



UNIVERSITAT  
POLITÈCNICA  
DE VALÈNCIA



Escuela Técnica Superior  
de Ingeniería Agronómica  
y del Medio Natural

## **UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA**

ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE INGENIERÍA AGRONÓMICA Y DEL MEDIO  
NATURAL

# **“PAPEL DE LAS UNIDADES DE REPRODUCCIÓN HUMANA EN LA PRESERVACIÓN DE LA FERTILIDAD EN CÁNCER DE MAMA Y OVARIO”**

## **TRABAJO FINAL DE GRADO BIOTECNOLOGÍA**

**CURSO 2020-2021**

**Alumno:**  
Nuria Bernat Pedro

**Tutor de proyecto:**  
José Salvador Vicente  
Antón

**Directora del proyecto:**  
María Inmaculada  
Molina Botella

Valencia, junio de 2021

# **PAPEL DE LAS UNIDADES DE REPRODUCCIÓN HUMANA EN LA PRESERVACIÓN DE LA FERTILIDAD EN CÁNCER DE MAMA Y OVARIO**

## **Resumen**

El cáncer de mama es el tipo de cáncer más frecuente en mujeres en todo el mundo y una de las principales causas de muerte por cáncer en los países desarrollados. Muchos de los tratamientos oncológicos existentes en la actualidad producen efectos en la función normal del ovario por lo que las pacientes más afectadas serán aquellas que se encuentren en edad reproductiva. Dado que un número cada vez mayor de mujeres jóvenes retrasan la maternidad hasta la edad adulta por diversas razones, existe una creciente población que sufrirá cánceres ginecológicos antes de completar su proceso reproductivo. En este contexto, la preservación de la fertilidad se ha convertido en un concepto esencial en la atención moderna del cáncer que involucra tanto a los especialistas en oncología como a las unidades de reproducción asistida. Los avances en los últimos 20 años de las técnicas de preservación de la fertilidad y la utilización de las técnicas de reproducción asistida (TRA) junto a nuevas metodologías, han permitido el desarrollo de una nueva disciplina denominada oncofertilidad, con la finalidad de desarrollar nuevas opciones para las pacientes afectadas. En este trabajo se considerarán las distintas pautas de preservación de la fertilidad en pacientes con cáncer como la criopreservación de ovocitos y embriones como práctica estándar, la elevada controversia en torno a la utilización de los análogos del GnRH cuya utilidad no ha sido todavía totalmente esclarecida así como la criopreservación del tejido ovárico, que todavía está considerada como experimental, pero se reconoce que puede restaurar la función ovárica global y podría ser útil en pacientes muy concretas. También se discutirán las guías de buena práctica desarrolladas por las sociedades científicas sobre el asesoramiento tanto sobre el tipo de cáncer como la técnica de preservación de la fertilidad más adecuada en cada caso. Finalmente se considerarán también las técnicas emergentes como la activación de folículos ováricos, el cultivo de folículos *in vitro* o la utilización de ovarios artificiales que podrían surgir como nuevas alternativas de futuro.

**Palabras clave:** Infertilidad, preservación, técnicas reproducción asistida, cáncer de mama y ovario, gen BCRA1/2.

**Autora:** Nuria Bernat Pedro

**Directora del proyecto:** María Inmaculada Molina Botella

**Tutor:** José Salvador Vicente Antón

Valencia, 11 de junio de 2021

# ROLE OF HUMAN REPRODUCTIVE UNITS IN THE PRESERVATION OF FERTILITY IN BREAST AND OVARIAN CANCER

## **Abstract:**

Breast cancer is the most common type of cancer in women worldwide and one of the leading causes of cancer death in developed countries. Many of today's oncological treatments influence the normal function of the ovary, so the most affected patients will be those who are in reproductive age. As an increasing number of young women delay childbearing until adulthood for various reasons, there is a growing population that will suffer from gynaecological cancers before completing their reproductive process. In this context, fertility preservation has become an essential concept in modern cancer care involving both oncology specialists and assisted reproductive units. Advances in the last 20 years in fertility preservation techniques and the use of assisted reproductive techniques (ART) together with new methodologies, have allowed the development of a new discipline called oncofertility, with the aim of developing new options for affected patients. This paper will consider the different fertility preservation guidelines in cancer patients, such as cryopreservation of oocytes and embryos as standard practice, the high controversy surrounding the use of GnRH analogues whose usefulness has not yet been fully clarified as well as cryopreservation of ovarian tissue, which is still considered experimental, but it is recognized that it can restore global ovarian function and could be useful in very specific patients. Good practice guides developed by scientific societies on counselling both on the type of cancer and the most appropriate fertility preservation technique in each case will also be discussed. Finally, emerging techniques such as ovarian follicle activation, *in vitro* follicle culture or the use of artificial ovaries that could emerge as new alternatives for the future will also be considered.

**Keywords:** Infertility, preservation, assisted reproduction techniques, breast and ovarian cancer, BRCA1 / 2 gene

**Author:** Nuria Bernat Pedro

**Supervisor:** María Inmaculada Molina Botella

**Academic Tutor:** José Salvador Vicente Antón

Valencia, 11 June 2021

## **AGRADECIMIENTOS**

*A mis dos tutores, especialmente a Inma, gracias por haberme guiado en este proyecto y dedicado tanto esfuerzo y paciencia.*

*A Javi, por haberme apoyado a lo largo del trabajo y en todas sus complicaciones.*

# ÍNDICE

<b>I. INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>1.1 IMPACTO DE LAS TÉCNICAS DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA EN MUJERES CON CÁNCER</b> <b>1</b>	
<b>1.2 IMPACTO DEL ASESORAMIENTO ONCOLÓGICO Y REPRODUCTIVO DE LAS PACIENTES</b> <b>SOBRE LA DECISIÓN DE PRESERVACIÓN DE LA FERTILIDAD.</b> .....	4
<b>II. OBJETIVO</b> .....	7
<b>III. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	7
<b>IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	8
<b>1. IMPACTO DEL TRATAMIENTO DEL CÁNCER EN LA RESERVA OVÁRICA</b> .....	8
1.1. QUIMIOTERAPIA .....	11
1.2. RADIOTERAPIA.....	13
1.3. TERAPIA HORMONAL.....	13
1.4. RESERVA OVÁRICA EN MUJERES CON MUTACIONES BRCA. CONTROVERSIA.....	15
<b>2. OPCIONES ACTUALES DE PRESERVACIÓN DE FERTILIDAD. PAPEL DE LAS UNIDADES DE</b> <b>REPRODUCCIÓN ASISTIDA</b> .....	16
2.1 ESTRATEGIAS DE PRESERVACION DE LA FERTILIDAD EN PACIENTES ONCOLÓGICAS. VENTAJAS Y DESVENTAJAS.....	17
2.1.1 VITRIFICACIÓN DE EMBRIONES HUMANOS .....	17
2.1.2 VITRIFICACIÓN DE OVOCITOS MADUROS .....	21
2.1.3 OVODONACIÓN.....	22
2.1.4 VITRIFICACIÓN DE OVOCITOS INMADUROS.....	23
2.1.5 CONGELACIÓN Y TRASPLANTE DE CORTEZA OVÁRICA .....	25
2.2 OPCIONES DE FUTURO: TÉCNICAS EMERGENTES.....	27
2.2.1 ACTIVACIÓN DE FOLÍCULOS OVÁRICOS .....	27
2.2.2 CULTIVO DE FOLÍCULOS <i>IN VITRO</i> .....	28
2.2.3 OVARIOS ARTIFICIALES .....	29
<b>V. CONCLUSIÓN</b> .....	30
<b>VI. BIBLIOGRAFÍA</b> .....	31
<b>VII. ANEXO</b> .....	37

## ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS

**Figura 1.** Número estimado de casos en todo el mundo de mujeres diagnosticadas con cánceres entre la edad temprana y la edad avanzada, destaca el cáncer de mama en mayor incidencia y mortalidad (WHO. 2020).

**Figura 2.** Tipos de neoplasias más frecuentes en el marco de la preservación de la fertilidad.

**Figura 3.** Descripción esquemática de las opciones para la preservación de la fertilidad femenina (PF).

**Figura 4.** Referencia y manejo de la paciente en riesgo de infertilidad inducida por distintos tratamientos médicos.

**Figura 5.** Disminución de folículos primordiales con la edad en la mujer e impacto del tratamiento gonadotóxico en la reserva ovárica.

**Figura 6.** Representación simplificada de la regulación de las oleadas foliculares ováricas en condiciones fisiológicas naturales.

**Figura 7.** Representación simplificada de la regulación de las oleadas foliculares ováricas en condiciones de tratamiento antineoplásico.

**Figura 8.** Impacto de la quimioterapia gonadotóxica y el análogo de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRHa) en la reserva y función ováricas.

**Figura 9.** Administración de GnRHa asociado con quimioterapia: efectos directos e indirectos.

**Figura 10.** Opciones para preservación de la fertilidad en mujeres en riesgo de pérdida de la función reproductiva.

**Figura 11.** Esquema del procedimiento de la técnica FIV-ICSI.

**Figura 12.** Diagnóstico de la fecundación y desarrollo embrionario posterior hasta día 5-6 de cultivo embrionario.

**Figura 13.** Esquema del proceso de vitrificación de ovocitos.

**Figura 14.** Maduración *in vitro*, fertilización y división de ovocitos humanos en estadio P1 o vesícula germinal.

**Figura 15.** Comparación del porcentaje de éxito de la tasa de gestación por transferencia entre la técnica convencional FIV-ICSI y la técnica de Maduración *in vitro* (IVM) según la Sociedad Española de Fertilidad (SEF) en el año 2018.

**Figura 16.** Esquema histológico de la corteza ovárica, presencia de folículos primordiales y primarios.

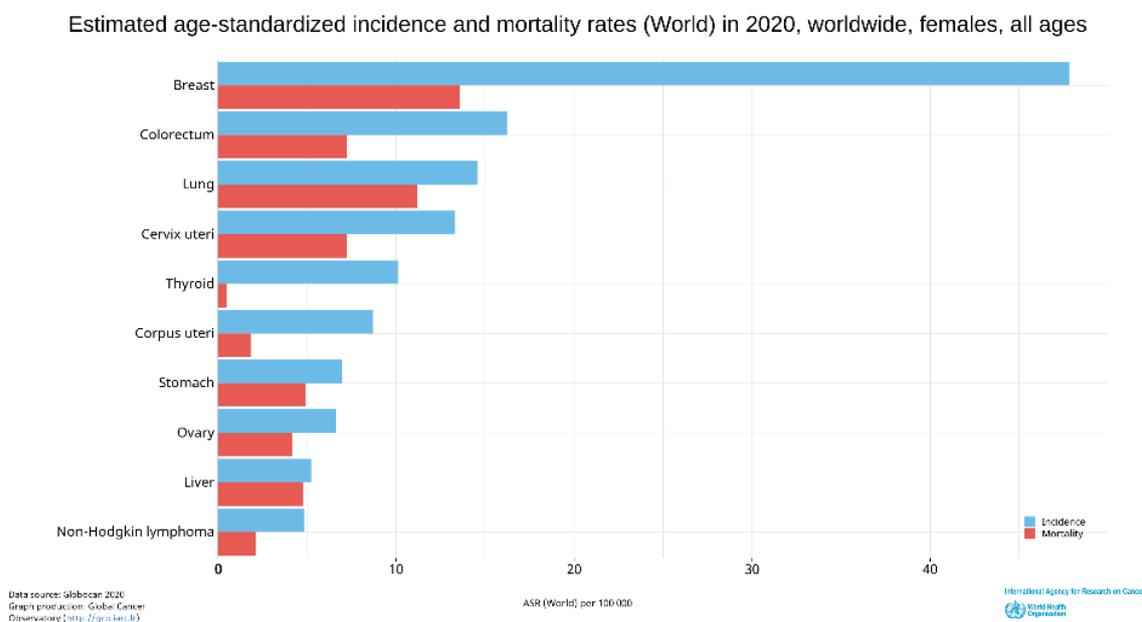
**Figura 17.** Ovario bovino completo descelularizado en SDS al 0,1% durante 28 días.

**Tabla 1.** Tabla comparativa de las opciones de preservación de la fertilidad en pacientes con cáncer de mama y ovario.

# I. INTRODUCCIÓN

## 1.1 IMPACTO DE LAS TÉCNICAS DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA EN MUJERES CON CÁNCER

El cáncer de mama es el cáncer diagnosticado con más frecuencia en las mujeres y representa más de 1 de cada 10 nuevos diagnósticos de cáncer cada año siendo la segunda causa más común de muerte por cáncer entre las mujeres en el mundo (Alkabban y Ferguson, 2020). Según el informe más reciente de la World Health Organization (WHO) el cáncer de mama es el que manifiesta una mayor incidencia y mortalidad, seguido por el cáncer colorrectal y de pulmón. Mientras que el cáncer de ovario presenta las menores tasas de incidencia y mortalidad dentro de los cánceres femeninos. En la siguiente figura se refleja el número de casos estimados en todo el mundo de mujeres diagnosticadas con cáncer en edad temprana y en edad avanzada.



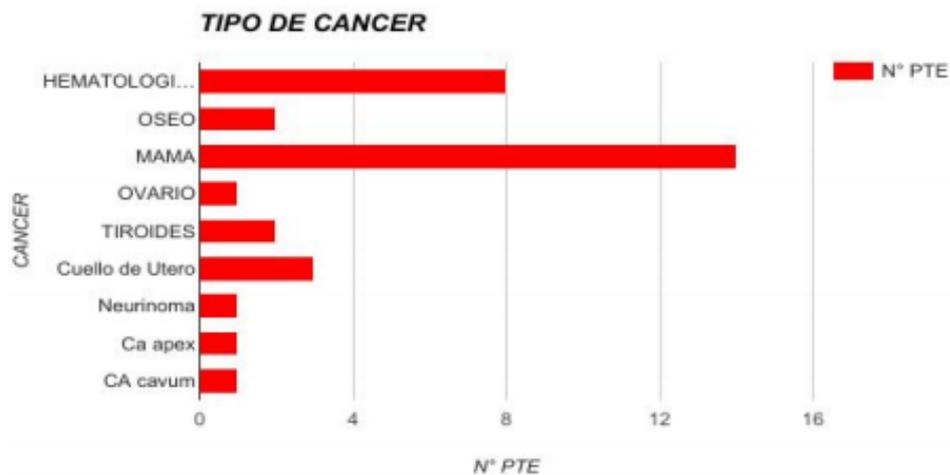
**Figura 1.** Número estimado de casos en todo el mundo de mujeres diagnosticadas con cánceres entre la edad temprana y la edad avanzada, destaca el cáncer de mama en mayor incidencia y mortalidad (International Agency for Research on Cancer. WHO. 2020)

En el marco de la Asociación Española contra el Cáncer (AECC) según el Observatorio del Cáncer AECC, en España se diagnosticaron 33.307 nuevos casos en 2019; lo que representa algo más del 30% de todos los tumores del sexo femenino en nuestro país, afectando fundamentalmente a mujeres entre los 45-65 años (AECC, 2019). Datos más recientes de la Sociedad de Oncología Médica (SEOM, 2021) muestran que la estimación de nuevos casos diagnosticados en mujeres este año será de 33375. En cuanto a los estudios demográficos realizados 5 años después del diagnóstico la tasa de supervivencia global estimada para este tipo de cáncer es del 82,8%.

Cada vez un mayor número de mujeres jóvenes retrasan la maternidad hasta la edad adulta por diversas razones, de manera que existe una creciente población de mujeres que sufrirán estos cánceres ginecológicos antes de completar su proceso reproductivo. En este contexto, la preservación de la fertilidad se ha convertido en un concepto esencial en la atención moderna

del cáncer que involucra tanto a los especialistas en oncología como a las unidades de reproducción asistida.

Jemal en 2008 realizó un estudio evaluando los tipos de cánceres más recurrentes en los que las mujeres recurrían a la preservación de la fertilidad (PF). Como se muestra en la Figura 2, los cánceres hematológicos y los cánceres de mama fueron las patologías en las que las mujeres presentaron las mayores probabilidades de recurrir a este tipo de técnicas.



**Figura 2.** Tipos de neoplasias más frecuentes en el marco de la preservación de fertilidad (Jemal, 2008)

En los últimos 20 años, las técnicas de preservación de la fertilidad han experimentado un gran avance gracias al desarrollo y el empleo de las técnicas de reproducción asistida (TRA) así como nuevas metodologías para la preservación de gametos, embriones y tejido ovárico. Todo ello ha permitido el desarrollo de una nueva disciplina denominada oncofertilidad donde la oncología y las TRA se unen para desarrollar nuevas opciones de preservación de la fertilidad. El rápido desarrollo en la práctica clínica cuenta con datos limitados sobre los resultados, lo cual ha llevado a la necesidad de evaluar la evidencia y el desarrollo de pautas para ayudar a los profesionales en una implementación más segura y efectiva (ESHRE 2020).

