



MESA REDONDA. ASPECTOS ENDOCRINOLÓGICOS DE LA PATOLOGÍA OVÁRICA

Semiología y exploración ginecológica en la infancia y adolescencia

J.L. Dueñas Díez

UGC/Servicio de Obstetricia y Ginecología, Hospital Universitario Virgen Macarena, Universidad de Sevilla, Servicio Andaluz de Salud, Sevilla, España

Semiología del aparato genital femenino

Los síntomas que con mayor frecuencia se relacionan con la patología del aparato genital durante la infancia y la adolescencia de la mujer son el dolor pélvico, la leucorrea, el prurito y el sangrado.

Dolor pélvico

El dolor pélvico agudo se define, de forma arbitraria, como el que tiene menos de una semana de duración, por su intensidad constituye una urgencia, suele tener un carácter progresivo y se acompaña con mucha frecuencia de otros síntomas asociados¹. Cuando el dolor pélvico tiene una duración superior a 3 meses se considera crónico. Las causas de dolor pélvico pueden ser debidas a la existencia de patología extragenital y tener como origen el aparato gastrointestinal (apendicitis, gastroenteritis, enfermedad de Chron u obstrucción intestinal, como causas de dolor pélvico agudo o estreñimiento, presencia de fecalomas, diverticulitis, alergias alimentarias o colon irritable como causas frecuentes de dolor crónico), el aparato urinario (cistitis, uretritis, pielonefritis o infecciones crónicas del tracto urinario), el sistema osteoarticular, ser de origen psicológico o incluso una manifestación de abusos sexuales. Las causas relacionadas con el aparato genital son en muchos casos comunes para el dolor pélvico agudo y el crónico, como la dismenorrea, el dolor ovulatorio, la presencia de quistes del cuerpo lúteo, tumores y quistes del ovario, endometriosis, malformaciones congénitas del aparato genital, enfermedad pélvica inflamatoria, infecciones genitales y algunas complicaciones de la gestación, como el aborto o el embarazo ectópico.

Leucorrea y prurito

Con mucha frecuencia, en la recién nacida, se observa la emisión de un exudado blanquecino, de aspecto mucoso y sin olor, de una semana de duración que es debido al cese de la influencia de los estrógenos maternos que actuaban durante la vida intrauterina. Incluso en ocasiones puede tener un aspecto sanguinolento. Durante la pubertad comienza a aparecer un exudado vaginal en respuesta al incremento en esta etapa de los estrógenos circulantes. Puede ser incluso abundante antes de la menarquía y está compuesto de células vaginales descamadas, trasudado vaginal y moco endocervical. En ambos casos se considera fisiológico y no requiere ni examen clínico ni tratamiento.

Por el contrario, la presencia de leucorrea, término que define alteraciones tanto cuantitativas como cualitativas (aspecto, coloración, olor) del exudado vaginal, puede ser el resultado de diferentes patologías, como la presencia de cuerpos extraños en la vagina, síntoma de abusos sexuales, infecciones (vulvovaginitis, infecciones de transmisión sexual, vulvitis) y traumatismos genitales, patología uretral, pubertad precoz, tumores (hemangioma vulvar, sarcoma botrioides) o incluso tener un origen iatrogénico.

El prurito suele ser un síntoma que con frecuencia acompaña a la leucorrea, especialmente en las infecciones genitales de los tramos inferiores del aparato reproductor. También puede ser un síntoma aislado causado por la existencia de patología infecciosa local (oxiuros, pediculosis, candidiasis), distrofias vulvares o enfermedades sistémicas, como las alteraciones del metabolismo hidrocárbónico, déficits vitamínicos, enfermedades carenciales, alergias, etc.

Correo electrónico: jduenas@meditex.es

Sangrado

Hasta la aparición de la menarquia cualquier sangrado debe considerarse intempestivo y susceptible de ser evaluado y, en muchas ocasiones, investigado. Durante la etapa prepupal las causas orgánicas más frecuentes son las lesiones vulvo-vaginales, la presencia de cuerpos extraños en la vagina, la pubertad precoz y la existencia de algunos tumores raros, pero muy específicos de esta etapa de la vida, como son los hemangiomas del área genital, neoplasias, como el sarcoma botrioides, los tumores de las células germinales del ovario, el rhabdomyosarcoma y el adenocarcinoma de células claras de la vagina, observado este último con frecuencia en las hijas de mujeres tratadas con dietil-estilbestrol durante el embarazo. No hay que olvidar las causas iatrogénicas, la mayor parte de las veces relacionadas con la administración accidental de estrógenos por vía tópica, los abusos sexuales, los traumatismos, que en casos graves como empalmamientos pueden dar lugar a lesiones internas que afecten a la vagina, el intestino, la vejiga e incluso a la cavidad peritoneal, y en ocasiones el prolapso de la uretra.

En la adolescente el sangrado con mucha frecuencia es de carácter cíclico y directamente relacionado con el ciclo menstrual por lo que deberá, en estos casos, considerarse una alteración menstrual.

Ciclo menstrual y alteraciones menstruales en la adolescencia

El ciclo menstrual normal viene determinado, desde el punto de vista clínico, por 3 parámetros relacionados entre sí: la duración del sangrado menstrual, su intensidad y el intervalo medio de tiempo que transcurre entre 2 menstruaciones. Actualmente, se aceptan como parámetros de normalidad una duración del sangrado de 2 a 6 días, una cantidad de fluido menstrual que oscila entre 30 y 80 ml por ciclo² y un intervalo de tiempo entre 2 menstruaciones que varía en un rango entre 21 y 35 días, aunque durante el primer año post-menarquia se acepta como intervalo normal el comprendido entre 21 y 45 días³. La modificación de cualquiera de estos parámetros puede dar lugar a diferentes tipos de alteraciones menstruales, bien por exceso o por defecto.

La nomenclatura utilizada para definir los diferentes tipos o formas clínicas de las alteraciones menstruales es, en ocasiones, confusa ya que algunos términos se utilizan, dependiendo del autor, para definir distintos tipos de alteraciones menstruales. Con objeto de evitar errores de interpretación adoptaremos las definiciones que establece la Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia (SEGO) a través de sus protocolos^{3,4}.

