

Artículo Original

PRIMER CASO DE PRESERVACION DE FERTILIDAD EN GUATEMALA

Dr. Luis Pedro Rossal Oliva¹, Dr. Juan Ramón Chalapud-Revelo², Dr. Fernando Meléndez Pineda¹,
Lic. Fredy Mejía Rodríguez¹

Resumen

La sobrevida a largo plazo de las pacientes con patología oncológica se ha incrementado en las últimas décadas, gracias a la detección temprana y a los avances en la terapia oncológica. Esta condición cada vez es mayor en mujeres que se encuentran en edad fértil, y que aún no han considerado su deseo gestacional. Se sabe muy bien que la terapia oncológica es tóxica para las gónadas, efecto que dependerá del medicamento, dosis, empleo de radioterapia y edad de administración del tratamiento. Entre varias técnicas para preservar la fertilidad de estas pacientes, la vitrificación de óvulos ha demostrado ser una técnica viable para las pacientes en edad reproductiva. Las tasas de sobrevida, fecundación y gestación obtenidas con óvulos vitrificados son comparables a las obtenidas con óvulos en fresco. Los impactos en la fertilidad futura de las pacientes debería ser discutida y se debería considerar la vitrificación de óvulos como método de preservación de su fertilidad futura, antes de someterse a cualquier terapia oncológica.

Palabras claves: Vitrificación de óvulos, Preservación de la fertilidad.

Introducción

En las últimas décadas se ha visto un incremento en la incidencia de cáncer, tanto en etapas infantiles como en edad reproductiva. Esto ha originado que exista una creciente población superviviente del cáncer, gracias a las nuevas terapias antineoplásicas existentes.

Se estima que en la población mundial hay aproximadamente 25 millones de personas que han sobrevivido al cáncer y que, en el año 2010, uno de cada 715 adultos habrá sido tratado de un cáncer en la infancia ⁽¹⁾.

Las terapias antineoplásicas han permitido que esta población tenga mejores tasas de sobrevida, encontrándose estos pacientes aún en etapa reproductiva óptima, sin embargo, dichas terapias conllevan ciertos riesgos, entre

Abstract

The long term survival of oncology patients has increased during the last decades, mainly because of early detection methods and advances in cancer treatments. It has also been reported that the number of cases has increased in women of reproductive age. Many of this women still have not achieved nor considered a pregnancy. It is well known that the oncological treatment is gonadotoxic, that the effect of this toxicity depends on the medication, dose, radiology co treatment and the age of the patient at which the chemotherapy is applied. Amongst many fertility preservation techniques, oocyte vitrification has proven to be a suitable alternative for many women in reproductive age. The survival, fertilization and pregnancy rates achieved using vitrified oocytes are comparable to using fresh oocytes. We consider that the the fertility implications of the cancer treatments must be discussed with the patient and the use of oocyte vitrification as a fertility preservation should be offered before any treatment is initiated.

Key words: Oncogenic risk, pathological grade, displasia evolution

los cuales destaca la toxicidad sobre las gónadas, lo cual podría repercutir en la capacidad reproductiva futura de éstas pacientes.

En la actualidad, para la mayoría de neoplasias que se presentan a edades jóvenes, como las leucosis, los linfomas o los tumores sólidos como el de Wilms, la supervivencia ya es superior al 80% a los 5 años del diagnóstico, cuando hace sólo 20-30 años no era superior al 30-40%. Como vemos, los avances en el diagnóstico precoz, las diferentes terapias y medidas de soporte han determinado una mejoría ostensible en la supervivencia a largo plazo, tan es así que antes sólo se tenía en cuenta la toxicidad aguda de los tratamientos oncológicos y, en la actualidad, nos planteamos sus posibles efectos a largo plazo, destacando el daño gonadal y su repercusión sobre la fertilidad futura de estas pacientes ⁽²⁾.

Para poder paliar esta situación, se han procurado realizar varias opciones, entre las que podemos mencionar el uso de

¹Centro Clínico Gestar. ²Instituto Nacional de Cancerología (INCAN)

análogos de GnRH, congelación de ovario o de corteza ovárica para autotrasplante (al mismo paciente) o xenotrasplante (a ratones inmunodeprimidos) posteriormente, la fecundación in vitro con posterior criopreservación de embriones o la criopreservación de óvulos. Estas últimas dos opciones han ganado el mayor potencial, pues gracias a la novedosa técnica de la vitrificación, las tasas de supervivencia celular superan el 90%^(3,4,5).