Esta revisión trata de focalizar el factor de preservación de la fertilidad en las mujeres oncológicas, especialmente las que sufren cáncer de mama y ovario, algunos de ellos relacionados con mutaciones del gen BRCA1/2 que más adelante se tratará con profundidad. Existen diferentes enfoques en cuanto a las opciones actuales según el tipo de cáncer y el tiempo disponible para iniciar el tratamiento. Los procedimientos que se plantean son la criopreservación de ovocitos, embriones o tejido ovárico e incluso métodos de protección potencialmente médicos y quirúrgicos.

En cuanto a la criopreservación de ovocitos y embriones mediante las técnicas de vitrificación, se considera una práctica estándar cuya utilidad ha sido probada para las mujeres que recurren a la PF por causas médicas. En relación a la criopreservación del tejido ovárico (COT) debe considerarse como una opción importante que presenta resultados prometedores, aunque en el momento actual esté considerada como técnica experimental. Además, es la única opción disponible cuando la hiperestimulación ovárica controlada (HOC) está contraindicada o en el

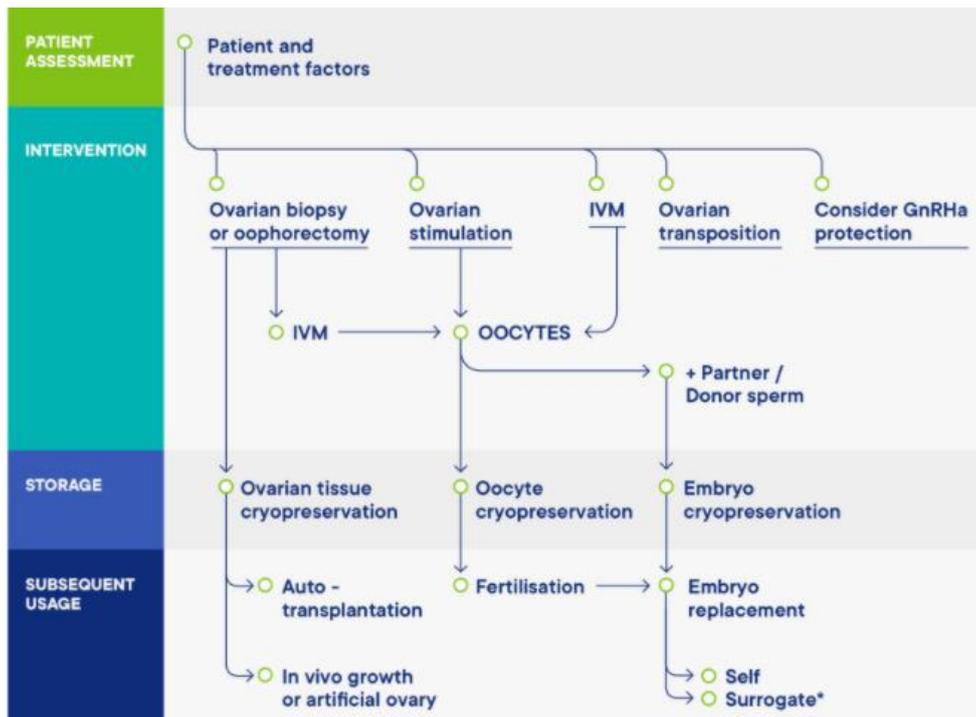
caso de que el tratamiento oncológico se tenga que aplicar de forma urgente y también en el caso de pacientes que no han alcanzado la pubertad (ESHRE 2020). Otra de las técnicas experimentales que también está presentando resultados alentadores es la Maduración ovocitaria *In vitro* (MIV).

Anderson *et al* (2015) establecieron distintas estrategias para la preservación de la fertilidad tanto en mujeres jóvenes como en niñas prepuberales. El asesoramiento de la paciente y los diferentes factores que definen su condición reproductiva derivan en la decisión y aplicación de las diversas estrategias de PF. Por un lado, la biopsia ovárica con o sin ooforectomía puede contemplarse como una opción de criopreservación a nivel de tejido ovárico, que aunque todavía está en fase experimental, podría resultar muy útil en pacientes concretas, en las que se podría realizar un autotrasplante tras la recuperación completa de la paciente. O la futura posibilidad de poder aplicar técnicas más novedosas como el crecimiento *in vivo* de un ovario artificial. Además, al procesar la corteza ovárica para su posterior criopreservación se recuperan ovocitos inmaduros que podrían madurarse *in vitro* para la ser utilizados en técnicas de reproducción asistida.

Aquellas mujeres que pueden someterse a una estimulación ovárica controlada podrán recurrir a la criopreservación de ovocitos maduros y su posterior fecundación. Sin embargo, en aquellas mujeres en las que la estimulación ovárica este contraindicada, tendrán la posibilidad de recurrir a la obtención de los ovocitos inmaduros de ovarios no estimulados y su posterior criopreservación antes o después de la maduración *in vitro* correspondiente.

Una vez superada la enfermedad, las pacientes dispondrán de ovocitos maduros vitrificados y/o ovocitos inmaduros que tras la maduración *in vitro* correspondiente podrán ser fecundados con semen de la pareja o con semen de donante y estos embriones podrán ser criopreservados para su futura utilización o bien transferidos al útero de la mujer. En casos excepcionales, estas mujeres pueden necesitar recurrir también a la maternidad subrogada que todavía no está legalizada en nuestro país.

Además de todas estas técnicas de preservación de la fertilidad descritas en el apartado anterior, Anderson *et al* (2015) consideran también la posibilidad de utilizar la transposición quirúrgica del ovario en el caso de radioterapia, así como de la protección ovárica mediante la utilización de análogo de GnRh como métodos de PF en casos concretos.



**Figura 3.** Descripción esquemática de las opciones para la preservación de la fertilidad femenina (PF). Adaptado de ( Anderson et al.,2015 ).

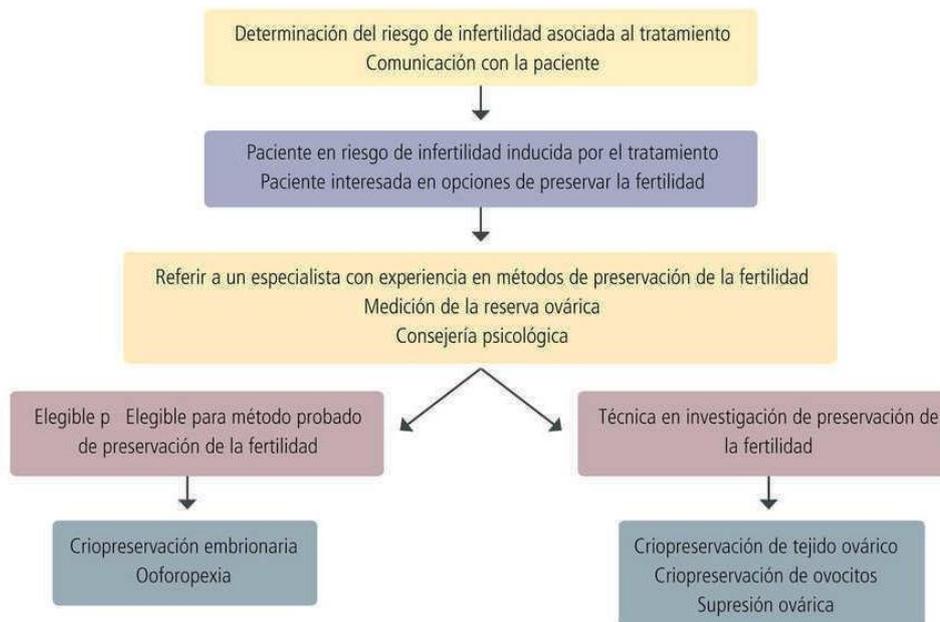
## 1.2 IMPACTO DEL ASESORAMIENTO ONCOLÓGICO Y REPRODUCTIVO DE LAS PACIENTES SOBRE LA DECISIÓN DE PRESERVACIÓN DE LA FERTILIDAD.

Los nuevos tratamientos oncológicos, así como el diagnóstico precoz, han permitido que cada vez más mujeres jóvenes sobrevivan a este tipo de cánceres y junto a las mejoras de las TRA y la decisión de postergar la maternidad, la preservación de la fertilidad se ha convertido en un aspecto clave.

Sin embargo, aunque se ha observado un incremento en la preservación de la fertilidad en estas pacientes, aún se estima que menos del 10% de las supervivientes de cáncer de mama van a conseguir un embarazo, lo cual podría ser debido a la falta de información o a la falta de un asesoramiento oncológico y reproductivo adecuado. Además, hay que destacar que, de aquellas mujeres remitidas a las unidades de fertilidad, solo un 12% optan por someterse a estas técnicas (GEICAM 2021). Todo ello evidencia la importancia del asesoramiento oncológico y reproductivo para que estas pacientes puedan recurrir a preservar su fertilidad antes de ser sometidas a los tratamientos oncológicos que pueden derivar en una pérdida irreversible de la función ovárica. Por ello el carácter multidisciplinar de los equipos de oncofertilidad es imprescindible para dar un cuidado médico adecuado a estas pacientes.

Para un asesoramiento correcto, el riesgo de infertilidad de la paciente deberá ser analizado por las unidades oncológicas, ya sea por causa de la propia enfermedad o la aplicación de los tratamientos quimioterapéuticos. Como se muestra la figura 4, Camus (2010) establece un diagrama de flujo de cómo se debe referir y manejar a las pacientes en estas circunstancias.

De esta manera, si la paciente opta por la PF podrá recurrir a las unidades de reproducción asistida, donde el especialista analizará la reserva ovárica del momento, aconsejando y proporcionando información sobre las diferentes técnicas, así como un análisis del impacto psicológico de la paciente. Una vez establecidas las condiciones y características de la enfermedad, se optará por la técnica de PF más adecuada. En el caso de pacientes que tengan mayor probabilidad de sufrir una pérdida total de la fertilidad por el tratamiento oncológico y puedan someterse a la hiperestimulación ovárica controlada (HOC) se aplicará una metodología establecida como la criopreservación ovocitos y/o embriones, y en el caso de radioterapia se podrá recurrir a la trasposición ovárica o una ooforopexia (fijación quirúrgica de un ovario a la pared de la pelvis). Por otro lado, en aquellas mujeres en las que la HOC está contraindicada o en el caso de niñas prepuberales, se puede recurrir a técnicas de preservación de la fertilidad se todavía se consideran experimentales como la criopreservación de tejido ovárico, la criopreservación de ovocitos inmaduros y la utilización de análogos GnRH. Todas las técnicas de PF se analizarán con más detenimiento en el apartado correspondiente a las opciones actuales de preservación de la fertilidad en la mujer.



**Figura 4.** Referencia y manejo de la paciente en riesgo de infertilidad inducida por distintos tratamientos médicos (Camus, 2010)

La importancia del asesoramiento oncológico y reproductivo en estas pacientes se manifiesta en las guías de buenas prácticas establecidas por las distintas sociedades científicas. La Sociedad Americana de Oncología Clínica (ASCO) y la Sociedad Estadounidense de Medicina Reproductiva (ASRM) así como la European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE) establecen las pautas para la preservación de la fertilidad en pacientes con cáncer junto a la importancia del asesoramiento y recomendación de los oncólogos para que informen a sus pacientes sobre los posibles efectos negativos de la quimioterapia en la fertilidad antes de iniciar el tratamiento, con la finalidad de que estas pacientes puedan acudir a las unidades de reproducción asistida (URA) y establecer los posibles riesgos de fallo ovárico precoz así como la

utilización de las TRA actualmente disponibles más adecuadas en función de las características concretas de cada paciente (Goldfarb *et al.*,2016)

Más concretamente, la ESHRE establece la Guía sobre 'Preservación de la fertilidad femenina' (2020) que proporciona a los médicos recomendaciones basadas en la evidencia sobre diferentes técnicas de PF y cómo aplicarlas, incluyendo pautas sobre la evaluación previa a la PF, intervenciones y atención tras el tratamiento. Además de recomendaciones sobre cómo cuidar, informar y apoyar a los pacientes que requieren de la aplicación de estas técnicas por causas médicas y/o sociales. (ESHRE 2020).

Estudios recientes demuestran que el hecho de proporcionar información precisa sobre las opciones disponibles para la preservación de la fertilidad de forma prematura ha permitido la obtención de un mayor número de ovocitos y embriones recuperados antes de la pérdida completa e irreversible de la función ovárica por la quimioterapia u otros tratamientos gonadotóxicos. (Peate *et al.*,2012)

Sin embargo, todavía se manifiesta una falta de discusión en cuanto a la planificación familiar, pues no siempre se aborda tras un diagnóstico de cáncer, y ello deriva en preocupaciones reproductivas y depresiones en las mujeres jóvenes supervivientes de cáncer ya que no podrán cumplir su deseo de maternidad. Incluso a pesar de ofrecer soluciones de manera prematura, estas mujeres pueden no estar preparadas para explorar sus opciones reproductivas ya que posiblemente todavía no han asimilado el diagnóstico y en consecuencia desconocen cuál sería el momento oportuno para realizar el asesoramiento en las unidades de reproducción asistida.

Otros estudios de Hill *et al.* (2012), los cuales se basaron en pacientes con cáncer de mama, indican que las mujeres no estaban suficientemente informadas por lo que consideraban que la PF podría retrasar el inicio del tratamiento o bien la incertidumbre de que la hiperestimulación ovárica controlada podría afectar a los cánceres hormonodependientes, también las dudas relacionadas con la seguridad del embarazo después del tratamiento.

Por lo tanto, el planteamiento de la PF es muy variado y depende de muchos factores asociados al tipo de cáncer, así como al tratamiento al que va a ser sometida la paciente. En el caso del cáncer de mama, la eliminación quirúrgica del tumor no afectará a la fertilidad de la paciente, de esta manera, la etapa posterior a la cirugía sería el momento oportuno para el asesoramiento en las URA con el fin de decidir la técnica de PF más adecuada antes del tratamiento gonadotóxico (Goldfarb *et al.*,2016)

Todo ello demuestra el importante papel de las unidades de oncofertilidad cuyo asesoramiento no debe limitarse únicamente a proponer procedimientos de preservación de la fertilidad. De hecho, en el tratamiento de pacientes jóvenes con cáncer, estos especialistas deben considerarse como figuras clave no solo antes, sino también durante y después de los tratamientos del cáncer con el fin de explorar aspectos destacados de la salud psicológica, ginecológica y reproductiva (Massarotti *et al.*,2019).

## II. OBJETIVO

La incidencia del cáncer ha aumentado considerablemente en los últimos años en todo el mundo, siendo el cáncer de mama una de las principales causas de muerte. La curva de incidencia continúa creciendo día a día, lo cual puede atribuirse principalmente al aumento poblacional y al envejecimiento, puesto que incrementa el riesgo de desarrollar cánceres ginecológicos en la edad adulta, afectando notablemente a la condición reproductiva de la mujer e incluso alterando su deseo de maternidad. Afortunadamente, cada vez son mayores las tasas de supervivencia gracias a los avances en el diagnóstico, programas de detección precoz, así como la mejora de los tratamientos que consiguen mitigar los efectos del cáncer. No obstante, estos últimos pueden llegar a desencadenar un efecto gonadotóxico en las pacientes. En consecuencia, el campo de la preservación de la fertilidad ha progresado en los últimos 20 años, donde las unidades de reproducción asistida, junto a los especialistas en oncología han realizado grandes avances en múltiples técnicas y metodologías, que han permitido el desarrollo de una nueva disciplina denominada oncofertilidad. Este precisamente es el objetivo principal del trabajo: analizar la mejor opción de preservación de la fertilidad en las pacientes afectadas, así como la aplicación de las técnicas de reproducción asistida (TRA) que, mediante el asesoramiento adecuado, garanticen el éxito reproductivo en el futuro.

## III. MATERIALES Y MÉTODOS

El desarrollo de este trabajo se basó en la búsqueda de recursos bibliográficos sobre la preservación de la fertilidad y el cáncer de mama y ovario, así como de las opciones y técnicas de reproducción asistida más actuales y emergentes.

La búsqueda y recopilación inicial del contenido se realizó a través de bases de datos como PubMed, sin restricción de idioma hasta las fechas más actuales (2021) y basado en todo tipo de artículos con un criterio de búsqueda sobre los más destacados. Las palabras clave empleadas para una primera aproximación fueron: “cáncer de mama” y “breast cancer”, apareciendo para esta última más de 400 mil resultados. Para poder analizar más a fondo las particularidades de la incidencia, mortalidad y datos estadísticos, se detalló el criterio de búsqueda en tipo de artículo “reviews”. Además, se accedió a las bases de registro oficiales como Asociación Española Contra el Cáncer (AECC), la Global Cancer Observatori (GLOBOCAN), Sociedad de Oncología Médica (SEOM), Fundación Grupo Español de Investigación en Cáncer de Mama (GEICAM) entre otras.

Se seleccionaron aquellas revisiones sistemáticas más actuales y con resultados definidos para evidenciar la necesidad de asesoramiento en multitud de pacientes con cáncer de mama y ovario que desconocen las metodologías y cómo la aplicación de esas técnicas les puede ayudar a preservar su fertilidad. Además, se accedió a las guías clínicas proporcionadas por las páginas oficiales, destacando la guía europea de la European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE).