Las alteraciones menstruales por defecto son: la amenorrea, que se define como la ausencia de sangrado menstrual. Puede ser primaria, cuando no ha existido ninguna experiencia menstrual previa, o secundaria, cuando la adolescente ha tenido al menos una menstruación (menarquia) y no vuelve a hacer su aparición en un período superior a 6 meses. La oligomenorrea hace referencia a una alteración de ritmo menstrual en la que los ciclos tienen una duración superior a 45 días e inferior a 6 meses⁴. Finalmente, el término hipomenorrea define menstruaciones en las que la cantidad de sangrado menstrual es inferior a 30 ml.

Las manifestaciones o formas clínicas de las alteraciones menstruales por exceso son: la polimenorrea, la proiomenorrea, la hipermenorrea, la menorragia y la metrorragia.

Los términos polimenorrea y proiomenorrea³ se utilizan actualmente como sinónimos para definir aquellas alteraciones menstruales que cursan con un intervalo entre 2 menstruaciones inferior a 21 días. Ambos términos en origen expresaban conceptos diferentes. El término "proiomenorrea" se reservaba para definir el "acortamiento del intervalo menstrual"⁵, mientras que "polimenorrea" expresaba el "exceso de duración del número de días de sangrado menstrual". Sin embargo, el empleo en los países anglosajones del término "*polymenorrhoea*" para referirse al acortamiento del intervalo entre 2 menstruaciones⁶ hizo que en los países castellano-parlantes polimenorrea se hiciera sinónimo de proiomenorrea y este último se abandonase. Aunque actualmente pueden emplearse ambos términos como sinónimos, para evitar equívocos se tiende a emplear "acortamiento del ciclo" para definir este tipo de alteración menstrual por exceso.

El término hipermenorrea expresa un incremento de la cantidad de sangrado menstrual superior al normal, estimado en 80 ml/ciclo². Menorragia se reserva para expresar las alteraciones que cursan con un intervalo normal, pero asociado a un incremento de la cantidad y de la duración del sangrado. Aunque estos términos no generan confusión, sí pueden resultar difíciles de recordar para aquellos profesionales de la salud que no están específica y directamente relacionados con la salud femenina, por lo que en muchos ámbitos profesionales se emplean los términos, menos académicos pero mucho más prácticos, "sangrado menstrual excesivo" o "exceso de sangrado menstrual". Finalmente, la metrorragia define a cualquier sangrado irregular (tabla I).

Alteraciones menstruales por defecto

En conjunto el 75% de las adolescentes presentan problemas asociados a la menstruación que constituyen el motivo más frecuente de consulta médica⁷ en esta etapa de la vida. La pérdida de peso, el ejercicio físico y los trastornos de la alimentación son los factores etiológicos más importantes de la amenorrea secundaria y de la oligomenorrea⁸.

Alteraciones menstruales por exceso

De forma general las alteraciones menstruales por exceso pueden dividirse en dos grandes grupos, las que tienen un origen orgánico y las funcionales.

Durante la adolescencia las causas orgánicas que con mayor frecuencia dan lugar a alteraciones menstruales por exceso son: las complicaciones de la gestación, algunas endocrinopatías (hipotiroidismo, hiperplasia suprarrenal congénita y síndrome de Cushing), algunos tumores funcionales del ovario, fundamentalmente los teratomas y los tumores de células de la granulosa, las alteraciones de la coagulación (púrpura trombocitopénica idiopática, enfermedad de von Willebrand, enfermedad de Glanzmann, anemia de Fanconi y talasemia) y, finalmente, la iatrogénica derivada del empleo de cosméticos, anabolizantes, corticoides, contraceptivos hormonales y otras terapias con hormonas esteroideas (tabla II).

Tabla I Clasificación de las alteraciones menstruales en la adolescente

Tipo de alteración menstrual		Características
<i>Por defecto:</i>	Amenorrea Primaria Secundaria Oligomenorrea Hipomenorrea	Ausencia de menstruación Sin experiencia menstrual previa Al menos una menstruación previa Ciclos de una duración superior a 45 días e inferior a 6 meses Cantidad de sangrado menstrual inferior a 30 ml/ciclo
<i>Por exceso:</i>	Polimenorrea, proiomenorrea o ciclos acortados Hipermenorrea* Menorragia* Metrorragia	Intervalo menstrual inferior a 21 días Cantidad de fluido menstrual superior a 80 ml/ciclo Asociación de hipermenorrea y polimenorrea Sangrado irregular

*Ambos términos podrían sustituirse por “exceso de sangrado menstrual”.

Las alteraciones menstruales por exceso durante la adolescencia son de causa funcional en el 75% de los casos. A todas ellas, independientemente de la forma clínica (polimenorrea, proiomenorrea, hipermenorrea o menorragia), se las agrupa bajo el término común de “hemorragia uterina disfuncional” (HUD), que se debe a la existencia de ciclos anovuladores o a alteraciones de la función del cuerpo lúteo, ambas situaciones muy frecuentes en esta etapa por la propia inmadurez del eje hipotálamo-hipófisis-ovario. Entre el 10 y el 15% de todas las mujeres que acuden a una consulta de ginecología presentan una HUD, pero donde su diagnóstico es más frecuente es en las adolescentes⁹. Atendiendo a su etiología, las HUD pueden clasificarse en: *anovulatorias*, en las que la hemorragia se produce como consecuencia de un estímulo prolongado de los estrógenos sobre el endometrio, en ausencia de progesterona. Ésta es la causa más frecuente durante la adolescencia, siendo su principal manifestación clínica la menorragia o el sangrado menstrual excesivo. El otro grupo son las *ovulatorias*, en las que la hemorragia es causada, generalmente, por una insuficiencia del cuerpo lúteo. La producción reducida de estrógenos y de progesterona, durante la segunda mitad del ciclo menstrual, condiciona también una duración de éste anormalmente corta. Suele manifestarse clínicamente como un acortamiento del ciclo, precedido o no, por un pequeño sangrado (*spötting*) premenstrual y presentarse con frecuencia en las adolescentes en una segunda etapa, una vez adquiridos los ciclos ovulatorios. El principal factor etiológico, en ambos casos, es la inmadurez del eje hipotálamo-hipófisis-ovario, especialmente en los primeros 18 meses tras la menarquía^{9,10} en los que la HUD es, en el 70% de los casos, causada por ciclos anovulatorios. De hecho, se ha observado que son anovulatorios entre el 55 y el 82% de todos los ciclos en las adolescentes que se encontraban en los 2 primeros años posmenarquía, entre el 30 y el 55% cuando el período de tiempo transcurrido se situaba entre los 2 y los 4 años, e incluso se detectaba en el 20% de las jóvenes que habían sobrepasado los cinco años post-menarquía¹¹. Las HUD de las adolescentes, secundarias a una insuficiencia del cuerpo lúteo, son mucho menos frecuentes y suelen aparecer en una fase de la adolescencia más tardía que las causadas por los ciclos anovulatorios¹².