Presentación del caso

Paciente de 24 años de edad quien consultó con médico particular por que hacía tres años empezó a presentar crecimiento ganglionar cervical del lado derecho, el cual fue creciendo hasta alcanzar un diámetro medio de 5 cms. La paciente es sometida a una biopsia del conglomerado ganglionar, reportándose Linfoma de Hodgkin tipo esclerosoide nodular. La paciente es referida con Hemato-Oncólogo para valorar tratamiento de quimio y radioterapia.

A la valoración clínica, los signos vitales se encontraban en límites normales, con presencia de un conglomerado ganglionar en región supraclavicular derecha de 5 * 5 * 2 cms, con adenopatías de 1 * 1 * 1 cm en cadena yugular posterior. No refiere pérdida de peso, fiebre, sudoración nocturna ni prurito. Auscultación pulmonar normal, corazón rítmico, no soplos. Abdomen blando, depresible, no organomegalias (bazo e hígado normales). Genitales externos diferidos.

Como exámenes complementarios se realizan análisis sanguíneos de hematología con velocidad de sedimentación, globular, deshidrogenasa láctica, función renal, función hepática y glucosa, siendo todos ellos normales, HIV negativo. Se solicitan tomografía axial computarizada de tórax y abdomen, los cuales no reportan patología alguna.

Se procede a realizar biopsia y aspirado de médula ósea, los cuales fueron negativos. También se hicieron estudios de inmunohistoquímica, presentando CD30 y CD15 positivos, confirmándose el diagnóstico de Linfoma de Hodgkin tipo esclerosoide nodular.

Por los estudios realizados se estadifica a la paciente en estadio clínico IA, sin ningún factor de mal pronóstico. Considerando la edad de la paciente, siguiendo las guías internacionales de la NCCN, el Hemato-Oncólogo le plantea a la paciente la posibilidad de realizar tratamiento previo para conservar su fertilidad futura antes de someterse a tratamiento oncológico, por lo que le refiere para ello.

A la evaluación ginecológica se indaga sobre los antecedentes menstruales, reportándose menarquia a los 10 años, ciclos regulares cada 28 días por 5 días de duración menstrual. Paciente nuligesta. Se realiza ecografía vía vaginal, encontrándose útero de tamaño, forma y ecogenicidad normal. Miometrio y endometrio normales. Ambos ovarios son de tamaño normal, con actividad folicular normal para la edad.

Dos semanas después, al presentar menstruación, la paciente asiste a la consulta para ecografía basal e inicio de estimulación ovárica controlada. Se decide realizar un protocolo de estimulación con antagonista. Se inicia estimulación con FSHr (Gonal-F, Merck-Serono) a dosis de 150 UI diarias por 6 días, luego se reduce a 75 UI por 2 días más, asociándose hMGhp (Merapur, Ferring), la cual se inyecta por 4 días consecutivos. Se inicia terapia con cetrotrelix (aGnRH) (Cetrotide, Merck-Serono), 0.25 mg diarios, del octavo al duodécimo día de estimulación. El día onceavo de estimulación se encuentran 12 folículos entre 18 y 22 mm de diámetro medio, por lo que se administra hCGr (Ovidrelle, Merck-Serono) 250 ug. Todos los tratamientos se inyectan subcutáneamente. Se programa para punción folicular el día treceavo de estimulación, procedimiento que es realizado bajo efectos de anestesia general, con abordaje vaginal y guiado por ecografía. Se empleó una aguja de punción calibre 17 (Cook Medical), y aspiración continua.