Posteriormente, siguiendo el curso de la investigación detallada en el índice, se procedió a la búsqueda con las palabras clave: “oncofertility”, sin restricción de idiomas y limitando la búsqueda a los últimos 5 años.

La búsqueda resultó exitosa y concreta, mostrando aproximadamente 500 resultados. Además de “cancer fertility preservation” que mostró un mayor número de resultados. Se seleccionaron aquellos artículos relacionados con el efecto sobre la respuesta ovárica de los tratamientos gonadotóxicos, el riesgo de cáncer de mama tras la aplicación de estimulación ovárica controlada, el riesgo de aquellas pacientes predispuestas genéticamente, y se excluyeron los artículos relacionados con las neoplasias ginecológicas u otros en general.

Para un análisis más profundo de la materia y siguiendo con el orden establecido, se abordaron las metodologías básicas de las técnicas de reproducción humana junto a las opciones disponibles de preservación de la fertilidad. Para ello, se emplearon además otras bases de datos como MEDLINE, para aspectos de materia médica, junto a Google Scholar como plataforma de búsqueda de contenido académico y científico. Muchos de los artículos revisados provenían de editoriales como Elsevier o Springer. Las palabras clave destacadas fueron: “breast cancer treatment”, “criopreservation”, “embryo criopreservation”, “oocyte criopreservation”, “FIV-ICSI”, “oocyte maturation”, “ovarian cortex preservation”. Para todas ellas se obtuvieron miles de resultados. Respecto al año de publicación se tuvieron en cuenta algunas de las publicaciones más antiguas con el fin de poder realizar un análisis crítico sobre los avances y establecer una comparación con las metodologías actuales. Los metaanálisis fueron útiles para discutir las tasas de éxito de las técnicas, siempre sobre la paciente oncológica que puede ver afectada su fertilidad por el tratamiento gonadotóxico.

En base a ello, se estableció un orden de las opciones de preservación de la fertilidad para las pacientes oncológicas y se discutió sobre el estado más actual de la técnica, desde aquellas que cuentan con una base metodológica más establecida hasta las más experimentales, finalizando con la búsqueda de técnicas emergentes para el futuro. En cada opción de la preservación de la fertilidad se plantearon las siguientes preguntas: “¿Cuál es la opción más indicada para una paciente oncológica concreta?” “¿Qué técnica se emplea?”, “¿Qué tasas de éxito muestran dichas opciones?”. Se respondieron en base a factores como el tipo de cáncer (hematológico o subtipo de cáncer de mama), tipo de paciente (prepuberal o adulta) y el tiempo requerido para la técnica.

## **IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **1. IMPACTO DEL TRATAMIENTO DEL CÁNCER EN LA RESERVA OVÁRICA**

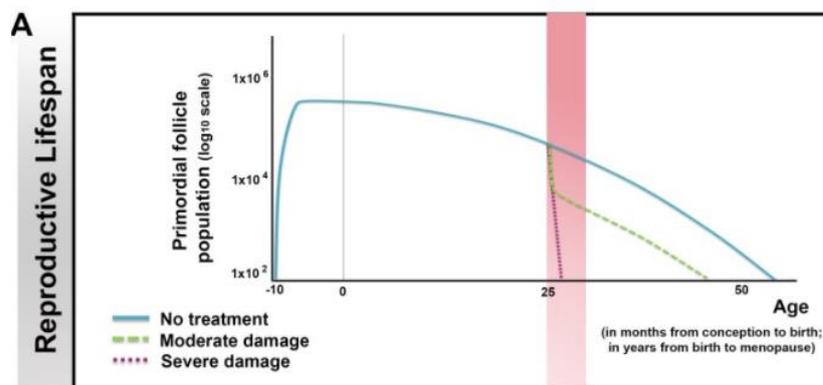
La incidencia del cáncer está aumentando en las últimas décadas. Sin embargo, cada vez más, los tratamientos antineoplásicos dan una mayor esperanza de vida. La mayoría de los tratamientos son gonadotóxicos y van a afectar a la reserva ovárica, penalizando el potencial de fertilidad de la paciente, ya que derivan en múltiples efectos secundarios, donde posteriormente se verán involucradas las técnicas preservación de la fertilidad.

Hay tres factores que condicionan el cese de la capacidad reproductiva de la paciente oncológica:

- **Efectos gonadotóxicos de tratamiento antineoplásico:** Las altas dosis de quimioterapia y/o radioterapia pueden producir efectos deletéreos sobre el ovario, llevando a una destrucción de la dotación folicular y en consecuencia un fallo ovárico precoz o Insuficiencia ovárica (FOP), finalizando en una pérdida de la fertilidad. El grado de gonadotoxicidad varía entre los diferentes grupos de fármacos quimioterapéuticos; en general los agentes alquilantes son los que presentan un mayor riesgo de insuficiencia ovárica (Salama y Woodruff,2017)

La población de folículos primordiales queda establecida en el momento del nacimiento y va disminuyendo conforme va aumentando la edad de la mujer. Por otra parte, la hormona antimülleriana (AMH) es el principal marcador de la reserva ovárica, cuanto mayor sea el número de folículos ováricos, mayores serán los niveles de esta hormona.

En el caso normal de las mujeres, tanto el número de folículos antrales como los niveles de AMH van disminuyendo conforme aumenta la edad (Figura 5)



**Figura 5.** Disminución de folículos primordiales con la edad en la mujer e impacto del tratamiento gonadotóxico en la reserva ovárica. (Kim et al.,2016)

Sin embargo, cuando se realizan tratamientos genotóxicos, se observa una disminución de los niveles de la AMH que son indicadores de una disminución de la reserva ovárica. Los tratamientos antineoplásicos van a inducir una insuficiencia ovárica precoz, por lo tanto, en el caso de pacientes con reserva ovárica normal estos tratamientos determinarán una disminución del número de folículos antrales; sin embargo, en el caso de pacientes con una reserva ovárica disminuida como las pacientes portadoras de mutaciones BRCA 1 y 2, estos tratamientos pueden determinar la pérdida total de la función ovárica.

Por lo tanto, en algunos casos, puede haber un descenso y una recuperación parcial de la función ovárica. Otros tratamientos en cambio son mucho más agresivos y producen una caída drástica de la función hasta niveles menopáusicos no recuperables.

- **Reserva ovárica:**

La reserva ovárica puede verse afectada por el propio proceso oncológico, o incluso debido a que la reserva ovárica inicial en pacientes estaba muy disminuida antes del tratamiento antineoplásico. Hay determinadas patologías y/o cánceres que cursan con una baja respuesta o reserva ovárica. Por ejemplo, la disminución de reserva ovárica asociada a mutaciones en el gen BRCA1 en la que existen mecanismos moleculares multifactoriales que originan la baja reserva ovárica inicial (Wang et al.,2014).

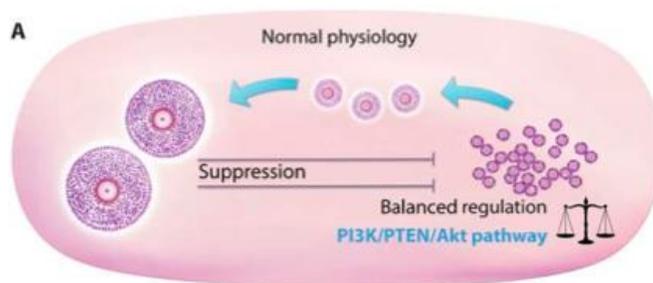
- **Edad y niveles de AMH**

La cantidad y la calidad de los óvulos depende de la edad de la mujer. Conforme aumenta la edad disminuye la reserva ovárica y también la calidad de los ovocitos. Por lo tanto, el riesgo de sufrir un fallo ovárico precoz después del tratamiento oncológico será mayor en el caso de mujeres de edad avanzada. Como se ha mencionado previamente, la AMH es el principal marcador de la reserva ovárica, por lo tanto, a mayor edad menor concentración basal de AMH y menor reserva ovárica. Por lo que un tratamiento antineoplásico, supondrá una disminución aún más drástica de la AMH y la reserva ovárica (Dunlop y Anderson, 2015).

En condiciones fisiológicas normales, en el momento del nacimiento el ovario presenta una población limitada de folículos primordiales que contienen al ovocito y que quedan detenidos hasta la pubertad. Posteriormente, de forma periódica, algunos de los folículos primordiales se ven estimulados por factores intraováricos para comenzar su crecimiento y maduración, mientras que el resto permanece en reposo.

En la pubertad, los folículos primarios que son reclutados mediante un pico hormonal en sangre de hormona foliculoestimulante (FSH), deriva en el crecimiento de estos folículos hasta el estado de folículo secundario, donde ya se han activado los receptores de FSH y se produce una división constante de las células de la granulosa hasta un estadio preantral. Durante los primeros días del ciclo menstrual, uno de los folículos primarios reclutados, el que presenta más receptores para la FSH, es seleccionado como folículo dominante, que se vuelve independiente de la hormona FSH y comienza a secretar más inhibina y estrógenos que el resto de los folículos, inhibiendo de esa forma la producción de FSH por parte de la hipófisis y, por tanto, inhibiendo el crecimiento del resto de folículos.

Las células de la granulosa se dividen, formando varias capas alrededor del ovocito y se convierte en un folículo secundario. Posteriormente, el estradiol secretado por el folículo dominante actúa sobre la hipófisis y desencadena la liberación de la hormona luteinizante (LH) y de la FSH. El pico de LH produce un aumento de AMPc intrafolicular que suprime la división celular de las células de la granulosa, activa procesos de inflamación y determinará la ovulación. (Holesh *et al.*,2020)

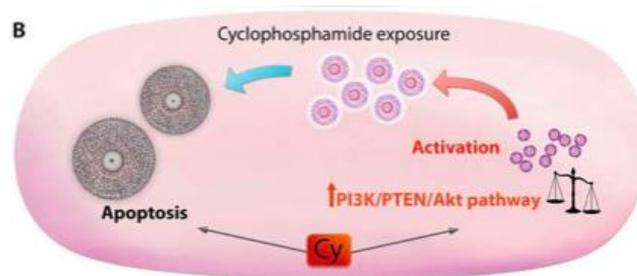


**Figura 6.** Representación simplificada de la regulación de las oleadas foliculares ováricas en condiciones fisiológicas naturales. Los folículos primordiales (PMF) están bajo una regulación equilibrada por la vía PI3K / PTEN / Akt, y los factores supresores producidos por los folículos en crecimiento aseguran que la gran mayoría de los PMF se mantengan en un estado de latencia y muy pocos se activen para crecer. (Rones *et al.*,2013)

Sin embargo, en el caso de las pacientes oncológicas este funcionamiento regulatorio se ve afectado por los tratamientos gonadotóxicos que tienen como células diana a las células de la

granulosa que presentan una elevada tasa de división debido a su alta tasa de mitosis por lo que serán los principales tejidos diana de los tratamientos oncológicos.

En este caso, los folículos secundarios entran en apoptosis como consecuencia del tratamiento gonadotóxico, con lo que se suprime el efecto paracrino intraovárico y se va a producir una salida masiva de folículos primordiales de la reserva ovárica que conduce al agotamiento de la reserva folicular. Por otro lado, los agentes citotóxicos de los tratamientos oncológicos afectarán también a la propia estructura del folículo en reposo con lo que se produce una combinación tanto de los efectos antimitóticos sobre las células de la granulosa como de los efectos citotóxicos sobre la propia estructura de los folículos.



**Figura 7.** Representación simplificada de la regulación de las oleadas foliculares ováricas en condiciones de tratamiento antineoplásico. Cy regula al alza la vía de activación del folículo PI3K / PTEN / Akt y causa apoptosis en los folículos en crecimiento, lo que reduce la secreción de factores inhibidores. Cy: ciclofosfamida. (Rones et al.,2013)

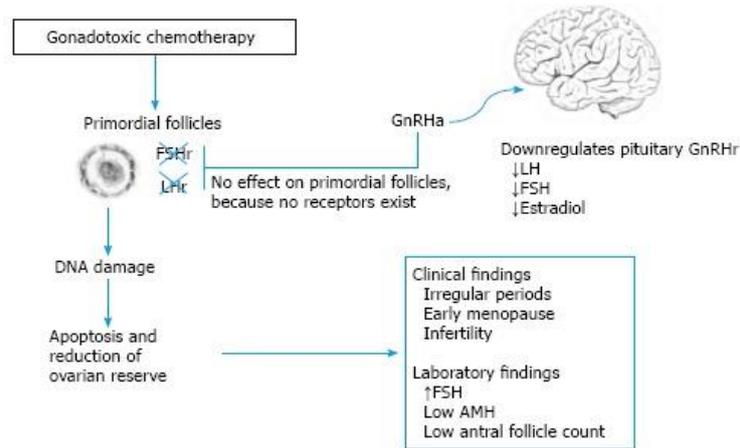
En general, dependiendo de las características del tumor relacionadas con el tipo de tumor, el estado de los receptores (hormonas de estrógenos y progesterona (ER, PR) y/o el estado de HER2), el estadio tumoral, los marcadores genómicos, la presencia de mutaciones conocidas (BRACA 1 y2) y la edad de la paciente, se aplicará un tratamiento personalizado (ASCO 2020).

La posibilidad de terapias atendiendo a los criterios establecidos anteriormente puede ser muy variada:

### 1.1. QUIMIOTERAPIA

El efecto gonadotóxico de los agentes quimioterapéuticos es muy diverso, ya que puede involucrar una variedad de mecanismos fisiopatológicos que todavía no están completamente establecidos (Shin et al.,2020). Estos efectos dependerán fundamentalmente del agente citotóxico utilizado, de la dosis y de la edad de la paciente y de su reserva folicular al inicio del tratamiento y determinarán una disminución drástica de la reserva folicular y en algunos casos un fallo ovárico irreversible.

Se ha demostrado que los agentes más gonadotóxicos son los que actúan sobre el ADN del ovocito y producen roturas de cadena. En circunstancias normales, los mecanismos de reparación del ADN son capaces de mantener la integridad genómica, sin embargo, cuando el nivel de daño del ADN es severo debido a los agentes genotóxicos, esos mecanismos de reparación son insuficientes y por tanto, deriva en una muerte apoptótica (Taylan y Oktay,2017). Debido a que los folículos primordiales no se pueden regenerar, se puede causar una reducción irreversible en la reserva ovárica, manifestándose en resultados clínicos como se muestra en la Figura 8.



**Figura 8.** Impacto de la quimioterapia gonadotóxica y el análogo de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) en la reserva y función ováricas (Oktay y Bedoschi, 2016).

Los fármacos como la ciclofosfamida y la ifosfamida predisponen a los pacientes a un alto riesgo de disfunción gonadal, mientras que la vincristina, el metotrexato, el fluorouracilo y la bleomicina se consideran fármacos de bajo riesgo. Los compuestos de platino, los toxoides y las antraciclinas afectan moderadamente la disfunción gonadal. (Durrani y Heena, 2020). Entre todos los agentes gonadotóxicos, aquellos que pertenecen a la categoría alquilante como la ciclofosfamida, son los agentes más gonadotóxicos (Rodríguez-Wallberg y Oktay,2010) ya que los agentes alquilantes son compuestos químicos no específicos del ciclo celular, puede dañar los folículos primordiales en reposo presentes en la corteza ovárica.

Por tanto, debido a que los folículos primordiales no se pueden regenerar y el agotamiento folicular es tan evidente, se produce un efecto similar a la menopausia natural, la mujer experimenta FOP (fallo ovárico prematuro) (Shin *et al.*,2020).

Otro efecto destacado como consecuencia de estos agentes es la amenorrea (ausencia de menstruación). En este sentido, se sabe que después del tratamiento el 70% de las mujeres menores de 40 años experimentaron amenorrea (CRA) (Gadducci *et al.*,2007). Aunque tanto las mujeres jóvenes como mayores perderían folículos, la quimioterapia gonadotóxica es más agresiva en las mujeres de mayor edad ya que tienen una reserva ovárica más baja de partida.

Los resultados de la gonadotoxicidad debida a la quimioterapia varían y no se pueden predecir individualmente, pero la edad y la reserva ovárica se sabe que son los factores que más influyen en la infertilidad post tratamiento. Por lo tanto, la preservación de la fertilidad y el

asesoramiento se debe de realizar lo antes posible con independencia de la edad en el momento de la exposición a la quimioterapia en la mayoría de los casos.

### 1.2. RADIOTERAPIA

La radioterapia puede emplearse como tratamiento para el cáncer de mama en la mayoría de los estadios. Se trata de una forma eficaz de reducir el riesgo de aparición tras la cirugía y puede utilizarse tanto antes como después. Además, se suele utilizar para el alivio de los síntomas del cáncer cuando ha diseminado a otras zonas del organismo (cáncer metastásico). Aunque la radioterapia es un tratamiento adyuvante común para el cáncer de mama, la cantidad de radiación que llega a los ovarios es insuficiente para afectar la función de los ovarios. Además, el cáncer de ovario después del cáncer de mama es más probable que sea atribuido a una causa genética (Marcu *et al.*,2014).