Tabla II Etiopatogenia del sangrado intempestivo en las niñas y las adolescentes

Etapa prepuberal	Adolescencia
Vulvovaginitis	Gestación
Cuerpos extraños	Endocrinopatías (Cushing, hipotiroidismo, hiperplasia suprarrenal congénita)
Pubertad precoz	Alt. coagulación (púrpura trombocitopénica idiopática, enfermedad de Von Villebrand, enfermedad de Glanzmann, anemia de Fanconi y talasemia)
Yatrogenia (esteroides)	Yatrogenia (cosméticos, anabolizantes, corticoides, anticonceptivos hormonales, hormonas esteroideas)
Abusos sexuales	Tumores del ovario (tumores funcionantes del ovario: tecomas, tumores de las células de la granulosa)
Traumatismos	
Prolapso uretral	
Tumores (hemangiomas, rabdomiosarcoma, adenocarcinoma de células claras de vagina, tumores de las células germinales del ovario)	

En la HUD se plantea una importante cuestión cuya respuesta puede condicionar el tratamiento. En una alteración menstrual por exceso de causa funcional en una adolescente, ¿hasta dónde llega la fisiología y dónde comienza la patología? La respuesta va a depender siempre del impacto sistémico individual que tiene el sangrado, lo que nos conducirá a adoptar posturas intervencionistas, desde el punto

de vista terapéutico, en aquellos casos en los que el sangrado plantee un compromiso sistémico y a adoptar una actitud expectante, sin intervencionismo, en el caso contrario.

Exploración genital en la infancia y en la adolescencia

En la práctica, cuando tenemos que evaluar un cuadro clínico en una niña o en una adolescente que presenta alguno de los síntomas analizados, el primer paso siempre es realizar una anamnesis exhaustiva. La información debe obtenerse, en la medida de lo posible, directamente de la propia paciente y en el caso de las adolescentes sin la presencia de adultos que puedan condicionar las respuestas, especialmente en las cuestiones relacionadas con la esfera sexual y reproductiva. Hay que incidir especialmente en los antecedentes familiares de cáncer de mama y ovario, en las conductas de riesgo de infecciones de transmisión sexual, los tratamientos farmacológicos, especialmente los relacionados con las hormonas esteroideas, y precisar con detalle las características de los síntomas predominantes (momento de aparición, intensidad, duración, cronología, relación o no con el ciclo o con el coito). Al finalizar la anamnesis es recomendable elaborar las hipótesis diagnósticas que puedan perfilar la/s causa/s más probables para poder establecer de forma individualizada la estrategia para la exploración.

La inspección general debe realizarse sistemáticamente para evaluar el grado de desarrollo y los caracteres sexuales, así como la de los genitales externos. Esta última es especialmente importante en los casos de sangrado genital, leucorrea y/o prurito ya que en muchos casos permite realizar el diagnóstico (dermopatías vulvares, vulvitis inespecíficas, lesiones vulvares post-traumáticas, prolapso uretral, hemangiomas e incluso signos de abusos sexuales). De igual manera, es obligada la palpación abdominal, especialmente cuando el síntoma principal es el dolor pélvico. En adolescentes con sangrado o alteraciones menstruales puede resultar útil también la exploración del tiroides y de la mama.

Inspección y palpación de los genitales internos

En el caso de las niñas prepúberes y de las adolescentes, el empleo de exploraciones y de pruebas complementarias, especialmente las aplicadas al área genital, deben tener siempre presente 2 normas fundamentales de conducta. La primera, actuar con gran prudencia y cuidado en el examen ginecológico, ya que si no se realiza de forma adecuada y con el instrumental específico, puede tener consecuencias psicológicas, e influir posteriormente, incluso en una percepción negativa de la propia sexualidad. La segunda norma importante consiste en evitar, en lo posible, técnicas agresivas.

La exploración pélvica debe ser siempre individualizada y realizarse, o no, en función de la naturaleza y severidad de los síntomas. En la niña en la etapa prepuberal será preceptivo en los casos de leucorrea purulenta, persistente o por la presencia de sangrado sospechoso de traumatismo, cuerpo extraño, tumor o por la persistencia en el tiempo de los síntomas. La inspección de la vagina y/o del *cérvix* debe realizarse siempre con el instrumental adecuado (vagos-

copio de Cameron-Miller o Mueller, vaginoscopio de fibra óptica, cistoscopio o histeroscopio ambulatorio). Dependiendo de la edad y del grado de cooperación de la niña, puede ser precisa la sedación o incluso la anestesia general. En algunos casos, las técnicas de imagen, como la radiología, la ecografía abdominal, la transrectal o la resonancia magnética, podrían sustituir al examen pélvico. Antes de iniciar la exploración instrumental de la vagina es preciso inspeccionar y evaluar bien el himen para descartar alteraciones (himen imperforado) o signos de abusos sexuales. La separación de los labios permite la inspección adecuada del clitoris, del meato uretral y de sus alteraciones.

En la adolescente, la exploración de la vagina puede realizarse con un espéculo de Huffman, especialmente en las jóvenes que ya emplean tampones para su higiene íntima y, con más motivo, en aquellas que han iniciado relaciones sexuales coitales. El espéculo debe introducirse lentamente y, a ser posible, lubricado, siendo útil que la adolescente realice simultáneamente la maniobra de Valsalva con objeto de relajar los músculos del diafragma pélvico y facilitar su introducción. Durante este proceso debe inspeccionarse la vagina y el *cérvix* para descartar lesiones, infecciones o alteraciones congénitas, a la vez que debe aprovecharse para, si se precisa, realizar las correspondientes tomas de muestras para cultivos o estudio colpocitológico.

