative to embryo cryopreservation? *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2004; 113 Suppl 1: S24-7.
 61. Stachecki JJ, Cohen J. An overview of oocyte cryopreservation. *Reprod Biomed Online*. 2004; 9: 152-63.
 62. Fabbri R, Porcu E, Marsella T, Rocchetta G, Venturoli S, Flamigni C. Human oocyte cryopreservation: new perspectives regarding oocyte survival. *Hum Reprod* 2001; 16: 411-6.
 63. Ethics Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Fertility preservation and reproduction in cancer patients. *Fertil Steril* 2005; 83: 1622-8.
 64. Practice committee of the American Society for Reproductive Medicine. Ovarian tissue and oocyte cryopreservation. *Fertil Steril* 2004; 82: 993-8.
 65. Falcone T, Attaran M, Bedaiwy MA, Goldberg JM. Ovarian function preservation in the cancer patient. *Fertil Steril* 2004; 81: 243-57.
 66. Oktay K, Sonmezer M. Ovarian tissue banking for cancer patients: fertility preservation, no just ovarian cryopreservation. *Hum Reprod* 2004; 19: 477-80.
 67. Callejo J, Salvador C, Miralles A, Vilaseca S, Laila JM, Balasch J. Long-term ovarian function evaluation after autografting by implantation with fresh and frozen-thawed human ovarian tissue. *J Clin Endocrinol Metabol* 2001; 86: 4489-94.

Bibliografía adicional

- Thibaud E, Ramírez M, Brauner R, Flamant F, Zucker JM, Fekete C, Rappaport R. Preservation of ovarian function by ovarian transposition performed before pelvic irradiation during childhood. *J Pediatr* 1992; 121: 880-4.
- Howard FM. Laparoscopic lateral ovarian transposition before radiation treatment of Hodgkin disease. *J Am Assoc Gynecol Laparosc* 1997; 4: 601-4.
- Morice P, Castaigne D, Haie-Meder C, Pautier P, El-Hassan J, Duvillard P, Gerbaulet A, Michel G. Laparoscopic ovarian transposition for pelvic malignancies: indications and functional outcomes. *Fertile Steril* 1998; 70: 956-60.
- Ignashina EV, Rasstrigin NA, Margolin OV, Pivnik AV, Shilin DE. Protection of reproduction function in women with Hodgkin's disease in the course of polychemotherapy. *Ter Arkh* 1999; 71: 29-32.
- Moilanen JM, Tulppala M, Reima I, Hovatta O. Fertilization, embryo quality, and cryosurvival in in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection cycles. *J Assist Reprod Genet* 1999; 16: 17-23.
- Porcu E, Fabbri R, Damiano G, Fratto R, Giunchi S, Venturoli S. Oocyte cryopreservation in oncological patients. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2004; 113 Suppl 1: S14-6.

- Pellicer A, Simon C. Ethics of oocyte cryopreservation in Spain. *Reprod Biomed Online*. 2002; 5: 230.
- Falcone T, Bedaiwy MA. Fertility preservation and pregnancy outcome after malignancy. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2005; 17: 21-6.
- Gosden RG, Baird DT, Wade JC, Webb R. Restoration of fertility to oophorectomized sheep by ovarian autografts stored at -196 degrees C. *Hum Reprod* 1994; 9: 597-603.
- Donnez J, Dolmans MM, Demylle D, Jadoul P, Pirard C, Squifflet J, Martinez-Madrid B, van Langendonck A. Livebirth after orthotopic transplantation of cryopreserved ovarian tissue. *Lancet* 2004; 364: 1405-10.