### 1.3. TERAPIA HORMONAL

Generalmente es un tratamiento eficaz en el caso de los tumores hormono dependientes (ER o PR positivos) ya que en estos casos el tumor utiliza hormonas para estimular su crecimiento. Por ello bloquear las hormonas ayudaría significativamente a prevenir la recurrencia del cáncer y al mismo tiempo mejoraría su pronóstico. En función de las características del tumor, se puede utilizar tanto como tratamiento único o bien después de la quimioterapia (ACS 2020).

Los tipos de terapia hormonal más utilizados son los siguientes:

- **Tamoxifeno:** es un fármaco que bloquea los receptores de estrógenos de las células tumorales y que permite reducir el riesgo de recurrencia de metástasis como tratamiento hormonal de primera línea. Se asocia con tasas de respuesta y supervivencia general comparables a la ablación ovárica en mujeres premenopáusicas, aunque los efectos secundarios como la tasa de sangrado vaginal y tromboembolismo es más alta que con inhibidores de la aromatasa (Rubio *et al.*,2007).  
Aunque estos agentes en gran medida disminuyen la mortalidad relacionada con el cáncer de mama, se sabe que son teratogénicos, retrasando aún más la oportunidad de quedarse embarazada. Un estudio retrospectivo (Shandley *et al.*,2017) demostró que las mujeres tratadas con este agente disminuyeron las probabilidades de tener un hijo, sin embargo, al evaluarse la reserva ovárica en función de los niveles AMH y del número de folículos antrales se observaron unos niveles superiores a los obtenidos con el grupo control, lo que indicaría que se requieren un mayor número de ensayos clínicos para poder demostrar los efectos del tamoxifeno sobre la reserva ovárica.
- **Inhibidores de la aromatasa (AI):** disminuyen la cantidad de estrógenos producidos por otros tejidos no ováricos, principalmente en mujeres posmenopáusicas. Dicha enzima cataliza la transformación de andrógenos a estrógenos cuando los ovarios dejan de producir estrógenos durante la menopausia. Entre estos medicamentos se incluyen el anastrozol (Arimidex), el exemestano (Aromasin) y el letrozol (Femara).  
En los tratamientos con AI los efectos sobre el bloqueo de los estrógenos no afectan a los estrógenos producidos por los ovarios, por lo tanto, no se recomienda en el caso de mujeres premenopáusicas

- **Supresión ovárica:** mediante el uso de fármacos o cirugía para evitar que los ovarios produzcan estrógeno. Hay 2 métodos usados para la supresión ovárica (ACS 2020):
  - Cirugía para extirpar los ovarios, que también detiene la producción de estrógeno. Si bien es permanente, puede ser una buena opción para las mujeres que ya no desean tener más hijos, en especial porque el costo por lo general es más bajo a largo plazo.
  - Fármacos análogos de la hormona liberadora de gonadotropinas y de la hormona luteinizante (GnRH o LHRH) detienen la producción de estrógeno en los ovarios y se ha desarrollado como un método de protección ovárica:

### 1.3.1. ANÁLOGOS DEL GnRH COMO PROTECCIÓN OVÁRICA

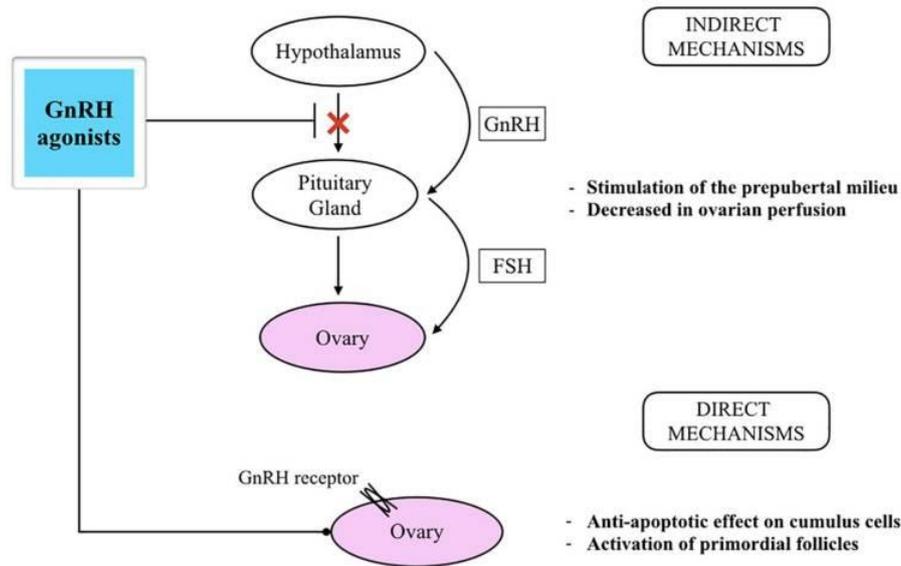
Son diversos los inconvenientes que se presentan como consecuencia de la quimioterapia, y estos son de particular interés para las pacientes de cáncer de mama premenopáusicas recién diagnosticadas. Una de esas consecuencias es la insuficiencia ovárica prematura (POI). La supresión ovárica temporal con la administración de fármacos se ha desarrollado específicamente como un método para contrarrestar la gonadotoxicidad inducida por la quimioterapia con el objetivo principal de disminuir el riesgo de POI. (*Lambertini et al., 2019a*).

Los análogos de la hormona liberadora de gonadotropinas y de la hormona luteinizante (GnRH o LHRH) detienen la producción de estrógeno en los ovarios, ocasionando una menopausia temporal y los efectos de los fármacos GnRHa desaparecen si se interrumpe el tratamiento. La goserelina (Zoladex) y la leuprolida (Eligard, Lupron) son tipos de estos fármacos. (ACS 2020)

El modo de acción de GnRHa se basa en la inducción de una liberación inicial de gonadotropinas, posterior ovulación y producción de estradiol ovárico (es decir, "fase de exacerbación") seguida de la desensibilización de los receptores de la hormona liberadora de gonadotropinas en la glándula pituitaria, que luego bloquea la secreción de gonadotropinas FSH y LH y de esta manera los folículos se mantienen en la fase de reposo y por tanto, son menos vulnerables a la gonadotoxicidad inducida por la quimioterapia (*Lambertini et al., 2019b*). De acuerdo con diversas hipótesis, esta estrategia tiene efectos directos e indirectos (Figura 9).

En cuanto a los efectos indirectos, la supresión de FSH obtenida mediante la administración de GnRHa podría prevenir el daño en los folículos en crecimiento temprano al ralentizar la proliferación y por tanto prevenir un reclutamiento acelerado del conjunto folicular quiescente.

En concreto, la administración de GnRHa podría proteger directamente los ovarios de la gonadotoxicidad al disminuir eventos apoptóticos y estrés mitocondrial. Los efectos directos mediante esta estrategia también pueden ejercerse a través de los receptores de GnRH presentes en las células de la granulosa, actuando como inhibidor sobre los folículos inmaduros, así como de forma estimulante en los folículos maduros y promover una maduración del ovocito y rotura folicular.



**Figura 9.** Administración de GnRHa asociado con quimioterapia: efectos directos e indirectos. (Lambertini et al.,2019b)

Sin embargo, se desconoce si la GnRHa todavía tiene un efecto protector ovárico e incluso se ha demostrado que los agentes gonadotóxicos inducen la muerte del folículo primordial por la rotura del ADN, por lo que no hay un mecanismo para que la supresión ovárica por GnRHa pueda prevenir este daño (Hampe y Rhoton-Vlasak, 2020).

Por otro lado, resultados del estudio de Moore *et al.* (2019) demuestran que las mujeres que recibieron GnRHa junto con quimioterapia estándar para el cáncer de mama tienen más probabilidades de quedar embarazadas, sin deterioro de la calidad de vida y sin empeoramiento de la supervivencia general, el 88% de las mujeres estaban vivas y libres de enfermedad en comparación con el 79% que recibieron quimioterapia estándar sola. Como conclusión a estos estudios, se establece que la quimioterapia junto a los análogos GnRH conducen a una mejor fertilidad y embarazos más exitosos.

Existe una gran controversia en el uso de los GnRHa como prevención del daño ovárico producido por la quimioterapia y en los hallazgos relacionados con la fisiología del ovario. Actualmente sigue siendo objeto de estudio y no se puede recomendar como un método único de preservación de la fertilidad.

#### 1.4. RESERVA OVÁRICA EN MUJERES CON MUTACIONES BRCA. CONTROVERSIA

La mayoría de los cánceres de mama y ovario de tipo hereditario se asocian a mutaciones de los genes BRCA1 y BRCA2. Varios estudios clínicos han demostrado que las pacientes portadoras de una mutación del gen BRCA1 tienen un riesgo del 50-80% de desarrollar un cáncer de mama, a una edad temprana, así como un 40-60% de riesgo de padecer cáncer de ovario además de una reserva ovárica disminuida (Comtet *et al.*,2017).

En estos casos, hay controversia entre el empleo de las técnicas de la preservación de la fertilidad. El estudio realizado por Porcu *et al.* (2019) sugiere la posibilidad de que los genes

BRCA puedan estar involucrados en la fertilidad, especialmente el BCRA1, pues pacientes con estas mutaciones parecen sufrir una insuficiencia ovárica prematura (IOP), determinada por una menor AMH y menor rendimiento de los ovocitos maduros, así como una menor respuesta a las gonadotropinas exógenas y mayor riesgo de menopausia precoz, lo que deriva en una disminución de la fertilidad y reducción del período reproductivo. Por otro lado, se destaca que no se llegó a ninguna evidencia estadística que confirmara que el gen BRCA2 podría no afectar a la fertilidad de manera relevante.

Sin embargo, no existen todavía resultados concluyentes que establezcan los efectos de estas mutaciones sobre la calidad de la reserva ovárica. En un estudio comparativo llevado a cabo por Gunnala *et al.* (2019) se analizó una cohorte de pacientes con cáncer de mama BRCA + y BRCA-. En general, tanto en el grupo de cáncer como el de no cáncer, las portadoras de BCRA tuvieron un incremento en el AFC (número de folículos antrales) y en el número de ovocitos maduros/criopreservados comparado con las no portadoras de BCRA.

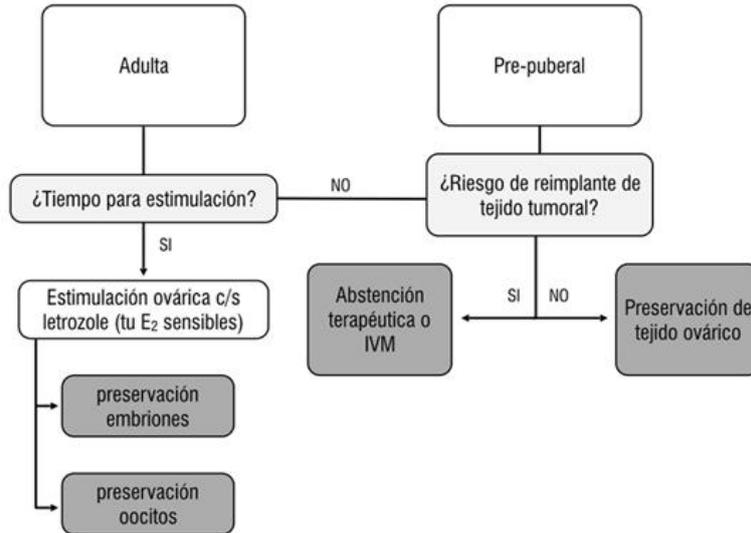
Debe considerarse que la aparición del cáncer en sí podría tener un impacto independiente en el resultado de la estimulación ovárica en las TRA (Porcu *et al.* 2019). Debido a la alta prevalencia de eventos oncológicos en pacientes BRCA1 y 2, es necesario establecer si estos eventos y no las mutaciones BRCA per se son la base de los malos resultados ováricos en estas mujeres

Dado que la evidencia acumulada de que la reserva ovárica puede ser menor en mujeres con mutaciones BRCA, es posible que estas mujeres sean más propensas a la pérdida de la reserva ovárica inducida por la quimioterapia. Sin embargo, resultados contradictorios abordan la necesidad de ampliar el número de estudios sobre este tema. En cuanto al asesoramiento sobre PF en mujeres con mutaciones BRCA se debería informar de un mayor riesgo de infertilidad inducido por la quimioterapia.

## **2. OPCIONES ACTUALES DE PRESERVACIÓN DE FERTILIDAD. PAPEL DE LAS UNIDADES DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA**

Los avances en el campo de las TRA han permitido que pacientes afectados por el cáncer puedan recurrir a la PF previa al tratamiento oncológico. Gracias a las nuevas metodologías como la maduración *in vitro* de ovocitos y con las técnicas de criopreservación de ovocitos y embriones humanos, así como la criopreservación de la corteza ovárica les han conferido un papel fundamental a las unidades de reproducción humana. Actualmente existen equipos de carácter multidisciplinar constituidos por oncólogos, ginecólogos, biólogos y biotecnólogos que se encargan de programar y realizar todas las intervenciones relacionadas con la PF.

Como se ha comentado anteriormente el tipo de técnica utilizada va a depender fundamentalmente de la edad de la paciente, así como de que pueda someterse o no a una HOC. De todo ello dependerá que estas pacientes puedan recurrir a estrategias de PF cuya utilidad ha sido establecida, como la vitrificación de ovocitos y embriones o bien a técnicas que todavía se consideran experimentales como la criopreservación de tejido ovárico y/o la maduración *in vitro* de ovocitos (Figura 10).



IVM: Maduración in vitro de ovocitos humanos (en inglés: oocyte in vitro maturation, IVM)

**Figura 10.** Opciones para preservación de la fertilidad en mujeres en riesgo de pérdida de función reproductiva. (Scarella et al.,2017)

## 2.1 ESTRATEGIAS DE PRESERVACIÓN DE LA FERTILIDAD EN PACIENTES ONCOLÓGICAS. VENTAJAS Y DESVENTAJAS.

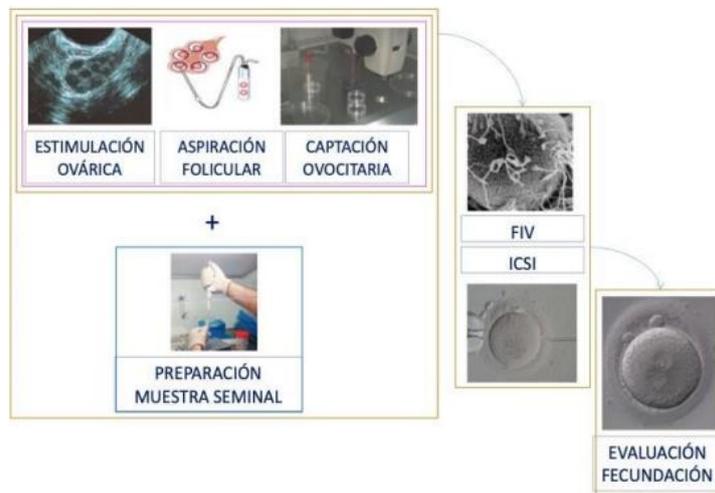
En el ámbito de la PF se recurre a la utilización de determinadas TRA que han sido desarrolladas para solucionar los problemas no solo de las pacientes oncológicas, si no de aquellas que ven afectada su fertilidad por diversos factores y que en el momento actual se aplican también en el campo de la PF. Dentro de las distintas técnicas de PF, nos centraremos no solo en los aspectos metodológicos si no también en el estado actual de la técnica en cuanto a las ventajas y desventajas en comparación con otras estrategias.

A continuación, se detallan todas las técnicas de PF actualmente disponibles para aquellas mujeres que van a someterse a tratamientos oncológicos, se abordarán cada una de estas metodologías en función de que sea un método establecido con resultados clínicamente probados o bien metodologías que todavía se consideran experimentales para finalmente referirnos a aquellas técnicas emergentes que en un futuro puedan aportar nuevas opciones a la PF. En el Anexo (Tabla 1) se recoge la información de estas opciones en una tabla comparativa.

### 2.1.1 VITRIFICACIÓN DE EMBRIONES HUMANOS

Se trata de un método establecido con las mayores tasas acumuladas de embarazo y que requiere aproximadamente dos semanas de retraso en el inicio del tratamiento. Además, requiere HOC para la recuperación de los ovocitos, así como FIV-ICSI con semen de la pareja masculina y/o semen de donante para la obtención de los embriones. Las guías clínicas de la ASCO continúan considerando la vitrificación de embriones como método de primera línea para la PF en pacientes con cáncer.

De manera generalizada, el proceso de FIV-ICSI requiere de la realización de una HOC con la posterior recuperación de los ovocitos por punción transvaginal guiada por ecografía. Estos ovocitos se fecundarán por FIV o bien se microinyectarán por ICSI y posteriormente se realizará el diagnóstico para evaluar el éxito de la fecundación para la criopreservación de los embriones y su futuro empleo en la paciente oncológica recuperada.