El tacto combinado, vaginal y/o rectal, se realiza de forma diferente en función de la edad. En la etapa prepuberal la vía de elección es la rectal, que también permite descartar la presencia de cuerpos extraños en la vagina. Cuando se realiza debe procederse a comprimir ligeramente la cara superior del recto en su proximidad con la vagina, a la vez que se inspecciona simultáneamente el introito vulvar. Esta maniobra permite visualizar fácilmente la emisión de exudado vaginal patológico. A través del recto puede explorarse también el *cérvix*, el útero y los anejos, estos últimos especialmente importantes para descartar tumores anexiales. En el caso de la adolescente, si previamente ha sido posible la exploración de la vagina con espéculo, se puede realizar un tacto vaginal, empleando para ello un solo dedo lubricado (generalmente el índice). Si el introito fuera demasiado estrecho se procedería a realizar la exploración por vía rectal.

Pruebas complementarias

En el caso de las adolescentes que consultan por alteraciones menstruales por exceso es obligada la realización de un estudio básico de la coagulación, ya que hasta el 19% de las menorragias de causa aguda, en esta etapa de la vida, se asocia con alteraciones de la coagulación¹³. El estudio hormonal del tiroides no hay que realizarlo, en estos casos, de forma sistemática, sino tan sólo en aquellas en las que exista una sospecha de disfunción tiroidea. Cuando se trata de una hemorragia de carácter cíclico, en la mayor parte de los casos se tratará de una HUD, por lo que debe incluirse siempre entre las hipótesis diagnósticas que se establecen en toda adolescente que presenta un acortamiento del ciclo o un sangrado menstrual excesivo.

La ecografía está indicada en los casos de dolor, especialmente cuando es agudo, o bien cuando se necesita evaluar con precisión los genitales internos (útero y ovarios), bien porque no es posible la exploración física o bien porque en

ella ha habido hallazgos sospechosos de patología, cuando no hay respuesta a los tratamientos o bien en los casos de recidiva³. La elección de la vía para realizar la ecografía (abdominal, vaginal o rectal) dependerá de la edad y de las posibilidades que haya ofrecido previamente la exploración genital.

La biopsia del endometrio y la histeroscopia, pruebas complementarias muy utilizadas en el estudio de las alteraciones menstruales por exceso de la mujer adulta, deben proscribirse en la adolescente, especialmente si tenemos en cuenta que la patología endometrial preneoplásica y neoplásica es excepcional en esta etapa de la vida.

Finalmente, resaltar que la exploración física y las pruebas complementarias deben individualizarse siempre en las niñas y en las adolescentes, atendiendo a 3 parámetros: la edad, la sintomatología que presentan y los hallazgos realizados en la inspección de los genitales externos y del himen.

Bibliografía

1. Stone SC. Pelvic pain in children and adolescents. En: Koehler SE, Rock JA, eds. *Pediatric and Adolescent Gynecology*. New York: Raven Press, 1992. p. 267.
2. Dysfunctional uterine bleeding. En: Speroff L, Glass R, Kase N, eds. *Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility*, 4th ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1989. p. 265.
3. Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia (SEGO). Diagnóstico y tratamiento de la menorragia en la adolescencia. *Protocolos Asistenciales en Ginecología y Obstetricia*. 2006 Accesible en <http://www.prosego.com/index.php?option=content&task=view&id=338&Itemid=47> (último acceso en 24.2.2009).
4. Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia (SEGO). Amenorrea Primaria y Secundaria. Oligomenorrea. *Protocolos Asistenciales en Ginecología y Obstetricia*. 2006 Accesible en <http://www.prosego.com/index.php?option=content&task=view&id=353&Itemid=47> (último acceso en 24.2.2009).
5. *Diccionario Terminológico de ciencias Médicas*, 12.^a edición. Barcelona: Salvat Editores, 1988.
6. Dysfunctional uterine bleeding. En: Speroff L, Glass R, Kase N, eds. *Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility*, 5th ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1994. p. 531-46.
7. Slap GB. Menstrual disorders in adolescence. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2003;17:75-92.
8. Wiksten-Almströmer M, Hirschberg AL, Hagenfeldt K. Menstrual disorders and associated factors among adolescent girls visiting a youth clinic. *Acta Obstet Gynecol*. 2007;86:65-72.
9. Muram D, Sanfilippo J, Paige S. Vaginal bleeding in childhood and menstrual disorders in adolescence. En: Muram, Lee, Dewhurst, eds. *Pediatric and Adolescent Gynecology*. Saunders, 1994. p. 228.
10. Sanfilippo J, Yussman M. Gynecologic problems of adolescence. En: Lavery P, Sanfilippo J, eds. *Pediatric and Adolescent Obstetrics and Gynecology*. New York: Springer-Verlag, 1985. p. 61.
11. McDonough PG, Gannett P. Dysfunctional uterine bleeding in adolescent. En: Barrom BN, Blusle BS, eds. *Adolescent Gynecology and Sexuality*. New York: Masson, 1982.
12. Jones GS. Endocrine problems in the adolescent. *Md State Med J*. 1967;16:45.
13. Claessens EA, Cowell CA. Acute adolescent menorrhagia. *Am J Obstet Gynecol*. 1981;139:277.



MESA REDONDA. ASPECTOS ENDOCRINOLÓGICOS DE LA PATOLOGÍA OVÁRICA

Tratamiento del hipogonadismo hipogonadotropo femenino

A. Becerra Fernández^{a,b,*} y G. Pérez López^b

^aUnidad de Trastornos de Identidad de Género, Hospital Ramón y Cajal, Universidad de Alcalá, Madrid, España

^bServicio de Endocrinología y Nutrición, Hospital Ramón y Cajal, Universidad de Alcalá, Madrid, España

Introducción

El hipogonadismo se manifiesta de forma distinta en mujeres y varones, dependiendo si se inicia antes o después de la pubertad. En varones prepuberales, sin tratamiento de reemplazo hormonal con testosterona, aparecen características eunucoideas (escaso vello corporal, pobre desarrollo de la musculatura esquelética, retraso en el cierre de epífisis y, como consecuencia, individuos con brazos y piernas largas). Después de la pubertad, los varones presentan más habitualmente falta de energía y disminución de la función sexual. Por el contrario, en mujeres con hipogonadismo antes de la pubertad, la falta de progresión en el desarrollo físico y la amenorrea primaria son las características más comunes. Cuando el hipogonadismo ocurre en mujeres después de la pubertad, la amenorrea secundaria es la preocupación usual. La fertilidad futura suele estar comprometida en cualquiera de los sexos, alterada o irrecuperable en el hipogonadismo hipergonadotropo y con posibilidad de ser restablecida en el hipogonadismo hipogonadotropo.