Se rescatan 16 óvulos, 14 metafase II y 2 metafase I, los cuales son preparados en el laboratorio de fecundación in vitro para someterse a vitrificación. Los óvulos rescatados fueron incubados en medio de fertilización (Sydney IVF Fertilization Medium, Cook Medical) durante dos horas a 37°C, 6% CO₂ y 88 - 90% de humedad relativa. Antes de proceder a vitrificarlos, los óvulos fueron separados de las células de granulosa mediante una degradación enzimática (hialuronidasa, Sydney-IVF). Los óvulos desnudos fueron incubados una hora más bajo las mismas condiciones de temperatura y concentración de CO₂. Tras la incubación, cada óvulo fue evaluado individualmente a 400 aumentos en un microscopio invertido (IX71, Olympus) y se registraron datos sobre el grado de maduración ovocitaria, zona pelúcida, espacio perivitelino, citoplasma, y cuerpo polar, según el protocolo usado en el Instituto Valenciano de Infertilidad - IVI - (Figura 1).

La vitrificación de los óvulos se hizo dentro de una campana de flujo laminar clase II. El procedimiento usado fue el recomendado por el fabricante de los kits de vitrificación (Kitazato Biopharma), según el protocolo establecido por el grupo de Kuwayama y cols.⁽³⁶⁾. Brevemente, los óvulos son sometidos a diferentes soluciones equilibradas, tras lo

cual son sumergidos durante un minuto en la solución de vitrificación y colocados con un volumen mínimo sobre un criotop (Figura 2). El criotop con los óvulos se sumergió inmediatamente en nitrógeno líquido, se cubrió con su funda protectora previamente rotulada y se almacenaron en el banco de óvulos en nitrógeno líquido a una temperatura de -196°C . El número máximo de óvulos almacenado por criotop fue de 4.

La paciente posteriormente es contrarreferida con Hemato-Oncólogo para inicio de tratamiento de poliquimioterapia mediante Doxorubicina 20 mg*M2SC, Bleomicina 10 UI *M2SC, Vinblastina 6 mg*M2SC y Dacarbazina 375 mg*M2SC (ABVD). Actualmente lleva 2 ciclos de quimioterapia, con lo que se ha conseguido respuesta completa. El plan oncológico es completar 3 a 4 ciclos de poliquimioterapia y consolidar con radioterapia a dosis de 30 Gy a campo involucrado.

Discusión

Cuando se analizan los casos de cáncer en adolescentes y adultos jóvenes (15-29 años) en la mayoría de los países avanzados, el 2% de todos los cánceres invasivos ocurren en este grupo. En cuanto a su distribución, el linfoma es el cáncer mayoritario, representando el 20% de todos los casos (linfoma de Hodgkin 12%)⁽⁶⁾.

En la década de 1950 ya se tenían noticias del efecto tóxico de los fármacos quimioterápicos, así como de la irradiación sobre el funcionamiento gonadal⁽⁷⁾. Posteriormente, en las décadas de 1970 y 1980, un gran número de autores recogieron pequeñas series en las que, entre los efectos secundarios de las pautas de tratamiento oncológico, destacaba la pérdida de fertilidad tanto en el hombre como en la mujer⁽⁸⁾.

El interés por cómo resulta afectado el sistema reproductivo tras los tratamientos oncológicos ha cobrado especial interés a medida que se ha incrementado la supervivencia en estas pacientes, además de que han surgido opciones terapéuticas para mantener la fertilidad posterior⁽⁹⁾.

Debido a que en el momento del diagnóstico de una neoplasia las expectativas de supervivencia son altas y comportan -en un porcentaje elevado de los casos- una buena calidad de vida, los aspectos como la fertilidad posterior cobran mayor importancia. Tan es así esta condición, que muchas de las guías oncológicas actuales ya incluyen opciones que tienen como objetivo preservar al máximo la fertilidad, donde el asesoramiento reproductivo y las alternativas para preservar

la fertilidad deben ser expuestas y consideradas⁽¹⁰⁾. De hecho, en el varón que se somete a un tratamiento oncológico, la criopreservación del semen es ya una práctica habitual, pero que en la mujer no se consideraban estas medidas. Esto, en la actualidad, ha cambiado radicalmente, en algunos países son motivo de estudio o consideración y, en otros, una realidad⁽¹¹⁾.

Analizando 7 estudios que describen la condición de las gónadas tras un tratamiento oncológico en pacientes diagnosticadas con Linfoma de Hodgkin (Tabla 1), la incidencia del fallo ovárico esta alrededor del 40%.