**Figura 11.** Esquema del procedimiento de la técnica FIV-ICSI, el destino del embrión obtenido se determinará posteriormente en función de la paciente, para una directa fecundación o una vitrificación para su uso posterior como opción de preservación de la fertilidad a las pacientes oncológicas o debido a otros factores (UPV.Material docente de la asignatura Biotecnología de la Reproducción,2021)

Este proceso involucra varios procedimientos como la HOC, para estimular el crecimiento multifolicular, la recuperación e inseminación (FIV-ICSI) de los ovocitos, así como la clasificación, congelación y almacenamiento de los embriones obtenidos. El éxito de esta técnica se basa en gran medida en la edad y fertilidad basal de la mujer.

Como se indica anteriormente, la obtención de embriones mediante FIV-ICSI para su posterior vitrificación requiere de un tratamiento de hiperestimulación ovárica controlada (HOC), cuyo objetivo es obtener un mayor número de folículos dominantes y por tanto maximizar los resultados de la técnica. La HOC consiste en la administración secuencial de varios fármacos a concentraciones mayores de las que se producen de manera fisiológica evitando así la dominancia folicular. La principal característica de un protocolo HOC es minimizar la administración de gonadotropinas que permita mantener la salud de la paciente, así como las tasas de éxito reproductivas. De esta manera el protocolo deberá individualizarse atendiendo a características reproductiva de cada una de las pacientes (Jiménez, M.I, 2017).

En el caso de las pacientes oncológicas, la HOC puede hacer que los niveles de estradiol aumenten por encima de los niveles fisiológicos, afectando especialmente a mujeres con cáncer de mama hormonodependientes (Sonigo *et al.*,2109). Por lo tanto, es importante minimizar la exposición a los estrógenos. Estudios clínicos como el de Rodgers *et al.* (2017) muestran que la disminución de los niveles de estradiol ha permitido reducir la recurrencia y la mortalidad en estas pacientes sometidas TRA. Actualmente se ha demostrado que la coadministración de letrozol (inhibidor de la aromatasas) junto a agonistas de GnRH, no causan un deterioro a corto plazo en el pronóstico del cáncer y además reduce las concentraciones de estradiol sin afectar

la recuperación de ovocitos maduros. También se puede recurrir a la administración de tamoxifeno (bloqueante de receptores) que puede ser beneficiosa en estos casos de cáncer, aunque todavía la información es limitada debido al bajo número de estudios realizados.

En la HOC se realiza un control de la maduración folicular que se repetirá hasta obtener como mínimo 2-3 folículos mayores de 18 mm de diámetro y en este momento se inducirá la ovulación mediante una inyección de hCG-r (250 µg). 36 horas después a la administración de hCG, se realizará la aspiración folicular y recuperación de ovocitos, mediante una punción transvaginal guiada por ecografía en la que se aspiran los folículos que se han desarrollado en el ovario para obtener el líquido folicular en el que están contenidos los ovocitos que posteriormente se clasificarán en el laboratorio en función de su estado madurativo. Los ovocitos maduros, se inseminarán y/o microinyectarán con los espermatozoides de la pareja y/o semen de donante mediante la técnica FIV-ICSI.

En el caso de la inseminación (FIV) los ovocitos maduros se cultivarán junto a los espermatozoides capacitados. Sin embargo, en el caso de la ICSI se microinyectará un espermatozoide seleccionado en el interior de cada uno de los ovocitos maduros en metafase II. El diagnóstico de la fecundación se realiza a las 18-20 horas post inseminación, y se considerará correctamente fecundados aquellos que muestren la presencia de los dos pronúcleos, así como la expulsión de los 2 corpúsculos polares. Los ovocitos normalmente fecundados se cultivan *in vitro* hasta día 3 de desarrollo embrionario (72 horas post FIV-ICSI), los cuales presentarán entre 6 y 8 células o bien se cultivan hasta el estadio de blastocistos en día 5-6 de desarrollo embrionario y posteriormente se vitrifican.

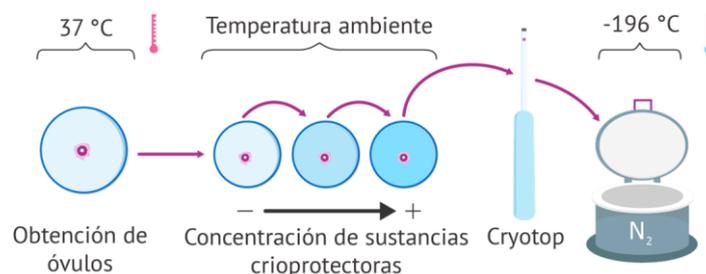


**Figura 12.** Diagnóstico de la fecundación y desarrollo embrionario posterior hasta día 5-6 de cultivo embrionario. El embrión en día 1 se encuentra en estadio de pronúcleo, en día 2 los embriones presentan entre 2 y 4 células, día 3 entre 6-8 células, en día 4 se encuentra en estadio de mórula y día 5 en estadio de blastocisto y día 6 en estadio de blastocisto en expansión (INSTITUTO BERNABEU (IB) 2020).

La vitrificación es una técnica de criopreservación que evita la formación de cristales de hielo intracitoplasmáticos debido a la alta viscosidad del medio de vitrificación por la elevada concentración de crioprotectores empleada. Se trata de una técnica de criopreservación que ha sustituido completamente a la congelación lenta convencional, en la que el principal problema era la formación de hielo intracelular debido a las bajas velocidades de enfriamiento utilizadas en esta técnica de criopreservación.

Dado el rápido descenso de temperatura que ocurre en la vitrificación, la viscosidad de la muestra aumenta hasta que las moléculas se inmovilizan, formando un estado sólido de características físicas similares al vidrio (estado vítreo). Este extremo aumento de la viscosidad requiere velocidades de enfriamiento ultrarrápidas (superiores a 2500 °C/min) y elevadas concentraciones de crioprotectores (de 5 a 7M) (Shaw *et al.*, 2000). Para conseguir las tasas de

congelación de varios grados por minuto, la muestra se mantiene en el mínimo volumen de medio, almacenándose en los contenedores de vitrificación y exponiéndose directamente al nitrógeno líquido (Chen *et al.*, 2000; Gook and Edgar., 2007), haciendo que la temperatura a la que se ven expuestas las células descienda muy rápidamente, en cuestión de segundos, de 22°C a -196°C. (Figura 13).



**Figura 13.** Esquema del proceso de vitrificación de ovocitos. (REPRODUCCIÓN ASISTIDA ORG, 2020)

Los contenedores específicos para la vitrificación permiten almacenar las células en el mínimo volumen de medio, permitiendo así que la muestra a vitrificar tenga una mayor superficie de contacto con el nitrógeno líquido. Uno de los contenedores más empleados es el de CryoTop™ (Kitazato). Las muestras vitrificadas quedan suspendidas en un volumen muy pequeño (0.4µL) de solución de vitrificación, lo que permite una rápida transferencia de calor, y evita la formación de cristales. Además, están selladas por ambos extremos, por lo que, quedan aisladas del nitrógeno líquido y de cualquier otra fuente posible de contaminación.

En cuanto a las ventajas que presenta esta técnica, destaca la total eliminación de la formación de cristales de hielo con lo que se minimiza el daño mecánico causado por el enfriamiento. Otra gran ventaja es que no requiere equipos de congelación caros como los congeladores programables de embriones (Dobrinisky 1996, Martino *et al.*, 1996; Fuchinoue *et al.*, 2004). Asimismo, se ha demostrado que la vitrificación es menos perjudicial para el huso meiótico que la congelación lenta, y por lo tanto más efectiva (Gardner *et al.*, 2007). Por todo ello, la técnica de vitrificación ha sustituido completamente a la técnica de congelación lenta. Aproximadamente, la supervivencia que se consigue tanto de los ovocitos maduros como de embriones según los anteriores estudios es superior al 90% y además los ovocitos presentan las mismas posibilidades de ser fecundados que los ovocitos frescos recién extraídos.

En relación con la técnica de vitrificación de embriones como técnica principal de la PF, las principales ventajas serían que permite conseguir las mayores tasas acumuladas de embarazo. Sin embargo, todavía se dispone de datos limitados a largo plazo en términos de embarazo y tasas de parto para pacientes con cáncer que se sometieron a crio- preservación, pero las mujeres que eligen congelar embriones por cualquier motivo han logrado resultados prometedores desde la década de 1980. De hecho, las tasas de embarazo con embriones congelados han superado a las de embriones frescos. En el 2015 los datos del informe de la Sociedad Europea de Reproducción Humana y Embriología indicaban unas tasas de gestación para embriones congelados del 54,6% por transferencias y unas tasas de nacidos vivos del 44,3% por transferencia (Lohrisch *et al.*, 2006).

Las principales desventajas de esta técnica son principalmente la necesidad de disponer de semen de la pareja y/o semen de donante y el tiempo necesario para la HOC y la realización de la FIV-ICSI. Ya que, si la paciente se encuentra en cualquier otra fase distinta a una fase folicular temprana, los protocolos estándar de FIV requieren la espera de hasta 3 semanas antes de que comience el proceso (Rodríguez-Wallberg y Oktay, 2010). Por lo tanto, este método no es una opción viable para las mujeres cuyo tratamiento contra el cáncer es de máxima prioridad. Tampoco se recomienda en mujeres con cánceres sensibles a las hormonas en las que la HOC está contraindicada tampoco es viable para niñas prepúberes que todavía no tienen función ovárica.

### **2.1.2 VITRIFICACIÓN DE OVOCITOS MADUROS**

Actualmente, la vitrificación de ovocitos es una de las opciones más adecuadas para la preservación de la fertilidad ya que no se requiere de pareja masculina o donante de esperma. Al igual que en el caso de la vitrificación de embriones esta será la técnica de elección para mujeres con una buena reserva folicular en las que la HOC no esté contraindicada y tengan la posibilidad de poder retrasar el comienzo del tratamiento oncológico ya que se necesita aproximadamente de 2 a 5 semanas para iniciar el tratamiento de protocolo (Sonmezer y Oktay., 2004; Cobo *et al.*, 2013).

En los programas de Reproducción Asistida, la vitrificación de ovocitos humanos es una alternativa más válida que la preservación de embriones, ya que evita muchas de las objeciones éticas, morales y legales que implica el almacenamiento de embriones permitiendo, además, preservar los ovocitos excedentes de los ciclos de FIV-ICSI y facilitando a las unidades de reproducción humana la disposición de bancos de ovocitos propios congelados.

A su vez, esta técnica también resulta útil para planificar el proyecto reproductivo de mujeres sanas que retrasan la maternidad debido a causas sociales, mujeres sin pareja o debido a patologías que impiden la maternidad temporalmente. Asimismo, simplifica los procesos de donación de ovocitos, permitiendo el mantenimiento en cuarentena de estos mientras se comprueba si las donantes son portadoras de algún tipo de enfermedad transmisible y evitando la necesidad de sincronizar los ciclos menstruales de la donante y la receptora (Ruppert *et al.*, 2003).

En cualquier caso, para la implementación de esta técnica se deberá tener en cuenta el tipo de cáncer, la posibilidad de realizar una estimulación, retrasar el inicio del tratamiento y la edad de la paciente, por ello la vitrificación de ovocitos puede ser una alternativa viable para la PF en la paciente oncológica, con la principal ventaja de conseguir los mismos resultados que ovocitos frescos (Cobo *et al.*, 2009).

Generalmente, este modo de criopreservación resulta prometedor, pues la supervivencia es de un 90% aproximadamente (García *et al.*, 2009; Martínez-Burgos *et al.*, 2010) y además presenta las mismas posibilidades de ser fecundados que los ovocitos recién extraídos. En el caso de la vitrificación de ovocitos, en pacientes sin cáncer sometidas a TRA se obtiene una tasa de embarazo del 29,3% por ciclo y una tasa de natalidad del 22,7% por ciclo (CDC Report, 2015). Y para el caso de la paciente oncológica, con la aplicación de esta técnica se corrobora el gran potencial de preservar la fertilidad, alcanzando tasas de supervivencia del 99,4% y con tasas de

fecundación, gestación e implantación del 92,9%, 32,5% y 13,2% respectivamente tras la desvitrificación (Antinori *et al.*, 2007).

Por tanto, se puede concluir que los mejores resultados en términos de PF en mujeres con cáncer se van a conseguir mediante la vitrificación y desvitrificación de embriones. Sin embargo, los resultados obtenidos con la vitrificación de ovocitos maduros presentan también unas elevadas tasas de éxito. Además, esta técnica cuenta con la ventaja de ser el método de elección para mujeres solas que no quieren utilizar semen de donante y evita los problemas éticos y religiosos que surgen con la preservación de embriones (ASRM 2013).

Entre las desventajas de esta técnica, cabe mencionar que al igual que la vitrificación de embriones, la utilización de hormonas exógenas está contraindicada en cánceres hormono dependientes y que el tiempo necesario para la realización de la HOC y la recuperación de los ovocitos es el mismo que para un ciclo de FIV-ICSI (3-5 semanas), por lo que no es una opción viable para las pacientes con necesidad de iniciar el tratamiento de forma urgente. Además, tampoco es viable para las niñas prepúberes ni para mujeres mayores de 40 años o sin una reserva ovárica adecuada.

### **2.1.3 OVODONACIÓN**

Es una opción de PF que no requiere HOC, no es invasiva, no demora el tratamiento. Esta técnica está indicada en las mujeres que presentan un fallo ovárico prematuro y no han podido preservar su fertilidad por ninguno de los métodos comentados anteriormente. Consiste en la utilización de ovocitos procedentes de donantes anónimas y voluntarias. La técnica está actualmente establecida y los protocolos, así como las pruebas genéticas, son relativamente uniformes y bien aceptados por las parejas (Sauer y Kavic, 2006). Adicionalmente, simplifica la logística de los ciclos de TRA, debido a que no es necesario sincronizar el ciclo menstrual entre la donante y la receptora (Argyle *et al.*, 2016).

El éxito de la técnica depende de la edad de los ovocitos, del proceso en sí de obtención de estos, de la calidad seminal y de la salud general de las pacientes. De todas las técnicas de reproducción asistida, es la que mejores resultados proporciona, consiguiéndose las tasas más altas de implantación (36%), embarazo clínico (63%) y nacidos vivos (54%) (Noyes *et al.*, 2001). En cuanto a la tasa de supervivencia de los ovocitos donados tras la desvitrificación, se demostró que fue del 90% en la mayor serie de datos recogidos hasta la fecha (Cobo *et al.*, 2015).

Según la última guía sobre la donación de ovocitos de la ESHRE (2018), aproximadamente un 7,5% de todas las técnicas de reproducción en 2014 fueron de ciclos de donación. En relación con los datos publicados en nuestro país en el registro de la SEF (2018) se obtienen unas tasas de gestación y de nacidos vivos de 55,1% 30% respectivamente.

Cada vez un mayor número de parejas recurren a la donación de ovocitos debido a un fallo ovárico precoz (FOP) que puede ser natural o inducido por un tratamiento gonadotóxico. Como se ha podido observar en los resultados presentados en los registros de la SEF y de la ESHRE, la ovodonación es la metodología que permita obtener los mejores resultados en el marco de las TRA.

#### 2.1.4 VITRIFICACIÓN DE OVOCITOS INMADUROS

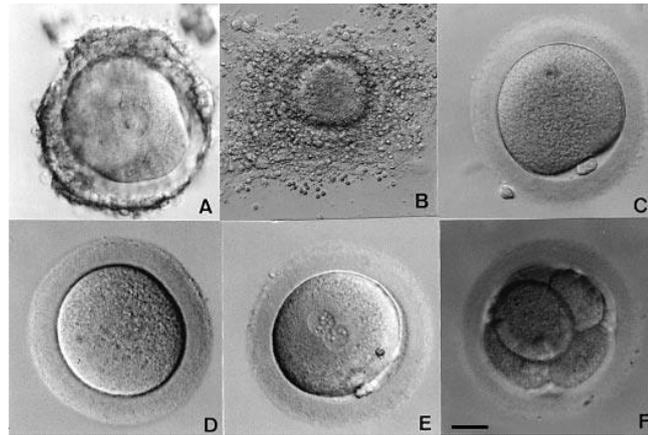
Se trata de un procedimiento que no supone una demora en el tratamiento y que no requiere HOC ni semen de la pareja o de donante. La recuperación de ovocitos inmaduros requiere siempre de la correspondiente maduración *in vitro* (MIV) que se puede realizar antes o después de la criopreservación. Sin embargo, se han informado pocos embarazos y se considera todavía una técnica experimental.

Esta estrategia presenta algunas ventajas frente a la fecundación *in vitro* convencional, pues evita los efectos adversos derivados de la HOC, reduce el coste y la simplifica el tratamiento. Esta técnica se utiliza también para PF en mujeres con ovarios poliquísticos para evitar un posible síndrome de hiperestimulación ovárica. Adicionalmente, para el caso de las pacientes de cáncer, la vitrificación de los ovocitos en un estado inmaduro (profase I) es una alternativa a la preservación de ovocitos en metafase II maduros. Dado que pueden obtenerse ovocitos sin la necesidad de recurrir a la HOC o bien para madurar *in vitro* los ovocitos inmaduros obtenidos tras procesar la corteza ovárica antes de su criopreservación, lo que supone una ventaja para el tipo de paciente hormonodependiente, así como en casos de pacientes prepuberales y sin pareja (Ruppert *et al.*, 2003; Sonmezer and Oktay., 2004).