Fisiopatología

Los ovarios funcionan como parte del eje hipotálamo-hipófisis-gonadal. A nivel del núcleo arcuado del tálamo se libera de manera pulsátil GnRH (hormona liberadora de gonadotropinas) en el sistema portal hipotalámico-pituitario. Datos recientes sugieren que el gen llamado KISS es importante en el desarrollo de las células secretoras de

GnRH¹. En respuesta a estos pulsos de GnRH, la adenohipófisis secreta hormona folículo-estimulante (FSH) y hormona luteinizante (LH), las cuales estimulan la actividad gonadal. El aumento de las hormonas gonadales produce disminución de la secreción de FSH y LH a nivel hipofisario, completando el *feedback*. En los ovarios, la LH actúa en la teca y en las células intersticiales para producir progestágenos y andrógenos, y la FSH actúa a nivel de las células de la granulosa para estimular la aromatización de los esteroideos precursores de andrógenos.

El hipogonadismo puede ocurrir si el eje hipotálamo-hipófisis-gonadal se interrumpe a cualquier nivel. El hipogonadismo hipergonadotropo (hipogonadismo primario) se produce si las gónadas no producen cantidad suficiente de hormonas sexuales que supriman FSH y LH a niveles normales. El hipogonadismo hipogonadotropo (hipogonadismo secundario) puede resultar de la falta del pulso generador de GnRH o de la incapacidad de la hipófisis de responder con la secreción de LH y FSH. El hipogonadismo hipogonadotropo se observa mayoritariamente como parte de la deficiencia de múltiples hormonas hipofisarias asociada a malformaciones (displasia septo-óptica y otros defectos de la línea media) o lesiones de la hipófisis adquiridas en el período posnatal. En 1944, Kallman et al describieron el primer caso familiar de deficiencia aislada de GnRH. Recientemente, se han encontrado otros defectos genéticos responsables de hipogonadismo hipogonadotropo. Éste se produce por una alteración en la secreción de gonadotropinas, dando lugar a un retraso, a una interrupción o un fallo en la pubertad. Además de los síntomas del hipogonadismo, se producen otros derivados de la etiología y de los

*Autor para correspondencia.

Correo electrónico: a.becerrafernandez@gmail.com

posibles déficit hormonales asociados. Antes de la pubertad, el crecimiento y la maduración ósea son normales, pudiendo encontrarse en el caso de algunas niñas hipoplasia de labios menores. Al llegar a la edad puberal pueden presentar vello pubiano por acción de los andrógenos suprarrenales pero con un desarrollo sexual ausente o escaso. Tras la edad puberal no se cierran los cartílagos de crecimiento y la paciente adquiere proporciones eunucoides. Al igual que en las otras entidades, es primordial una buena anamnesis y exploración física. Las gonadotropinas basales (LH y FSH) y los esteroides sexuales presentan una falta de elevación una vez que la edad ósea es superior a los 13 años. La prueba de estímulo de GnRH es muy orientativa para diferenciar un hipogonadismo primario de uno secundario: en el primero hay una respuesta aumentada, mientras que en el hipogonadismo hipofisario las gonadotropinas no se elevan tras el estímulo. Lo más difícil es diferenciar un retraso constitucional de la pubertad y un hipogonadismo hipogonadotropo^{2,3}.

Causas de hipogonadismo hipogonadotropo

El hipogonadismo hipogonadotropo se encuentra asociado a patologías adquiridas, congénitas, a enfermedades sistémicas y como parte de síndromes malformativos y metabólicos (tabla I).

Tratamiento médico

En pacientes prepuberales, el tratamiento está dirigido a iniciar el desarrollo puberal a la edad adecuada mediante la sustitución hormonal. Aunque el tratamiento para el hipogonadismo más simple y exitoso para ambos sexos con independencia de si es hipogonadotropo o hipergonadotropo sea el reemplazo de esteroides sexuales, en el hipogonadismo hipogonadotropo esta terapia no confiere fertilidad. Se puede utilizar tratamiento con LHRH (GnRH) en niñas, aunque tiene dificultades técnicas importantes. Dentro de estos hipogonadismos cobran un mayor interés, por su mayor frecuencia, los secundarios a una afectación de la adenohipófisis, como ocurre en los déficit hormonales por tumores o secuelas tras quimioterapia o radioterapia⁴.

Los objetivos del tratamiento son:

- Desarrollar los caracteres sexuales secundarios.
- Acelerar el crecimiento e inducir la pubertad.
- Optimizar la talla adulta.
- Mineralización de la matriz ósea.
- Asegurar la libido y una función sexual normal.
- Evitar la infertilidad.
- Lograr fertilidad en aquellos casos donde sea posible.

Será necesario un tratamiento multidisciplinar que involucre a endocrinólogos, ginecólogos y psicólogos. En mujeres, el tratamiento de elección para iniciar la pubertad son los estrógenos. No está indicado el tratamiento con hCG, ya que una excesiva estimulación tendría efectos adversos (aumento del tamaño de los ovarios, aparición de quistes ováricos, incluso rotura ovárica con posibilidad de abdomen agudo). En el hipogonadismo hipogonadotropo se puede rea-

Tabla I Causas de hipogonadismo hipogonadotropo

Trastornos del sistema nervioso central (SNC)

Tumores

- Craniofaringioma
- Germinoma
- Otros tumores de células germinales
- Glioma óptico o hipotalámico
- Astrocitoma
- Tumor hipofisario

Causas varias

- Histiocitosis de células de Langerhans
- Procesos infecciosos del SNC
- Anomalías vasculares del SNC
- Radioterapia
- Malformaciones congénitas (especialmente las asociadas a anomalías craneofaciales)
- Traumatismo craneoencefálico

Causas genéticas

- Síndrome de Kallmann (mutación en el gen *KAL* [anosmina]), con hiposmia o anosmia o sin anosmia
- Hipoplasia adrenal congénita (mutación en el gen *DAX1*)
- Mutaciones en los genes *PROP1* y *HESX1*
- Mutaciones en los genes que codifican los receptores de GnRH (LHRH)
- Deficiencia aislada de LH
- Deficiencia aislada de FSH