La toxicidad del tratamiento antitumoral sobre la reserva folicular, dependerá grandemente de la edad de la paciente. Las mujeres mayores, dada su baja reserva folicular, tendrán una incidencia de fallo ovárico irreversible o de fallo ovárico oculto asociado a subfertilidad y, a la inversa, a menor edad, mayores serán las probabilidades de que el fallo ovárico sea transitorio. Incluso, evaluando varios estudios, se ha concluido que independientemente del tipo de fármaco utilizado o de la enfermedad de base, el efecto de la edad es quizás el factor más importante a considerar en la condición final del funcionamiento ovárico posterior a un tratamiento de quimioterapia^(12, 13, 14, 15, 16).

Estas observaciones son ciertas siempre y cuando la edad cronológica sea concordante con la reproductiva, pues esta correlación se pierde cuando la edad reproductiva está adelantada por una pérdida precoz de la reserva folicular de cualquier otra causa (genética, inmunológica, cirugía ovárica previa, etc.). Por lo tanto, el efecto de la edad esta condicionado por el número de folículos que se encuentran en el ovario en el momento de iniciarse el tratamiento⁽¹⁷⁾.

A pesar de conocer la toxicidad sobre las gónadas que tienen los distintos tratamientos oncológico, la ciclicidad menstrual postquimioterapia, e incluso, la existencia de embarazos posteriores, no implica la ausencia de daño gonadal. En este sentido, Meirou y cols.⁽¹⁸⁾ demostraron que la destrucción de hasta un 50% de la reserva ovárica no se refleja a corto plazo en cambios en el ciclo reproductivo, en cuanto las tasas de ovulación y gestación son normales. Lo mismo demostraron Bath y cols.⁽¹⁹⁾, quienes compararon diferentes marcadores de reserva folicular (niveles de FSH basal, hormona antimülleriana o volumen ovárico) entre un grupo de sobrevivientes de cáncer en la adolescencia con un grupo control, encontrando cómo la reserva ovárico fue inferior en el grupo tratado. Según varios estudios analizados, si se comparara con datos de volúmenes ováricos, en pacientes sometidas a tratamientos oncológicos, la edad de los ovarios sería de aproximadamente 10 años superior a la cronológica⁽²⁰⁾.

Debido a sus características, el ovario es uno de los tejidos más sensibles a los efectos de la radioterapia, siendo el fallo ovárico prematuro su principal consecuencia ⁽²¹⁾. Las radiaciones ionizantes tienen efectos adversos sobre la función gonadal en todas las edades, y sus consecuencias dependerán de diversos factores. Al igual que con la quimioterapia, el daño sobre el ovario tiene un carácter reversible o no, según el grado del daño (completo o parcial), pero a largo plazo, la consecuencia siempre será un fallo ovárico prematuro ^(21, 22, 23, 24).

La posibilidad de daño gonadal con radioterapia aumenta con la edad, necesiéndose incluso menor radiación para tal efecto. Así pues, la dosis efectiva esterilizante disminuye conforme aumenta la edad, siendo de 20.3 Gy en el nacimiento, 18.4 Gy a los 10 años, 16.5 Gy a los 20 años y 14.3 Gy a los 30 años ⁽²⁴⁾. También se ha descrito que las dosis de radiación hacia la pelvis tienen mayores consecuencias, a excepción de la dosis corporal total, y que las radiaciones fraccionadas afectan menos que las dosis únicas. Por otro lado, no debemos olvidar que generalmente las terapias de radio y quimioterapia suelen darse en combinación, por lo que juntas, presentan un daño gonadal aún más marcado ^(11, 21, 22).

Las estrategias para poder conservar la función ovárica en la radioterapia serían limitar la radiación sobre la zona ovárica ^(11, 21, 23), transposición ovárica fuera del campo de irradiación mediante ooforopexia (técnica con resultados variables del 16 al 90%) ^(11, 25, 26) o autotrasplante a algún lugar fuera del campo de irradiación.