Debido a los bajos resultados obtenidos, se manifiesta la creciente necesidad de profundizar en el desarrollo de la maduración *in vitro* ovocitaria que nos permita conseguir resultados similares a los obtenidos con la utilización de ovocitos maduros lo que permitirá un progreso hacia métodos más fiables y efectivos.

El paso principal es recuperar los ovocitos que posteriormente se incubarán con los medios de cultivo especiales de maduración, la mayoría están suplementados con FSH y Hormona Gonadotropina Coriónica Humana (hCG). En cualquier caso, el objetivo de estos medios es el de proporcionar las condiciones óptimas que aseguren la maduración ovocitaria, imitando para ello el entorno microendocrino del folículo en desarrollo que permita al ovocito inmaduro completar la maduración nuclear y citoplasmática. (Son y Tan, 2010)

Durante el periodo de maduración *in vitro*, el ovocito inmaduro que ha sido recuperado está bloqueado a nivel de la profase en la primera división meiótica, y gracias a los componentes hormonales del medio se estimula y la meiosis prosigue hasta quedar de nuevo bloqueada en la metafase de la segunda división meiótica. La progresión del primer al segundo bloqueo se denomina maduración ovocitaria (Albarracín, 2005). Este tiempo de maduración de los ovocitos oscila entre 24 y 48 horas, y las tasas de maduración reportadas por la mayoría de los grupos de estudio oscilan entre el 60% (Requena *et al.*, 2009). Tras la valoración de la maduración, los ovocitos deberán ser microinyectados (ICSI) ya que el proceso de maduración *in vitro* determina un engrosamiento de la zona pelúcida que impediría la fecundación mediante la técnica de FIV. En la siguiente figura se representan las etapas de maduración *in vitro* desde el ovocito inmaduro hasta su posterior fertilización:



**Figura 14.** Maduración *in vitro*, fertilización y división a partir del ovocito en estadio P1 (vesícula germinal) en humanos. **A:** Ovocito humano en estadio P1. El complejo cúmulo-corona se puede apreciar. **B:** Expansión de las células del cúmulo. **C:** Finalización de la segunda división meiótica tras el cultivo *in vitro*. **D:** Ovocito detenido en metafase I. **E:** Zigoto fertilizado (distinguibles los dos pronúcleos). **F:** Embrión en segmentación tras 42 h de la ICSI. Magnitudes originales de **A, C, D, E, F:** 3320; **B:** 3200. Bar 5 32 mm. (Goud *et al.*, 1998)

De manera general, son diversos los estudios que han demostrado que los ovocitos humanos en profase I pueden ser obtenidos tanto de ovarios estimulados como no estimulados, teniendo una capacidad de maduración *in vitro* similar (Chung *et al.*, 2000). De hecho, tras procesar la corteza ovárica para su posterior criopreservación podemos obtener ovocitos profase I que podemos criopreservar antes o después de la MIV con el fin de disponer de un mayor número de ovocitos almacenados para su posterior utilización.

En el momento actual, se desconoce todavía si la MIV se debe realizar antes o después de la vitrificación ya que existen resultados contradictorios en relación con el estadio madurativo más adecuado para realizar la vitrificación. Por un lado, podemos vitrificar PI o VG madurados *in vitro* hasta MII y vitrificarlos en este estadio o bien vitrificar ovocitos PI o VG y realizar la MIV tras la desvitrificación de estos ovocitos. En relación con las tasas de supervivencia de los ovocitos tras la desvitrificación en función de su estadio madurativo inicial, Molina *et al* 2016, observaron unas tasas de supervivencia tras la desvitrificación muy similares para los ovocitos MIV antes o después de la vitrificación. Estos resultados coinciden con los obtenidos por Kasapi *et al* (2017) que manifestaron que no había diferencias significativas en la tasa de supervivencia en los ovocitos madurados *in vitro* antes o después de la vitrificación.

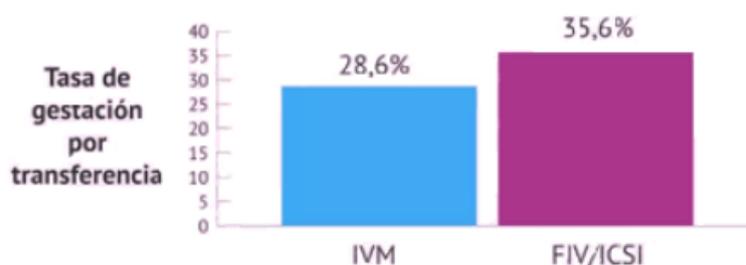
Sin embargo, los estudios realizados por A Lee *et al.* (2014) indicaban que se obtenían unas mayores tasas de supervivencia tras la vitrificación y desvitrificación de ovocitos PI en relación con las obtenidas al vitrificar y desvitrificar ovocitos MII que previamente habían sido MIV (63.8% vs 33.3%).

En cuanto al proceso de maduración de los ovocitos *in vivo* e *in vitro*, se destacan algunas diferencias que podrían explicar la menor capacidad reproductiva de estos ovocitos madurados *in vitro*. En condiciones fisiológicas, el ovocito completamente desarrollado dentro del folículo permanece detenido en la etapa GV (profase I) hasta el aumento de LH. Sin embargo, los ovocitos inmaduros recuperados de pequeños folículos comienzan la maduración nuclear espontáneamente *in vitro*, lo cual lleva a una ruptura prematura de estructuras morfológicas

como las uniones entre las células del complejo corona-cúmulo-ovocito, con la consecuente pérdida de proteínas, sustratos, y nutrientes que se requieren para lograr un desarrollo embrionario adecuado (Son *et al.*,2019).

Los resultados de los estudios destacaron también las diferencias entre las tasas de maduración y desarrollo embrionario, así como tasas de embarazo posteriores tras la desvitrificación. Kasapi *et al.*(2017) obtuvieron una tasa de maduración significativamente mayor en el grupo donde los ovocitos se vitrificaron después de MIV (metafase II) (82,9%) en comparación a ovocitos vitrificados en estadio GV o profase I (51%) aunque Molina *et al.* informaron de unas mayores tasas de MIV y desarrollo embrionario posterior para los ovocitos vitrificados en PI y posteriormente madurados *in vitro*, debido a una activación de la maduración ovocitaria determinada por el choque osmótico producido durante el proceso de la vitrificación. No obstante, en el momento actual todavía existe una gran controversia en relación con el momento más adecuado para realizar la criopreservación de los ovocitos inmaduros, ya que no existen todavía resultados consistentes en relación con las tasas de desarrollo embrionario de los ovocitos madurados *in vitro* antes o después de la vitrificación.

Finalmente hay que indicar que esta técnica de PF se considera todavía una técnica experimental debido al bajo número de estudios que utilizan ovocitos MIV, así como los datos sobre las tasas de implantación y embarazo que son significativamente más bajas que con la FIV estándar. Como indica el informe de la SEF (2018), solo se registraron 9 ciclos de MIV en este año, de los cuales 7 tuvieron transferencia y se produjeron 2 gestaciones (28,6 % de gestaciones por transferencia) (Figura 15). Todo ello manifiesta la necesidad de una mayor investigación que permita llegar a considerar la MIV como una técnica de utilidad clínica para la PF de la mujer.



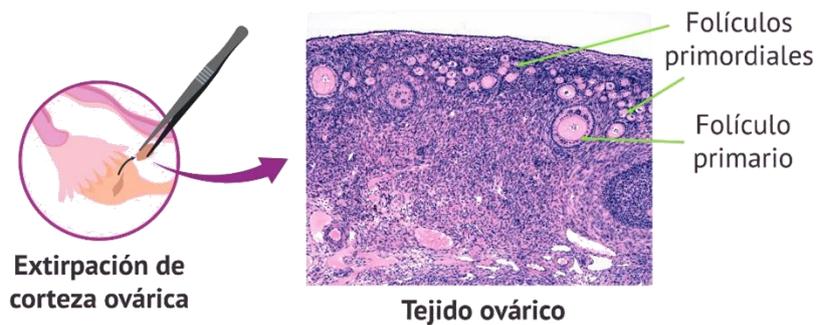
**Figura 15.** Comparación del porcentaje de éxito de la tasa de gestación por transferencia entre la técnica convencional FIV-ICSI y la técnica de Maduración in vitro (IVM) según la Sociedad Española de Fertilidad en el año 2018 (SEF)

### 2.1.5 CONGELACIÓN Y TRASPLANTE DE CORTEZA OVÁRICA

Actualmente es una técnica experimental, aunque esta situación se puede ir modificando en función de que las tasas de éxito vayan aumentando. No se requiere HOC pero se necesita cirugía laparoscópica ambulatoria para la extracción del tejido ovárico y posterior trasplante. No es necesario retrasar significativamente el inicio de la quimioterapia y además es una técnica que no requiere de pareja masculina o donante de esperma. Esta técnica puede estar contraindicada en algunas pacientes con riesgo de metástasis de ovario como Leucemia, neuroblastoma o cáncer de mama, por lo que las alternativas a esta técnica deben ser

consideradas a la hora de realizar el reimplante, ya que puede darse la reinserción de células malignas, siendo necesario un análisis histológico. (Seshadri *et al.*, 2006).

La criopreservación de tejido ovárico (CTO) implica la extracción de parte o de todo el ovario y se corta en tiras delgadas, donde se encuentran los folículos primordiales y primarios que queremos preservar y se corta en tiras delgadas (Figura 16). Posteriormente se realiza una congelación lenta y/o vitrificación y son almacenados en el Banco de Tejidos hasta su posterior utilización. Cuando la paciente ha superado la enfermedad, puede procederse al descongelado y subsecuente autotransplante (ortotópico o heterotópico), de manera que se evitan terapias inmunosupresoras.



**Figura 16.** Esquema histológico de la corteza ovárica, presencia de folículos primordiales y primarios (Reproducción asistida ORG, 2020)

La congelación lenta es el método más ampliamente aceptado para la criopreservación del tejido ovárico, aunque actualmente se están realizando estudios para vitrificar muestras de tejido ovárico con el fin de mejorar los resultados tras la descongelación y posterior trasplante (Jones y Shikanov, 2020). Además, mediante la utilización de esta técnica, se pueden preservar un gran número de folículos primordiales de forma más eficaz que en el caso de la criopreservación individualizada de ovocitos (Lotz *et al.*, 2019).

Durante la CTO, debido a que este tejido cuenta con un alto contenido en folículos, es posible aspirar ovocitos inmaduros de los folículos antrales del tejido ovárico que se pueden criopreservar o madurar *in vitro* para su vitrificación posterior. En relación con los folículos obtenidos de la corteza ovárica, también se podría recurrir a la activación y/o cultivo *in vitro* de folículos ováricos (Telfer y Andersen, 2021) aunque estas últimas metodologías las desarrollaremos más adelante en el apartado de técnicas emergentes.

En cuanto a resultados, algunos estudios reportan casos de éxitos con el trasplante de tejido ovárico criopreservado, que pueden resultar prometedores. En 2011 se reportaron 15 nacimientos después del trasplante de tejido ovárico fresco o congelado/descongelado (Donnez y Dolmans, 2011). La realización de estudios con un número más elevado de casos en países como Bélgica, Dinamarca, Estados Unidos y España nos permitirá conocer de forma más exacta las tasas de éxito obtenidas tras la criopreservación y trasplante de tejido ovárico. Un metaanálisis realizado en 2017 mostró que la tasa acumulada de nacidos vivos fue de aproximadamente un 38% (Pacheco y Oktay, 2017). Recientemente, con los avances en investigación y la mejora de la técnica se han reportado más de 130 nacidos vivos en el mundo

y con una tasa de natalidad del 30% (Lotz *et al.*,2019) aunque hay que considerar que se desconoce el número real de casos a falta de un registro internacional.

Un aspecto a destacar de la técnica del trasplante de corteza ovárica es la reanudación del desarrollo folicular y recuperación de la función del tejido ovárico en un periodo de aproximadamente de 4 a 5 meses. Según diversos estudios la función ovárica puede restaurarse entre un 63% a un 95% de las pacientes (Pacheco y Oktay, 2017; Gellert *et al.*,2018). Además, la duración media de la función ovárica tras el trasplante es de 2 a 5 años en promedio (Donnez y Dolmans, 2015; Gellert *et al.*2018). Sin embargo, dependerá del número de folículos en el tejido ovárico y de la edad de la mujer en el momento de la criopreservación.

La ASCO ha actualizado su declaración sobre la congelación y trasplante de corteza ovárica (CTCO) reconociendo que puede restaurar la función ovárica global y que ahora se considera una opción estándar en algunos países. Continúan considerando la CTO, como experimental, pero reconoce que podría ser útil para pacientes que no quieran retrasar el tratamiento.

En general, aunque esta técnica todavía se considera experimental, actualmente es la única opción para pacientes pediátricos y para pacientes con enfermedades hormono-dependientes, ya que es independiente de HOC y no retrasa el tratamiento oncológico (Dolmans *et al.*, 2005; Donnez *et al.*, 2006a). Entre las desventajas se destaca que es un procedimiento invasivo, ya que requiere anestesia general para extirpar quirúrgicamente el tejido ovárico. Además, existe la preocupación de reintroducir células cancerígenas en la paciente que ya ha superado el cáncer o la posterior transformación maligna del tejido ovárico, que ya ha sido reportada. Por todo ello, es importante realizar estudios a largo plazo con un gran número de pacientes que permita optimizar el procedimiento y asegurar el potencial de este procedimiento.

## **2.2 OPCIONES DE FUTURO: TÉCNICAS EMERGENTES**

Los avances en los tratamientos oncológicos han permitido una mayor supervivencia entre las mujeres prepúberes y las mujeres jóvenes. Sin embargo, como se ha tratado en esta revisión, las terapias pueden llegar a deteriorar la función ovárica y por ende, afectar a la fertilidad futura en las pacientes. En la actualidad existen numerosos tratamientos para la preservación de la fertilidad que actúan de manera eficiente y ofrecen la oportunidad de cumplir el deseo de maternidad en un futuro. Sin embargo, todavía existe controversia en cuanto a la aplicación de algunas técnicas y su efectividad por lo que se requiere la realización de trabajos de investigación que permitan el desarrollo de nuevas técnicas de preservación de la fertilidad con el fin de mejorar las tasas de éxito. En este punto se abordarán las técnicas emergentes que en un futuro podrían ser de gran valor clínico, solventando algunas incompatibilidades de las técnicas actuales.

### **2.2.1 ACTIVACIÓN DE FOLÍCULOS OVÁRICOS**

El tejido ovárico criopreservado de pacientes prepúberes y pacientes con FOP contiene folículos primordiales inmaduros, que deben activarse para comenzar a desarrollarse. Esto puede inducirse tanto *in vivo* como *in vitro*.

La técnica de activación *in vitro* de folículos (IVA) es un método que se ha presentado como una estrategia innovadora. Esta técnica permite controlar la activación de los folículos primordiales con el fin de conseguir el desarrollo folicular en condiciones *in vitro* de manera que nos permita obtener ovocitos maduros para su futura utilización en TRA (Leey y Chang, 2019). Dado que las estrategias actuales de estimulación hormonal son solo efectivas para los folículos en crecimiento, los folículos primordiales en estado latente no se activan y no pueden resultar de utilidad clínica.

La base biológica a nivel de activación de los folículos primordiales todavía se desconoce, pero los avances en este campo de la investigación han permitido desarrollar fármacos que estimulan *in vitro* al tejido ovárico previamente criopreservado para su posterior trasplante (Suzuki *et al.*,2015). Recientemente esta tecnología se ha implementado con éxito en humanos y se estiman aproximadamente más de 10 nacidos vivos (Li *et al.*,2010).

En otros estudios, se informó sobre el éxito de una estimulación del crecimiento folicular mediante la fragmentación del tejido ovárico incluso en ausencia de fármacos estimulantes IVA (Fabregues *et al.*, 2018).

En cuanto a las limitaciones de esta técnica, existen posibles efectos nocivos de la aplicación de los fármacos IVA y los resultados son todavía limitados y aunque son alentadores, no pueden compararse con el éxito que otras técnicas aportan en la actualidad. Sin embargo, esta técnica podría proporcionar una opción prometedora para la PF en las pacientes con cáncer y niñas prepúberes en las que únicamente puede aplicarse la criopreservación del tejido ovárico.

### **2.2.2 CULTIVO DE FOLÍCULOS *IN VITRO***

Esta técnica puede ser una opción de futuro para pacientes que requieren tratamiento oncológico urgente y, por tanto, no son buenos candidatos para la criopreservación de ovocitos o embriones, como los pacientes con leucemia aguda o leucemia mieloblástica aguda (LMA). Aunque actualmente la criopreservación de corteza ovárica (CTO) es la opción disponible para este tipo de pacientes, existe la posibilidad de volver a sembrar células cancerosas originales del tejido ovárico y, por lo tanto, es necesario plantear otras alternativas.