Formas idiopáticas y genéticas de deficiencias hormonales múltiples

- Malnutrición y enfermedades sistémicas crónicas
- Amenorrea inducida por el ejercicio
- Trastornos como el síndrome de Prader-Willi, el síndrome de Laurence-Moon, el síndrome de Bardet-Biedl, deficiencia funcional de gonadotropinas (amenorrea psicógena, hipotiroidismo, diabetes mellitus, síndrome de Cushing), hiperprolactinemia, abuso de marihuana y la enfermedad de Gaucher

lizar la estrogenización con pulsos de GnRH, que aunque es el tratamiento más fisiológico, presenta dificultades técnicas, como hemos señalado. En las pacientes con hipogonadismo hipergonadotropo el único tratamiento posible es la estrogenización con esteroides sexuales. El tratamiento con estrógenos induce el desarrollo mamario en niñas con hipogonadismo, con dosis bajas y largos tratamientos, o incrementando gradualmente la dosis en el tiempo que induzca la pubertad, y un desarrollo mamario gradual. Aunque existen muchas opiniones sobre el tratamiento óptimo para un desarrollo mamario y crecimiento longitudinal normal, el esquema propuesto es el de mayor consenso utilizado por los clínicos⁴. En cualquier caso, el tratamiento debe aumentarse de forma gradual para evitar el cierre epifisario y el sobrecrecimiento de la areola mamaria. En la mayoría de los casos la inducción de la pubertad se inicia a los 13 años.

Inducción de la pubertad

En los casos donde se desee un mayor crecimiento longitudinal por talla baja, se debe iniciar etinilestradiol 5 µg/día vía oral. Esta dosis se debe mantener durante 12-18 meses, y luego incrementar 5 µg cada 6 meses hasta alcanzar la dosis sustitutiva en la mujer adulta, que es de 20-30 µg/día vía oral, si se ha alcanzado la talla deseada^{5,6}. Alternativamente, Premarin® (estrógeno conjugado) puede ser usado a una dosis de 0,3 mg vía oral en días alternos durante 6 meses, y luego incrementar la dosis cada 6 meses. Cuando aumente el desarrollo mamario y longitudinal esta dosis debe aumentarse hasta alcanzar la dosis de 0,625 mg. Un progestágeno debe añadirse al tratamiento cuando se alcanzan dosis de etinilestradiol de 15 µg (o 0,625 mg de Premarin®), o si tiene lugar la menstruación. Habitualmente se utiliza medroxiprogesterona (Provera®) a dosis de 5-10 mg cada 10-14 días. La dosis y duración deben establecerse de forma individual y en relación a efectos adversos, como náuseas. El régimen más simple para una adolescente es etinilestradiol diario con medroxiprogesterona cada 10-14 días. Después que se haya alcanzado la dosis adulta de etinilestradiol y medroxiprogesterona, los anticonceptivos orales pueden ser sustituidos por preparaciones separadas de estos compuestos⁵.

En niñas sin útero, como ocurre en la insensibilidad a andrógenos o disgenesia gonadal XY, pueden utilizarse las mismas dosis arriba mencionadas, sólo que no hay necesidad de añadir progestágenos. La terapia con esteroides gonadales se dará hasta la edad teórica de la menopausia. En el período posmenopáusico, sólo se dará tratamiento valorando riesgo/beneficio si presentan sintomatología asociada a la menopausia u osteoporosis.

El reemplazo hormonal está asociado con algunos cambios del comportamiento en adolescentes con hipogonadismo. Específicamente, los varones tienen un aumento de emisiones nocturnas y en tocamientos, a altas dosis, aunque en las niñas estos comportamientos ocurren con menor frecuencia^{6,7}. Sin embargo, en un estudio relativamente reciente, el tratamiento con estrógeno no encontró alteraciones significativas en la conducta y en el estado de ánimo⁸.

Infertilidad e inducción de la ovulación

Tratamiento con gonadotropinas

Las mujeres adultas con hipogonadismo hipogonadotropo que desean fertilidad deben someterse a la inducción de la ovulación con gonadotropinas o con administración pulsátil de GnRH, que tienen aproximadamente un 95% de éxito. Una evaluación completa de permeabilidad tubárica y un análisis del semen de la pareja masculina debe realizarse antes de iniciar la terapia con gonadotropina para valorar sus riesgos y costes.

Desde su introducción en la práctica clínica en 1961, las gonadotropinas extraídas de la orina de mujeres posmenopáusicas (gonadotropinas menopáusicas humanas [hMG]), en la que la relación de bioactividad LH a FSH es 1:1, han asumido un papel central en la inducción de la ovulación. El perfeccionamiento de la preparación cruda inicial dio lugar a la disponibilidad de la forma purificada de FSH urinaria.

Desde 1996, la FSH recombinante humana (rFSH, 99% de pureza) ha estado disponible. Los preparados recombinantes son mejores por su facilidad de administración (vía subcutánea en lugar de la intramuscular)¹¹.

El objetivo de la inducción de la ovulación con gonadotropinas, al igual que con el clomifeno, es la formación de un solo folículo dominante. En los ciclos espontáneos, esto se logra en el comienzo del ciclo por un aumento transitorio de las concentraciones en suero de FSH por encima del valor umbral. La disminución de las concentraciones de entonces previene que se forme más de un folículo preovulatorio en desarrollo. Debido a que la sensibilidad ovárica a la estimulación de FSH varía entre las mujeres, se necesitan tratamientos específicos y protocolos de seguimiento para lograr el desarrollo de un solo folículo, cuando se administra gonadotropina exógena.

En el protocolo convencional de tratamiento con gonadotropinas, la dosis inicial de FSH es de 150 UI/día. Sin embargo, este régimen se asocia con una tasa de embarazo múltiple de hasta un 36% y la hiperestimulación ovárica se produce hasta en un 14% de los ciclos de tratamiento. La detección de respuesta ovárica es una indicación para continuar la dosis actual, hasta que la gonadotropina coriónica humana (hCG) pueda inducir la ovulación, como se describe a continuación.

La dosis baja inicial para inducir la ovulación imita más de cerca la fisiología normal de los ciclos. La terapia con 150 UI/día de FSH se inicia poco después del sangrado inducido con progesterona y se continúa hasta que un folículo dominante (mayor de 10 mm) se observe en la ecografía transvaginal. Luego se reduce la dosis a 112,5 UI/día seguido por un nuevo descenso a 75 UI/día 3 días más tarde; esta dosis se continúa hasta que se administre hCG para inducir la ovulación. La dosis inicial apropiada puede determinarse mediante el uso de dosis bajas de la etapa de régimen para el primer ciclo de tratamiento.