Se han evaluado distintas técnicas para preservar la fertilidad en este tipo de pacientes, en el varón se viene criopreservando el semen desde hace ya muchas décadas, de hecho, es una práctica habitual, con resultados muy buenos. En las mujeres se han descrito técnicas como la administración de tratamiento médico con análogos de la hormona liberadora de gonadotropinas (aGnRH), resección de tejido ovárico con criopreservación del mismo, para luego hacer maduración in vitro, autotrasplante o xenotrasplante, y la criopreservación de óvulos o embriones. Estas dos últimas opciones se han presentado como las mejores alternativas hasta el momento en mujeres jóvenes, gracias a la innovadora técnica de la vitrificación.

Hasta hace una década, era normal que los centros de infertilidad contaran con bancos de semen y embriones, sin embargo no se podía realizar esto con óvulos, pues no se tenían adecuados resultados con las técnicas existentes. La opción era la congelación lenta, con resultados muy variables de un centro a otro, dependiendo del protocolo

que se empleaba. Las tasas de sobrevivencia de los ovocitos no superaba el 50%, con tasas de gestación del 12% y 25% de tasa de aborto ⁽²⁷⁾. Hubo cambios en los protocolos empleados, pero con avances mínimos en los resultados, lo que hacía pensar en un bajo potencial de la congelación de los óvulos, pues se tenían tasas de implantación de 6-7 veces menores a las alcanzadas con ovocitos frescos ⁽²⁸⁻³⁰⁾.

El avance más reciente que ha permitido que esto sea viable es la vitrificación. La elevada concentración de crioprotectores, unida a altísimas velocidades de congelación, elimina la formación de hielo intracelular y, el pequeño volumen en el que se vitrifican los ovocitos, les permite conseguir una tasa de supervivencia superior al 90%, y una tasa de embarazo similar a la conseguida con ovocitos en fresco.

La vitrificación se produce cuando una solución altamente concentrada se somete a bajas temperaturas. Así, la viscosidad de esta solución aumenta de tal manera que cuando se solidifica no cristaliza, formándose una estructura con características físicas similares al vidrio, de ahí el nombre de la técnica ⁽³¹⁾.

Para poder disminuir los efectos osmóticos y tóxicos de la técnica, se deben de cuidar dos situaciones, la primera es el empleo de las soluciones crioprotectoras que, en proporciones adecuadas de sus mezclas, faciliten la deshidratación del ovocito para así disminuir la formación de hielo tanto intra como extracelular. Las sustancias sugeridas que parecen ser las más apropiadas son los azúcares como sacarosa o trehalosa ⁽³²⁾. La otra situación es aplicar una velocidad extremadamente alta en el enfriamiento. Esto se logra con la inmersión directa en nitrógeno líquido, con la utilización de volúmenes muy pequeños de la solución que ha de vitrificarse ⁽³³⁾. Esta velocidad disminuye el estrés osmótico que causa la alta concentración del crioprotector, evitando además el paso de +15 a -5 °C, momento en el que se presenta el fenómeno "Chilling injury" (se afectan lípidos de membrana y microtúbulos del huso meiótico, ocasionando endurecimiento de la zona pelúcida, lo cual está directamente relacionado con la viabilidad postdescongelación de los ovocitos ⁽³⁴⁾). Con esta técnica se pasa de 25 °C a -196 °C a una velocidad de entre 15,000 a 30,000 °C/min. La desvitrificación en estas mismas condiciones lleva a los óvulos de -196 a 25 °C a una velocidad de 26,520 °C/min ⁽³⁵⁾.

El sistema de soporte también es importante, pues al permitir mínimas capacidades disminuye el volumen de la muestra a vitrificar, obteniéndose efectos benéficos adicionales. Se ha demostrado que el CryoTop es el medio de soporte para almacenamiento más eficiente en cuanto a supervivencia, desarrollo embrionario y resultados clínicos ⁽³⁶⁾.

Utilizando la técnica perfeccionada por el grupo de Kuwayama, se han obtenido los mejores resultados hasta el momento, donde ellos reportan tasas de sobrevida del 91%, fecundación del 81%, formación de blastocistos del 50% y de embarazo del 41%⁽³⁷⁾. Con estos resultados, Kuwayama conjuntamente con Cobo del Instituto Valenciano de Infertilidad, realizaron un estudio donde compararon el desarrollo embrionario obtenido de ovocitos frescos y vitrificados en un programa de donación ovocitaria⁽⁵⁾.