El cultivo de folículos ováricos *in vitro* tiene como objetivo mitigar el riesgo de reimplantar células malignas del tejido ovárico criopreservado. Por tanto, es útil en pacientes con cánceres cuyas metástasis aparecen frecuentemente en el ovario o pacientes con mutaciones BRAC1 y BRAC2, debido al mayor riesgo de un cáncer de ovario, que no haría posible el trasplante de corteza ovárica criopreservada (Del-Pozo-Lérida *et al.*,2019 ). Sin embargo, la maduración completa de los folículos primordiales aún no se ha logrado en humanos (Ben-Aharon *et al.*,2016).

En este procedimiento, los folículos son aislados individualmente del tejido criopreservado del banco de tejidos correspondiente al paciente, posteriormente se madura *in vitro* hasta conseguir el desarrollo de ovocitos maduros. Por lo tanto, en los casos en los que las técnicas de trasplante de corteza ovárica estén contraindicadas, esta técnica ofrece la posibilidad de restaurar la fertilidad, ya sea mediante una maduración *in vitro* de los ovocitos aspirados de los

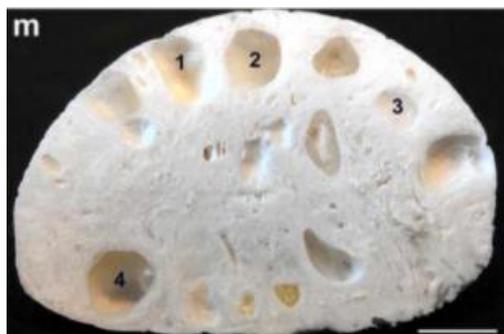
folículos en crecimiento *in vitro* (MIV) o bien mediante el crecimiento completo *in vitro* (GIV) de folículos primordiales para la obtención de ovocitos en metafase II maduros (Telfer y Andersen,2021).

Ambas técnicas permitirían un aumento de los ovocitos disponibles maximizando el potencial reproductivo para todas aquellas pacientes que deciden acceder a la preservación de la fertilidad.

### 2.2.3 OVARIOS ARTIFICIALES

La creación de un ovario artificial para trasplante es una técnica muy prometedora para restaurar la fertilidad. Los folículos preantrales aislados obtenidos del tejido ovárico criopreservado, junto con otras células ováricas organizadas en una matriz tridimensional dan como resultado un entorno similar al ovario, que podría permitir el crecimiento de los folículos y, por lo tanto, podría restaurar tanto la fertilidad como la función endocrina del ovario una vez trasplantados (Kim *et al.*,2016).

Estudios experimentales como los de Luyckx *et al.*, (2014) lograron la supervivencia y el crecimiento de folículos ováricos de ratón, tanto de folículos primarios, secundarios como antrales, dentro de la semana siguiente al trasplante de células ováricas en una matriz de fibrina. Además, Laronda *et al.* (2015) lograron el inicio de la pubertad en ratones ovariectomizados (ratones a los que se les ha extirpado ambos ovarios) tras el trasplante de ovario artificial de bovino obtenido por técnica de descelularización como matriz base (Figura 17).



**Figura 17.** Se descelularizó un ovario bovino completo en SDS al 0,1% durante 28 días. Barra de escala, 5 mm. Poros visibles donde un gran folículo reclutable (3: 2,3 mm), folículos maduros y maduros (1: 4,1 mm, 2: 3,6 mm, 4: 4,3 mm) se mantienen dentro de la matriz extracelular (ECM). Laronda *et al.* (2015)

Estos avances suponen el desarrollo de nuevas estrategias de posible aplicación clínica en el campo de la preservación de la fertilidad que en un futuro podrían ser de gran utilidad para pacientes que no cumplan los requisitos para someterse a las técnicas actuales. Sin embargo, se deben desarrollar nuevas estrategias en materia de investigación que permitan el mantenimiento a largo plazo de las estructuras endocrinas de estos ovarios artificiales. A pesar de ello, se trata de una técnica emergente que podría ser viable en un futuro no muy lejano.

## V. CONCLUSIÓN

Los métodos de preservación de la fertilidad avanzan cada vez más y son de gran valor clínico para aquellas pacientes con cáncer que deben someterse a tratamientos gonadotóxicos, los cuales afectan a su futura fertilidad, así como para aquellas mujeres que por causas sociales deseen postergar su maternidad. El papel de las unidades de reproducción asistida y los oncólogos es fundamental en la actualidad y se manifiesta en la creciente necesidad de instaurar nuevas metodologías, técnicas, así como asesoramientos más adecuados que ofrezcan tanto a este tipo de pacientes como a los equipos multidisciplinares la información y capacidad necesaria para la individualización y elección de la estrategia más apropiada.

Actualmente la técnica mayormente establecida a nivel clínico y más aceptada es la criopreservación de embriones y ovocitos, pues es considerada por las sociedades científicas como eficaz, fiable y no experimental, mostrando tasas de supervivencia, fecundación e implantación iguales a los de ovocitos frescos, siempre y cuando las pacientes no tengan un cáncer hormonodependiente que contraindique la HOC y/o la necesidad de instaurar el tratamiento oncológico de forma urgente. Además, es un método apto para las niñas prepúberes. Otra de las técnicas más prometedoras es la maduración *in vitro* de ovocitos, pues podría resolver las anteriores contraindicaciones además de solventar el problema en mujeres con predisposición a POF y no requerir de semen masculino, al igual que la ovodonación. Sin embargo, no se supera el porcentaje de éxito respecto a la técnica convencional de FIV-ICSI. Una de las técnicas experimentales más presentes es la criopreservación de la corteza ovárica, la principal elección en las niñas prepúberes, pues permiten una futura restauración de la función ovárica tras completar el tratamiento oncológico, pero cuenta con un riesgo de reinserción del cáncer, por lo que se requiere más fiabilidad e investigación.

Son múltiples las opciones que se han desarrollado a lo largo de los años en el ámbito de las TRA para la preservación de la fertilidad, pero aún son muchos los casos de aplicación de estas técnicas que requieren más investigación. Mediante la combinación de varias técnicas y modalidades de preservación de la fertilidad puede conseguirse una mayor eficacia en estas pacientes. Además, los avances de las técnicas emergentes como la activación y/o maduración de los folículos *in vitro* y ovarios artificiales, podrían llegar a consolidar unas estrategias futuras seguras. Por todo ello es fundamental investigar y maximizar la obtención de resultados y estudios con el fin de potenciar los avances en esta área.

## VI. BIBLIOGRAFÍA

AECC, Asociación Española Contra el Cáncer (2019). AECC Observatorio. *Datos cáncer de mama 2019.visto el 3 de marzo de 2021*, [https://www.aecc.es/sites/default/files/content-file/Datos-cancer-mama\\_2019\\_0.pdf](https://www.aecc.es/sites/default/files/content-file/Datos-cancer-mama_2019_0.pdf)

Albarracín, J. L., Morató, R., Izquierdo, D., & Mogas, T. (2005). Vitrification of calf oocytes: effects of maturation stage and prematuration treatment on the nuclear and cytoskeletal components of oocytes and their subsequent development. *Molecular reproduction and development*, 72(2), 239-249.

Alkabban, F. M., & Ferguson, T. (2020). Breast Cancer. In *StatPearls*. StatPearls Publishing.

AMERICAN CANCER SOCIETY (ACS). *Hormone therapy for breast cancer*, visto el 7 de mayo de 2021, <https://www.cancer.org/cancer/breast-cancer/treatment/hormone-therapy-for-breast-cancer.html>

Anderson, R. A., Mitchell, R. T., Kelsey, T. W., Spears, N., Telfer, E. E., & Wallace, W. H. B. (2015). Cancer treatment and gonadal function: experimental and established strategies for fertility preservation in children and young adults. *The lancet Diabetes & endocrinology*, 3(7), 556-567.

Antinori, M., Licata, E., Dani, G., Cerusico, F., Versaci, C., & Antinori, S. (2007). Cryotop vitrification of human oocytes results in high survival rate and healthy deliveries. *Reproductive BioMedicine Online*, 14(1), 72-79.

Argyle, C. E., Harper, J. C., & Davies, M. C. (2016). Oocyte cryopreservation: where are we now? *Human reproduction update*, 22(4), 440-449.

ASCO, AMERICAN SOCIETY OF CLINICAL ONCOLOGY (2020). *Doctor-Approved Patient Information*, visto el 5 de mayo de 2021, <https://www.cancer.net/cancer-types/breast-cancer/types-treatment>

ASRM, Ethics Committee of the American Society for Reproductive Medicine (2013). Fertility preservation and reproduction in patients facing gonadotoxic therapies: a committee opinion. *Fertility and Sterility*, 100(5), 1224-1231.

Ben-Aharon, I., Abir, R., Perl, G., Stein, J., Gilad, G., Toledano, H., ... & Ash, S. (2016). Optimizing the process of fertility preservation in pediatric female cancer patients—a multidisciplinary program. *BMC cancer*, 16(1), 1-9.

Camus, I. A. (2010). Preservación de la fertilidad en la mujer. *Revista Médica Clínica Las Condes*, 21(3), 440-449.

Chen, S. U., Lien, Y. R., Chao, K. H., Lu, H. F., Ho, H. N., & Yang, Y. S. (2000). Cryopreservation of mature human oocytes by vitrification with ethylene glycol in straws. *Fertility and sterility*, 74(4), 804-808.

Chung, H. M., Hong, S. W., Lim, J. M., Lee, S. H., Cha, W. T., Ko, J. J., ... & Cha, K. Y. (2000). In vitro blastocyst formation of human oocytes obtained from unstimulated and stimulated cycles after vitrification at various maturational stages. *Fertility and Sterility*, 73(3), 545-551.

Cobo, A., Garrido, N., Pellicer, A., & Remohí, J. (2015). Six years' experience in ovum donation using vitrified oocytes: report of cumulative outcomes, impact of storage time, and

development of a predictive model for oocyte survival rate. *Fertility and sterility*, 104(6), 1426-1434.

Cobo, A., Vajta, G., & Remohí, J. (2009). Vitrification of human mature oocytes in clinical practice. *Reproductive biomedicine online*, 19, 85-103.

Comtet, M., Benard, J., & Grynberg, M. (2017). Preservación de la fertilidad femenina. *EMC-Ginecología-Obstetricia*, 53(1), 1-15.

Del-Pozo-Lérida, S., Salvador, C., Martínez-Soler, F., Tortosa, A., Perucho, M., & Giménez-Bonafé, P. (2019). Preservation of fertility in patients with cancer. *Oncology reports*, 41(5), 2607-2614.

Dobrinsky, J. R. (1996). Cellular approach to cryopreservation of embryos. *Theriogenology*, 45(1), 17-26.

Dolmans, M. M., Demylle, D., Martinez-Madrid, B., & Donnez, J. (2005). Efficacy of in vitro fertilization after chemotherapy. *Fertility and sterility*, 83(4), 897-901.

Donnez, J., & Dolmans, M. M. (2011). Preservation of fertility in females with haematological malignancy. *British journal of haematology*, 154(2), 175-184.

Donnez, J., & Dolmans, M. M. (2015). Ovarian cortex transplantation: 60 reported live births brings the success and worldwide expansion of the technique towards routine clinical practice. *Journal of assisted reproduction and genetics*, 32(8), 1167-1170.

Donnez, J., Dolmans, M. M., Demylle, D., Jadoul, P., Pirard, C., Squifflet, J., ... & Van Langendonck, A. (2006). Restoration of ovarian function after orthotopic (intraovarian and periovarian) transplantation of cryopreserved ovarian tissue in a woman treated by bone marrow transplantation for sickle cell anaemia: case report. *Human reproduction*, 21(1), 183-188.

Dunlop, C. E., & Anderson, R. A. (2015). Uses of anti-Müllerian hormone (AMH) measurement before and after cancer treatment in women. *Maturitas*, 80(3), 245-250.

Durrani, S., & Heena, H. (2020). Controversies Regarding Ovarian Suppression and Infertility in Early-Stage Breast Cancer. *Cancer management and research*, 12, 813.

ESHRE, European Society of Human Reproduction and Embryology (2020). *Guideline Female Fertility Preservation*. Visto el 12 de marzo de 2021, <https://www.eshre.eu/Guidelines-and-Legal/Guidelines/Female-fertility-preservation>

ESHRE, European Society of Human Reproduction and Embryology. *Donation of oocytes. A guide for women to support informed decisions* (2018). Visto el 27 de mayo de 2021, <https://www.edqm.eu/sites/default/files/booklet-donation-oocytes-august2018.pdf>

Fabregues, F., Ferreri, J., Calafell, J. M., Moreno, V., Borrás, A., Manau, D., & Carmona, F. (2018). Pregnancy after drug-free in vitro activation of follicles and fresh tissue autotransplantation in primary ovarian insufficiency patient: a case report and literature review. *Journal of ovarian research*, 11(1), 1-5.

Fuchinoue, K., Fukunaga, N., Chiba, S., Nakajo, Y., Yagi, A., & Kyono, K. (2004). Freezing of human immature oocytes using cryoloops with Taxol in the vitrification solution. *Journal of assisted reproduction and genetics*, 21(8), 307-309.

Gadducci, A., Cosio, S., & Genazzani, A. R. (2007). Ovarian function and childbearing issues in breast cancer survivors. *Gynecological endocrinology*, 23(11), 625-631.

Gardner, D. K., Sheehan, C. B., Rienzi, L., Katz-Jaffe, M., & Larman, M. G. (2007). Analysis of oocyte physiology to improve cryopreservation procedures. *Theriogenology*, 67(1), 64-72.

GEICAM, Fundación Grupo Español de Investigación en Cáncer de Mama (2021). *Preservación de la fertilidad*. Visto el 15 de marzo de 2021, <https://www.geicam.org/cancer-de-mama/tengo-cancer-de-mama/cancer-de-mama-y-embarazo/preservacion-de-la-fertilidad>

Gellert, S. E., Pors, S. E., Kristensen, S. G., Bay-Bjørn, A. M., Ernst, E., & Andersen, C. Y. (2018). Transplantation of frozen-thawed ovarian tissue: an update on worldwide activity published in peer-reviewed papers and on the Danish cohort. *Journal of assisted reproduction and genetics*, 35(4), 561-570.

Goldfarb, S. B., Kamer, S. A., Oppong, B. A., Eaton, A., Patil, S., Junqueira, M. J., Olcese, C., Kelvin, J. F., & Gemignani, M. L. (2016). Fertility Preservation for the Young Breast Cancer Patient. *Annals of surgical oncology*, 23(5), 1530–1536.

Gook, D. A., & Edgar, D. H. (2007). Human oocyte cryopreservation. *Human Reproduction Update*, 13(6), 591-605.

Goud, P. T., Goud, A. P., Qian, C., Laverge, H., Van der Elst, J., De Sutter, P., & Dhont, M. (1998). In-vitro maturation of human germinal vesicle stage oocytes: role of cumulus cells and epidermal growth factor in the culture medium. *Human reproduction (Oxford, England)*, 13(6), 1638-1644.

Gunnala, V., Fields, J., Irani, M., D'Angelo, D., Xu, K., Schattman, G., & Rosenwaks, Z. (2019). BRCA carriers have similar reproductive potential at baseline to noncarriers: comparisons in cancer and cancer-free cohorts undergoing fertility preservation. *Fertility and sterility*, 111(2), 363-371.

Hampe, M. E., & Rhoton-Vlasak, A. S. (2020). Fertility preservation in breast cancer with case-based examples for guidance. *Journal of assisted reproduction and genetics*, 37(3), 717-729.

Hill, K. A., Nadler, T., Mandel, R., Burlein-Hall, S., Librach, C., Glass, K., & Warner, E. (2012). Experience of young women diagnosed with breast cancer who undergo fertility preservation consultation. *Clinical breast cancer*, 12(2), 127-132.

Holesh, J. E., Bass, A. N., & Lord, M. (2020). Physiology, ovulation. *StatPearls [Internet]*.

IB, Instituto Bernabeu (2020). *Criterios para la clasificación de los embriones, Valoración embrionaria conforme día de desarrollo*. visto el 20 de mayo de 2021, <https://www.institutobernabeu.com/foro/criterios-para-la-clasificacion-de-los-embriones/comment-page-4/>

Jemal, A., Siegel, R., Ward, E., Hao, Y., Xu, J., Murray, T., & Thun, M. J. (2008). Cancer statistics, 2008. *CA: a cancer journal for clinicians*, 58(2), 71-96.

Jiménez, M. I. (2017). Estimulación ovárica en técnicas de reproducción humana asistida. *Reproducción humana y laboratorio clínico ed cont lab clín*; 32: 32 – 43.

Jones, A. S., & Shikanov, A. (2020). Ovarian Tissue Cryopreservation and Novel Bioengineering Approaches for Fertility Preservation. *Current Breast Cancer Reports*, 1-10.