La FSH urinaria purificada tiene actividad LH, pero no la rFSH. La experiencia con rFSH en mujeres con hipogonadismo hipogonadotropo indica que las mujeres que tienen una concentración sérica de LH muy baja (menos de 0,5 UI/l) necesitan hCG exógena (o 75 UI/día s.c. de LH recombinante) para mantener un nivel adecuado de biosíntesis de estradiol y del desarrollo folicular. El uso de rFSH de acción prolongada está siendo valorado en ensayos clínicos, pero aún no están comercialmente disponibles¹².

La gonadotropina coriónica humana (hCG) se utiliza para desencadenar la ovulación cuando han madurado los folículos ováricos. La hCG urinaria y recombinante están disponibles. Una dosis de 250 µg de hCG recombinante parece ser equivalente a la dosis estándar de hCG urinaria (5.000 a 10.000 unidades). La respuesta ovárica a la terapia de gonadotropina se controla mediante la ecografía transvaginal para medir el diámetro folicular. Las exploraciones durante la fase folicular tardía, por lo general, se realizan cada 2 o 3 días, y debería centrarse en la identificación de folículos de tamaño intermedio. La hCG se da en el día en que al menos un folículo maduro se observe en la ecografía. Los criterios de madurez folicular son: diámetro de 18 mm y una concentración en suero de estradiol de 200 pg/ml (734 pmol/l) por folículo dominante. Si 3 o más folículos de más de 15 mm están presentes, la estimulación debe detenerse, hCG retenido, y el uso de un anticonceptivo de barre-

ra se aconseja a fin de evitar embarazos múltiples y la hiperestimulación ovárica. Las mediciones de estradiol sérico son útiles; concentraciones preovulatorias por encima del rango normal pueden predecir la hiperestimulación ovárica. Mediciones de progesterona sérica a veces son útiles antes de la administración de hCG para determinar si ha ocurrido un incremento precoz de LH.

La experiencia hasta la fecha ha indicado que el principal inconveniente de este protocolo es que la dosis inicial es demasiado elevada para algunas pacientes. En un esfuerzo por superar este problema, la secuencia de dosis baja inicial, aumento de dosis, y luego disminución de la misma, siempre debe realizarse de esta forma. El tratamiento con clomifeno después de la terapia con gonadotropina ya no es habitual para la inducción de la ovulación en pacientes con infertilidad. El uso de este enfoque acumulativo secuencial ha aumentado las tasas de natalidad hasta el 71%. Estos resultados sugieren que los enfoques convencionales ofrecen un medio eficaz para el tratamiento de la mayoría de las mujeres con infertilidad anovulatoria antes de proceder a los tratamientos más agresivos, como la fertilización in vitro. La obesidad y resistencia a la insulina (sin una elevada concentración de LH) se asocian con menores tasas de éxito⁹.

El tratamiento adyuvante con análogos de GnRH para prevenir la luteinización prematura se ha propuesto para mejorar los resultados en la inducción de la ovulación con gonadotropinas. Sin embargo, los datos disponibles son insuficientes para concluir si los agonistas de GnRH pueden mejorar las tasas de embarazo o síndrome de hiperestimulación ovárica. Del mismo modo, no hay datos suficientes para sacar conclusiones en relación con el posible papel de los antagonistas de GnRH como tratamiento adyuvante¹³.

Terapia pulsátil con GnRH

La administración de GnRH pulsátil utilizando una bomba de infusión estimula la producción endógena de FSH y LH. Las concentraciones de FSH y LH se mantienen dentro del rango normal, por lo que las posibilidades de desarrollo multifollicular e hiperestimulación ovárica son bajas. La terapia continua de GnRH disminuye la liberación de gonadotropinas.

La administración pulsátil de GnRH está indicada para mujeres con anovulación por hipogonadismo hipogonadotropo (OMS clase 1) que tienen la función normal de la hipófisis. La vía intravenosa parece superior a la vía subcutánea. Con el fin de imitar la secreción pulsátil de GnRH, el intervalo de pulso es de 60 a 90 min y la dosis es de 2,5 a 10 µg por impulso. La dosis más baja se debe utilizar inicialmente con el fin de reducir al mínimo la probabilidad de embarazos múltiples, la dosis debe incrementarse con dosis bajas para inducir la ovulación. La administración pulsátil de GnRH podrá suspenderse después de la ovulación, y el cuerpo lúteo debe apoyarse con hCG¹⁴.

La menstruación regular se produce aproximadamente cada 4 semanas, indicando que la mujer tiene ciclos de ovulación. La ecografía y la medición de progesterona en el suero no suelen ser necesarios para el seguimiento de la terapia.

Tasas de ovulación del 90% y tasas de embarazo del 80% han sido reportadas en mujeres tratadas con GnRH pulsátil. Complicaciones locales, como flebitis, pueden ocurrir ocasionalmente¹⁵.

Otras necesidades terapéuticas

- Las mujeres que no desean embarazo deben ser tratadas con estrógenos para prevenir la osteoporosis. Se debe añadir al tratamiento progestinas para disminuir el riesgo de carcinoma endometrial.
- En aquellas mujeres con hipogonadismo hipogonadotropo secundario a anorexia nerviosa o ejercicio, pueden regularizar su ciclo menstrual ganando y manteniendo un peso corporal de, al menos, un 15% por debajo del peso ideal. Los casos moderados de anorexia nerviosa pueden ser manejados ambulatoriamente por el médico de cabecera, psiquiatra, psicólogo, y/o nutricionista. Los casos severos requieren ingreso hospitalario para rehabilitación psiquiátrica agresiva y manejo médico (pediatra y/o endocrinólogo según sea el caso). La mortalidad asociada con anorexia es de entre el 4 y el 10%.
- Aquellas pacientes con deficiencia de LH secundaria a disfunción pituitaria requieren tratamiento en base a los síntomas y trastornos hormonales asociados. Más comúnmente, estas pacientes tienen un adenoma pituitario e hiperprolactinemia. Aquellas mujeres que deseen la fertilidad deben ser tratadas médicamente con agonistas dopaminérgicos (bromocriptina, cabergolina), las cuales inhiben la secreción de prolactina. Las mujeres con hiperprolactinemia que no deseen la fertilidad pero tienen amenorrea son tratadas con anticonceptivos orales o con estrógenos y progestinas cíclicas. El panhipopituitarismo necesita tratamiento sustitutivo con corticoides y levotiroxina para evitar crisis adrenales¹⁰.