La tasa de supervivencia fueron del 97%. Las tasas de fecundación (76.3%), división celular (77.6 frente a 84.6%), calidad embrionaria (80.8 frente a 80.5%) y desarrollo a blastocisto (48.7 frente a 47.4%) fueron similares en ovocitos vitrificados y frescos respectivamente. Las tasas de gestación (65.2%) e implantación (40.8%) obtenidas en ovocitos vitrificados fueron similares a las obtenidas en el programa de donación ovocitaria en fresco.

Estos datos llevaron al Instituto Valenciano de Infertilidad a establecer un banco de óvulos de donante, con la intención de eliminar la lista de espera de las pacientes, además de que tampoco es necesaria la sincronización donante-receptora. De esta manera, este grupo ha publicado 90 casos de donación de óvulos vitrificados, con tasas de sobrevida del 94.9%, con tasas de fecundación, gestación e implantación del 72.4, 62.5 y 39.1 % respectivamente⁽³⁸⁾.

Estos resultados demuestran la reproducibilidad del método, enfatizando que el potencial de los óvulos vitrificados por éste método no se ve alterado tras la vitrificación. Esta condición permite llevar este mismo método a la práctica habitual de la preservación de la fertilidad en mujeres afectadas por cáncer que aún no tienen pareja o que, estando sanas, desean postergar su fertilidad a edades más avanzadas⁽³⁹⁾.

Conclusión:

A pesar de ser un país tercer mundista, en Guatemala contamos hoy por hoy con todo el arsenal de tratamiento oncológico oportuno que le permita a las pacientes tener altas tasas de sobrevida tras su tratamiento. No estamos lejos de las estadísticas mundiales, donde se presentan cánceres a edades más tempranas, por lo que muchas de estas pacientes tendrán una aceptable calidad de vida posterior a su tratamiento, encontrándose en edad fértil adecuada. Es por ello que debemos de considerar que en toda estas pacientes hay que dar un adecuado consejo para su fertilidad futura, protocolizando esta conducta en la evaluación previa al tratamiento oncológico.

Referencias

1. Bath LE, Wallace WH, Critchley HO. Late effects of the treatment of childhood cancer on the female reproductive system and the potential for fertility preservation. *Br J Obstet Gynaecol*, 2002; 109:107-14.
2. Alarcón CS, Valladares E, Callejo J. Epidemiología de la paciente oncológica en edad prepuberal y fértil. En *Preservación de la fertilidad en paciente oncológica*. Justo Callejo Olmos. Editorial Glosa, 2009, capítulo 1, 13-28.
3. Ruvalcaba L, Martínez R, Cuneo S, Chanona J, Beltrán M, Bermúdez A. Improving donor programs with an oocyte bank using vitrification. *Fertil Steril*, 2005; 84 (suppl 1):S70.
4. Antinori S, Licata E, Dani G, Cerusico F, Versaci C, Antinori S. Cryotop vitrification of human oocytes results in high survival rate and healthy deliveries. *Reprod Biomed Online*. 2007; 14:72-9.
5. Cobo A, Kuwayama M, Pérez S, Ruíz A, Pellicer A, Remohí J. Comparison of concomitant outcome achieve with fresh and cryopreserved donor oocytes vitrified by the cryotop method. *Fertil Steril*, 2008; 89(6):1657-64.
6. Hayat MJ, Howlader N, Reichman ME, Edwards BK. Cancer statistics, trends and multiple primary cancer analyses from the Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER) Program. *Oncologist*. 2007; 12(1):20-37.
7. Louis J, Limarzi LR, Best WR. Treatment of chronic granulocytic leukaemia with myleran. *Arch Intern Med*. 1956; 15:239.
8. Schilsky RL, Lewis BJ, Sherins RJ, Young RC. Gonadal dysfunction in patients receiving chemotherapy for cancer. *Ann Intern Med*. 1980; 93:109-14.
9. Davis VJ. Female gamete preservation. *Cancer*. 2006; 107(suppl):1690-4.
10. Maltaris T, Seufert R, Fischl F, Schaffrath M, Pollow K, Koelbl H, et al. The effect of cancer treatment on female fertility and strategies for preserving fertility. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2007; 130:148-55.
11. Meior D, Nugent D. The effects of radiotherapy and Chemotherapy on female reproduction. *Human Reprod Update*. 2001; 7:535-43.
12. Behringer K, Breuer K, Reineke T, May M, Nogova L, Klimm B, et al. German Hodgkin's Lymphoma Study group. Secondary amenorrhea after Hodgkin's lymphoma is influenced by age at treatment, stage of disease, chemotherapy regimen, and the use of oral contraceptives during therapy. *J Clin Oncol*. 2005; 23:7555-64.
13. Schilsky RL, Sherins RJ, Hubbard SM, Wesley MN, Young RC, DeVita VT. Long-term follow up of ovarian function in women treated with MOPP chemotherapy for Hodgkin's disease. *Am J Med*. 1981; 71:552-6.
14. Hortobagyi GN, Buzdar AU, Marcus CE, Smith TL. Immediate and long-term toxicity of adjuvant chemotherapy regimens containing doxorubicin in trials at M.D. Anderson Hospital and Tumor Institute. *NCI Monogr*. 1986; 1:105-9.