Kasapi, E., Asimakopoulos, B., Chatzimeletiou, K., Petousis, S., Panagiotidis, Y., Prapas, N., & Nikolettos, N. (2017). Vitriification of human germinal vesicle oocytes: before or after in vitro maturation?. *International journal of fertility & sterility*, 11(2), 85.

Kim, S. Y., Kim, S. K., Lee, J. R., & Woodruff, T. K. (2016). Toward precision medicine for preserving fertility in cancer patients: existing and emerging fertility preservation options for women. *Journal of gynecologic oncology*, 27(2)

Kim, S. Y., Kim, S. K., Lee, J. R., & Woodruff, T. K. (2016). Toward precision medicine for preserving fertility in cancer patients: existing and emerging fertility preservation options for women. *Journal of gynecologic oncology*, 27(2).

Lambertini, M., Horicks, F., Del Mastro, L., Partridge, A. H., & Demeestere, I. (2019). Ovarian protection with gonadotropin-releasing hormone agonists during chemotherapy in cancer patients: from biological evidence to clinical application. *Cancer treatment reviews*, 72, 65-77.

Lambertini, M., Richard, F., Nguyen, B., Viglietti, G., & Villarreal-Garza, C. (2019). Ovarian function and fertility preservation in breast cancer: should gonadotropin-releasing hormone agonist be administered to all premenopausal patients receiving chemotherapy? *Clinical Medicine Insights: Reproductive Health*, 13, 1179558119828393.

Laronda, M. M., Jakus, A. E., Whelan, K. A., Wertheim, J. A., Shah, R. N., & Woodruff, T. K. (2015). Initiation of puberty in mice following decellularized ovary transplant. *Biomaterials*, 50, 20-29.

Lee, H. N., & Chang, E. M. (2019). Primordial follicle activation as new treatment for primary ovarian insufficiency. *Clinical and experimental reproductive medicine*, 46(2), 43.

Lee, J. A., Sekhon, L., Grunfeld, L., & Copperman, A. B. (2014). In-vitro maturation of germinal vesicle and metaphase I eggs prior to cryopreservation optimizes reproductive potential in patients undergoing fertility preservation. *Current Opinion in Obstetrics and Gynecology*, 26(3), 168-173.

Li, J., Kawamura, K., Cheng, Y., Liu, S., Klein, C., Liu, S., ... & Hsueh, A. J. (2010). Activation of dormant ovarian follicles to generate mature eggs. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(22), 10280-10284.

Lohrisch, C., Paltiel, C., Gelmon, K., Speers, C., Taylor, S., Barnett, J., & Olivotto, I. A. (2006). Impact on survival of time from definitive surgery to initiation of adjuvant chemotherapy for early-stage breast cancer. *Journal of clinical oncology*, 24(30), 4888-4894.

Lotz, L., Dittrich, R., Hoffmann, I., & Beckmann, M. W. (2019). Ovarian tissue transplantation: experience from Germany and worldwide efficacy. *Clinical Medicine Insights: Reproductive Health*, 13, 1179558119867357.

Luyckx, V., Dolmans, M. M., Vanacker, J., Legat, C., Moya, C. F., Donnez, J., & Amorim, C. A. (2014). A new step toward the artificial ovary: survival and proliferation of isolated murine follicles after autologous transplantation in a fibrin scaffold. *Fertility and sterility*, 101(4), 1149-1156.

Marcu, L. G., Santos, A., & Bezak, E. (2014). Risk of second primary cancer after breast cancer treatment. *European journal of cancer care*, 23(1), 51-64.

Martino, A., Songsasen, N., & Leibo, S. P. (1996). Development into blastocysts of bovine oocytes cryopreserved by ultra-rapid cooling. *Biology of Reproduction*, 54(5), 1059-1069.

Massarotti, C., Scaruffi, P., Lambertini, M., Sozzi, F., Remorgida, V., & Anserini, P. (2019). Beyond fertility preservation: role of the oncofertility unit in the reproductive and gynecological follow-up of young cancer patients. *Human reproduction (Oxford, England)*, 34(8), 1462–1469.

Molina, I., Gómez, J., Balasch, S., Pellicer, N., & Novella-Maestre, E. (2016). Osmotic-shock produced by vitrification solutions improves immature human oocytes in vitro maturation. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 14(1), 1-9.

Moore, H. C., Unger, J. M., Phillips, K. A., Boyle, F., Hitre, E., Moseley, A., ... & Albain, K. S. (2019). Final analysis of the prevention of early menopause study (POEMS)/SWOG intergroup S0230. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, 111(2), 210-213.

NATIONAL CENTER FOR CHRONIC DISEASE PREVENTION AND HEALTH PROMOTION (CDC)(2015). *Division of Reproductive Health, National Summary Report. Visto el 25 mayo de 2021, <https://www.cdc.gov/art/pdf/2015-report/art-2015-national-summary-report.pdf>*

Noyes, N., Hampton, B. S., Berkeley, A., Licciardi, F., Grifo, J., & Krey, L. (2001). Factors useful in predicting the success of oocyte donation: a 3-year retrospective analysis. *Fertility and sterility*, 76(1), 92-97.

Oktaý, K., & Bedoschi, G. (2016). Appraising the biological evidence for and against the utility of GnRH $\alpha$  for preservation of fertility in patients with cancer. *J Clin Oncol*, 34(22), 2563-2565.

Pacheco, F., & Oktaý, K. (2017). Current success and efficiency of autologous ovarian transplantation: a meta-analysis. *Reproductive Sciences*, 24(8), 1111-1120.

Peate, M., Meiser, B., Cheah, B. C., Saunders, C., Butow, P., Thewes, B., Hart, R., Phillips, K. A., Hickey, M., & Friedlander, M. (2012). Making hard choices easier: a prospective, multicentre study to assess the efficacy of a fertility-related decision aid in young women with early-stage breast cancer. *British journal of cancer*, 106(6), 1053–1061.

Porcu, E., Cillo, G. M., Cipriani, L., Sacilotto, F., Notarangelo, L., Damiano, G., ... & Roncarati, I. (2019). Impact of BRCA1 and BRCA2 mutations on ovarian reserve and fertility preservation outcomes in young women with breast cancer. *Journal of assisted reproduction and genetics*, 1-7.

Reproducción Asistida ORG (2020). *Proceso de vitrificación de ovocitos. Visto el 20 de mayo de 2021, <https://www.reproduccionasistida.org/congelacion-y-vitrificacion/proceso-de-vitrificacion-de-ovocitos/>*

Requena, A., Bronet, F., Guillén, A., Agudo, D., Bou, C., & García-Velasco, J. A. (2009). The impact of in-vitro maturation of oocytes on aneuploidy rate. *Reproductive biomedicine online*, 18(6), 777-783.

Rodgers, R. J., Reid, G. D., Koch, J., Deans, R., Ledger, W. L., Friedlander, M., Gilchrist, R. B., Walters, K. A., & Abbott, J. A. (2017). The safety and efficacy of controlled ovarian hyperstimulation for fertility preservation in women with early breast cancer: a systematic review. *Human reproduction (Oxford, England)*, 32(5), 1033–1045.

Rodriguez-Wallberg, K. A., & Oktaý, K. (2010). Fertility preservation in women with breast cancer. *Clinical obstetrics and gynecology*, 53(4), 753.

Rodriguez-Wallberg, K. A., & Oktaý, K. (2010). Fertility preservation in women with breast cancer. *Clinical obstetrics and gynecology*, 53(4), 753.

Roness, H., Kalich-Philosoph, L., Carmely, A., Fishel-Bartal, M., Ligumsky, H., Paglin, S., ... & Meirow, D. (2013). O-111 Cyclophosphamide triggers follicle activation causing ovarian reserve 'burn out'; AS101 prevents follicle loss and preserves fertility. *Human Reproduction*, 28(suppl\_1).

- Rubió, J. G., Cortés, F. F., & Ferrer, J. R. (2007). Inhibidores de la aromatasa en el tratamiento adyuvante de pacientes postmenopáusicas con cáncer de mama. Metanálisis. *Farmacía Hospitalaria*, 31(1), 5-16.
- Ruppert-Lingham, C. J., Paynter, S. J., Godfrey, J., Fuller, B. J., & Shaw, R. W. (2003). Developmental potential of murine germinal vesicle stage cumulus–oocyte complexes following exposure to dimethylsulphoxide or cryopreservation: loss of membrane integrity of cumulus cells after thawing. *Human Reproduction*, 18(2), 392-398.
- Ruppert-Lingham, C. J., Paynter, S. J., Godfrey, J., Fuller, B. J., & Shaw, R. W. (2003). Developmental potential of murine germinal vesicle stage cumulus–oocyte complexes following exposure to dimethylsulphoxide or cryopreservation: loss of membrane integrity of cumulus cells after thawing. *Human Reproduction*, 18(2), 392-398.
- Salama, M., & Woodruff, T. K. (2017). Anticancer treatments and female fertility: clinical concerns and role of oncologists in oncofertility practice. *Expert review of anticancer therapy*, 17(8), 687-692.
- Sauer, M. V., & Kavic, S. M. (2006). Oocyte and embryo donation 2006: reviewing two decades of innovation and controversy. *Reproductive biomedicine online*, 12(2), 153-162.
- Scarella Chamy, A., Díaz-García, C., Herraiz, S., & Kliemchen Rodrigues, J. (2017). Preservación de la fertilidad en la paciente oncológica. *Medwave*, 17(09).
- SEF, Sociedad Española de Fertilidad (2018). Registro Nacional de Actividad. *Informe estadístico de Técnicas de Reproducción Asistida 2018*. Visto el 27 de mayo de 2021, [https://www.registrosef.com/public/docs/sef2018\\_IAFIVm.pdf](https://www.registrosef.com/public/docs/sef2018_IAFIVm.pdf)
- SEOM, Sociedad de Oncología Médica (2021). Las cifras del cáncer en España 2021. Visto el 12 de marzo de 2021, [https://seom.org/images/Cifras\\_del\\_cancer\\_en\\_Espnaha\\_2021.pdf](https://seom.org/images/Cifras_del_cancer_en_Espnaha_2021.pdf)
- Seshadri, T., Gook, D., Lade, S., Spencer, A., Grigg, A., Tiedemann, K., ... & Seymour, J. F. (2006). Lack of evidence of disease contamination in ovarian tissue harvested for cryopreservation from patients with Hodgkin lymphoma and analysis of factors predictive of oocyte yield. *British journal of cancer*, 94(7), 1007-1010.
- Shandley, L. M., Spencer, J. B., Fothergill, A., Mertens, A. C., Manatunga, A., Paplomata, E., & Howards, P. P. (2017). Impact of tamoxifen therapy on fertility in breast cancer survivors. *Fertility and sterility*, 107(1), 243-252.
- Shaw, J. M., Cox, S. L., Trounson, A. O., & Jenkin, G. (2000). Evaluation of the long-term function of cryopreserved ovarian grafts in the mouse, implications for human applications. *Molecular and cellular endocrinology*, 161(1-2), 103-110.
- Shin, J. J., Choi, Y. M., Jun, J. K., Lee, K. H., Kim, T. Y., Han, W., & Im, S. A. (2020). Effect of Timing of Gonadotropin-Releasing Hormone Agonist Administration for Ovarian Protection in Patients with Breast Cancer. *Journal of Breast Cancer*, 23(3), 268.
- Son, W. Y., & Tan, S. L. (2010). Laboratory and embryological aspects of hCG-primed in vitro maturation cycles for patients with polycystic ovaries. *Human reproduction update*, 16(6), 675–689.
- Son, W. Y., Henderson, S., Cohen, Y., Dahan, M., & Buckett, W. (2019). Immature oocyte for fertility preservation. *Frontiers in endocrinology*, 10, 464.

Sonigo, C., Grynberg, M., Bringer, S., & Sermondade, N. (2019). Oncofertility and breast cancer. *Bulletin du cancer*, 106(12S1), S43-S52.

Sonmezer, M., & Oktay, K. (2004). Fertility preservation in female patients. *Human reproduction update*, 10(3), 251-266.

Suzuki, N., Yoshioka, N., Takae, S., Sugishita, Y., Tamura, M., Hashimoto, S., ... & Kawamura, K. (2015). Successful fertility preservation following ovarian tissue vitrification in patients with primary ovarian insufficiency. *Human reproduction*, 30(3), 608-615.

Taylan, E., & Oktay, K. H. (2017). Current state and controversies in fertility preservation in women with breast cancer. *World journal of clinical oncology*, 8(3), 241.

Telfer, E. E., & Andersen, C. Y. (2021). In vitro growth and maturation of primordial follicles and immature oocytes. *Fertility and Sterility*.

Wang, E. T., Pisarska, M. D., Bresee, C., Chen, Y. D. I., Lester, J., Afshar, Y., ... & Karlan, B. Y. (2014). BRCA1 germline mutations may be associated with reduced ovarian reserve. *Fertility and sterility*, 102(6), 1723-1728.

WHO, World Health Organization (2020). International Agency for Research on Cancer. Global Cancer Today. Estimated age-standardized incidence rates (World) in 2020, worldwide, both sexes, all ages. Visto el 12 de marzo de 2021, <https://gco.iarc.fr/today/home>

## VII. ANEXO

**Tabla 1. TABLA COMPARATIVA DE LAS OPCIONES DE PRESERVACIÓN DE LA FERTILIDAD EN PACIENTES CON CÁNCER DE MAMA Y OVARIO.** A partir del análisis de la información obtenida en este trabajo, se disponen en una tabla comparativa las diferentes técnicas de PF para las pacientes oncológicas y se ordenan desde la técnica más establecida a la de carácter más experimental, donde se describen las características según el tipo de paciente, tiempo requerido para la técnica, así como efectividad de esta y las tasas obtenidas en los diferentes estudios de la revisión.

**Tabla 1.** Tabla comparativa de las opciones de preservación de la fertilidad en pacientes con cáncer de mama y ovario

OPCIÓN PF	PRÁCTICA	TIPO DE PACIENTE	TIEMPO	EFFECTIVIDAD	TASAS
<b>VITRIFICACIÓN DE EMBRIONES</b>	Estándar	No hormonodependientes, No prepuberales Mujeres jóvenes con buena reserva ovárica Posibilidad retraso de tratamiento	Sí retraso del tratamiento: Previa hiperestimulación ovárica controlada (COS) (2-4 semanas)  Técnica FIV-ICSI	La más efectiva	TS del embrión tras la desvitrificación: 90% (Gardner <i>et al.</i> , 2007). TG: 54,6% (ESHRE,2015) TNV: 44,3% (ESHRE,2015)
<b>VITRIFICACIÓN DE OVOCITOS MADUROS</b>	Estándar	No hormonodependientes, No prepuberales Mujeres jóvenes con buena reserva ovárica Posibilidad retraso de tratamiento Sin necesidad de semen masculino	Sí retraso del tratamiento: Previa hiperestimulación ovárica controlada (COS) (2-4 semanas)	Efectiva	TS del ovocito tras la desvitrificación: 90% (García <i>et al.</i> , 2009; Martínez-Burgos <i>et al.</i> , 2010) TG: 29,3% (CDC,2015) TNV: 22,7% (CDC, 2015)
<b>OVODONACIÓN</b>	Estándar	Cualquier condición Insuficiencia ovárica prematura	Inmediato, No retraso del tratamiento	Efectiva	TS del ovocito donado tras la desvitrificación: 90% (Cobo <i>et al.</i> ,2015) TG: 55,1% (SEF,2018) TNV: 30% (SEF,2018)
<b>VITRIFICACIÓN DE OVOCITOS INMADUROS</b>	Experimental	Paciente hormonodependiente Prepuberales Sin pareja Sin posibilidad de retraso en el tratamiento	Inmediato, No retraso del tratamiento	Bajos casos reportados	TS del ovocito inmaduro desvitrificado: 95,5% (Molina <i>et al.</i> ,2016) vs 63,8% (Lee <i>et al.</i> ,2014) TS del ovocito MIV y desvitrificado:96,3% (Molina <i>et al.</i> ,2016) vs 33.3% (Lee <i>et al.</i> ,2014) TG: 28,6% (SEF,2018) TNV: 28,6% (SEF,2018)

**Tabla 1.** Tabla comparativa de las opciones de preservación de la fertilidad en pacientes con cáncer de mama y ovario

<p><b>CONGELACIÓN Y TRASPLANTE TEJIDO OVÁRICO</b></p>	<p>Experimental</p>	<p>Contraindicada en pacientes riesgo metastásico o cánceres hematológicos Pacientes hormonodependiente Prepuberales Sin posibilidad de retraso en el tratamiento</p>	<p>Inmediato, No retraso del tratamiento  Intervención quirúrgica</p>	<p>Bajos casos reportados</p>	<p>TNV en todo el mundo: 30-38% (Donnez y Dolmans, 2011; Pacheco y Oktay, 2017) Restauración de la función ovárica en la paciente tras reinsertar tejido criopreservado: 63-95% (Gellert <i>et al.</i>,2018).</p>
---	---------------------	---	---	-----------------------------------	---

TS: Tasa de supervivencia  
TG: Tasa de gestación  
TNV: Tasa de nacidos vivos  
MIV: Maduración *in vitro*