15. 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.
16. Tham YL, Sexton K, Weiss H, Elledge R, Friedman LC, Kramer R. The rates of chemotherapy-induced amenorrhea in patients treated with adjuvant doxorubicin and cyclophosphamide followed by a taxane. *Ann J Clin Oncol*. 2007; 30:126-32.
17. Oktay K, Oktem O. Measuring the impact of chemotherapy on fertility in women with breast cancer. *J Clin Oncol*. 2006; 24:4044-6.
18. Meirow D, Lewis H, Nugent D, Epstein M. Subclinical depletion of primordial follicular reserve in mice treated with cyclophosphamide: clinical importance and propose investigative tool. *Human Reprod*. 1999; 14:1903-7.
19. Bath LE, Wallace WH, Shaw MP, Fitzpatrick C, Anderson RA. Depletion of ovarian reserve in young women after treatment for cancer in childhood. *Human Reprod*. 2003; 18:2368-74.
20. Espinós JJ, Monera M. Quimioterapia y gonadotoxicidad femenina. En *Preservación de la fertilidad en paciente oncológica*. Justo Callejo Olmos. Editorial Glosa, 2009, capítulo 2, 29-42.
21. Chematitilly W, Mertens AC, Mitby P, Whitton J, Stovall M, Yasui Y, et al. Acute ovarian failure in the childhood cancer survivor study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006; 91(5):1725-8.
22. Blatt J. Pregnancy outcomes in long-term survivors of childhood cancer. *Med Pediatr Oncol*. 1999; 33(1):2933.
23. Hawkins MM. Pregnancy outcomes in childhood cancers survivor: probable effects of abdominal irradiation. *Int J Cancer*. 1989; 43(3): 399-402.
24. Wallace WH, Thomson AB, Saran F, Kelsey TW. Predicting age of ovarian failure after radiation to a field that includes the ovaries. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2005; 62(3):738-44.
25. Hunter MC, Glees JP, Gazet JC. Oophoropexy and ovarian function in the treatment of Hodgkin's disease. *Clin Radiol*. 1980; 31(1):21-6.
26. Chambers SK, Chambers JT, Holm C, Preschel RE, Schwartz PE. Sequelae of lateral ovarian transposition in unirradiated cervical cancer patients. *Gynecol Oncol*. 1990; 39(2):155-9.
27. Borini A, Lagalla C, Bonu MA, Vianchi V, Flamigni C, Coticchio G. Cumulative pregnancy rates resulting from the use of fresh and frozen oocytes: 7 years experience. *Reprod Biomed Online*. 2006; 12:481-6.
28. Boldt J, Tidswell N, Sayers A, Kilani R, Cline D. Human oocyte cryopreservation: 5 years experience with a sodium-depleted slow freezing method. *Reprod Biomed Online*. 2006; 13:96-100.
29. Levi PE, Albani E, Novara PV, Cesana A, Morreale G. Cryopreservation of supernumerary oocytes in IVF/ICSI cycles. *Hum Reprod*. 2006; 21:370-5.
30. La Sala GB, Nicoli A, Villani MY, Pescarini M, Gallinelli A, Blikstein I. Outcome of 518 salvage oocyte-cryopreservation cycles performed as a routine procedure in an in vitro fertilization program. *Fertil Steril*. 2006; 86:1423-7.
31. Rall WF, Fagy GM. Ice-free cryopreservation of mouse embryos at -196°C by vitrification. *Nature*. 1985; 313:573-5.
32. Vajta G, Kuwayama M. Improving cryopreservation systems. *Theriogenology*. 2006; 65:236-44.
33. Kuwayama M, Vajta G, Kato O, Leibo SP. Highly efficient vitrification method for cryopreservation of human oocytes. *Reprod Biomed Online*. 2005; 11:300-8.
34. Ghetler Y, Yavin S, Shalgi R, Arav A. The effect of chilling on membrane lipid phase transition in human oocytes and zygotes. *Hum Reprod*. 2005; 20:3385-9.
35. Liebermann J, Nawroth F, Isachenko V, Isachenko E, Ragimi G, Tucker MJ. Potential importance of vitrification in reproductive medicine. *Biol Reprod*. 2002; 67:1671-80.
36. Kuwayama M, Vajta G, Ieda S, Kato O. Comparison open and closed methods for vitrification of human embryos and the elimination of potential contamination. *Reprod Biomed Online*. 2005; 11:608-14.
37. Kuwayama M, Ieda S, Zhang J, Kato O. The CryoTip method; aseptic vitrification of oocytes and embryos. *Fertil Steril*. 2005; 84(Suppl 1):S187.
38. Cobo A, Herrero L, García-Velasco J. Criopreservación de ovocitos. En *Preservación de la fertilidad en paciente oncológica*. Justo Callejo Olmos. Editorial Glosa, 2009, capítulo 5, 89-111.
39. Cobo A, Domingo J, Pérez S, Crespo J, Remohí J, Pellicer A. Vitrification: An effective new approach to oocyte banking and preserving fertility in cancer patients. *Clin Transl Oncol*. 2008 May; 10(5):268-73.

Figura 1. Óvulo humano tras la separación enzimática de las células de la granulosa



Figura 2. Sistema de criotop usado para la vitrificación de los óvulos.

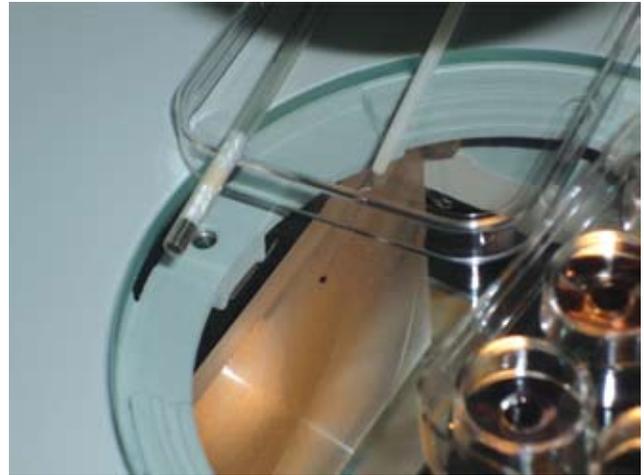


Tabla 1. Incidencia de amenorrea tras tratamientos de quimioterapia.

Autor	Tratamiento	Amenorrea (%)
Schilsky, 1981	MOPP	46
Cunningham, 1982	MOPP	9
Whitehead, 1983	MVPP	38.4
Lacher, 1986	TVPP	6
Hudson, 1993	COP	16
Kreuser, 1996	COPP/ABVD	77
Thibaud, 1998	NA	74.2
	Total	38.09

MOPP: mecloretamina, vincristina, procarbacin, prednisona.
 MVPP: mecloretamina, vinblastina, procarbacin, prednisona.
 TVPP: tiotepa, vinblastina, vincristina, procarbacin, prednisona.
 COP: pirarubicina, ciclofosfamida, vincristina, prednisolona.
 ABVD: Adriamicina, Bleomicina, Vinblastina y Dacarbacin