Tratamiento quirúrgico

Debe formar parte del tratamiento en diferentes situaciones:

- En el caso de aquellas mujeres con hipogonadismo hipogonadotropo secundario a disfunción hipofisaria por adenomas (prolactinoma) que no respondan a tratamiento con agonistas dopaminérgicos se recomienda cirugía transfenoidal.
- Es el tratamiento de elección en tumores no funcionantes (craneofaringioma) u otras causas orgánicas de origen pituitario.
- Para remover tejido gonadal en mujeres con cariotipos que contengan el cromosoma Y, por el riesgo significativo de gonadoblastoma y carcinoma.

Seguimiento

En el caso del síndrome de Kallmann, el seguimiento debe ser realizado por endocrinólogos (pediatras, ginecólogos, etc.). El consejo genético es importante, ya que esta condición es a menudo hereditaria. Las mujeres con hipogonadismo hipogonadotropo necesitan a menudo seguimiento por un endocrinólogo experto en reproducción (o ginecólogo-obstetra con subespecialidad en este campo). Asimismo, aquellas pacientes con disfunción pituitaria y deseos de fertilidad también requieren seguimiento por parte de un especialista en endocrinología reproductiva. Algunas pacientes con amenorrea asociada con hipogonadismo hipogonadotro-

po relacionado con el estrés necesitan terapia psicológica, particularmente en los casos de anorexia nerviosa o bulimia, donde el desenlace puede ser fatal. Mujeres con hipopituitarismo deben ser valoradas periódicamente por endocrinólogos (pediatras y de adultos).

Bibliografía

1. Murphy KG. Kisspeptins: regulators of metastasis and the hypothalamic-pituitary-gonadal axis. *J Neuroendocrinol.* 2005;17:519-25.
2. Radovick S, MacGillivray M. *Pediatric Endocrinology: A Practical Clinical Guide.* Humana Press Inc; 2003. p. 385-6.
3. Bhagavath B, Podolsky RH, Ozata M, Bolu E, Bick D, Kulharya A, et al. Clinical and molecular characterization of a large sample of patients with hypogonadotropic hypogonadism. *Fertil Steril.* 2006;85:706-13.
4. Bouvattier C, Tauber M, Jouret B, Chaussain JL, Rochiccioli P. Gonadotropin treatment of hypogonadotropic hypogonadal adolescents. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 1999;12 Suppl 1:339-44.
5. Raine JE, Donaldson MDC, Gregory JW, Savage MO, Hintz RL. *Practical Endocrinology and Diabetes in Children, 2nd ed.* Blackwell Publishing, 2006. pp. 84-5.
6. Bridges NA, Brook CDG. Disorders of puberty. En: Brook CDG, ed. *Clinical Paediatric Endocrinology.* Blackwell Science, 1995.
7. Rose SR. Induction of puberty in female hypogonadism. *The Endocrinologist.* 1996;6:439-42.
8. Susman EJ, Finkelstein JW, Chinchilli VM, Schwab J, Liben LS, D'Arcangelo MR, et al. The effect of sex hormone replacement therapy on behavior problems and moods in adolescents with delayed puberty. *J Pediatr.* 1998;133:521-5.
9. Bournès P, François M, Pantalone L, Rodrigue D, Bouvattier C, Demesteere E, et al. Effects of an Early Postnatal Treatment of Hypogonadotropic Hypogonadism with a Continuous Subcutaneous Infusion of Recombinant Follicle-Stimulating Hormone and Luteinizing Hormone. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008;93:2202-5.
10. Brook CDG. Treatment of late puberty. *Horm Res.* 1999;51(Suppl 3):101-3.
11. Fauser BC, Van Heusden AM. Manipulation of human ovarian function: physiological concepts and clinical consequences. *Endocr Rev.* 1997;18:71-106.
12. Devroey P, Fauser BC, Platteau P, Beckers NG, Dhont M, Mannaerts BM. Induction of multiple follicular development by a single dose of long-acting recombinant follicle-stimulating hormone (FSH-CTP, corifollitropin alfa) for controlled ovarian stimulation before in vitro fertilization. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89:2062-70.
13. Nugent D, Vanderkerckhove P, Hughes E, Arnot M, Lilford R. Gonadotropin therapy for ovulation induction in subfertility associated with polycystic ovary syndrome. *The Cochrane Database of Systemic Reviews,* 2000.
14. Jansen RP. Pulsatile intravenous gonadotrophin releasing hormone for ovulation induction: determinants of follicular and luteal phase responses. *Hum Reprod.* 1993;8(Suppl 2):193-6.
15. Filicori M, Flamigni C, Dellai P, Cognigni G, Michelacci L, Arnone R, et al. Treatment of anovulation with pulsatile gonadotrophin-releasing hormone: prognostic factors and clinical results in 600 cycles. *J Clin Endocrinol Metab.* 1994;79:1215-20.



MESA REDONDA. ASPECTOS ENDOCRINOLÓGICOS DE LA PATOLOGÍA OVÁRICA

Preservación de la fertilidad en pacientes sometidos a tratamientos oncológicos

J. Llácer

Instituto Bernabeu, Elche, Alicante, España

Introducción

En las últimas décadas hemos asistido a una continua mejora en las tasas de supervivencia debido a los avances en los tratamientos oncológicos¹. Sin embargo, los tratamientos utilizados van asociados a efectos a largo plazo tan importantes como alteraciones en el crecimiento, problemas cardiovasculares, anomalías neurocognitivas, aparición de tumores secundarios y disminución en el potencial reproductivo²⁻⁵. Como consecuencia del aumento en el número de pacientes supervivientes de cáncer, ha ido cobrando una creciente atención el estudio de la repercusión de los tratamientos sobre la calidad de vida a largo plazo de los supervivientes⁶.

Se estima para EE.UU., en 2008, la aparición de 692.000 nuevos casos de cáncer en mujeres¹. Aproximadamente un 8% de esos casos sucede en mujeres menores de 40 años⁷. La tasa de supervivencia a los 5 años en cánceres diagnosticados en niños menores de 15 años ha pasado de un 58% en 1975 a un 80% en 2003¹. En 1997, el National Cancer Institute estimó el número de sobrevivientes de un cáncer infantil en 270.000, lo que correspondía a 1 por cada 1.000 habitantes⁸. Algunos autores han estimado que en el año 2010, 1 de cada 250 adultos será superviviente de un cáncer⁹.

La pérdida precoz de la función ovárica es una de las consecuencias más importantes a largo plazo de los tratamientos combinados de radio y quimioterapia y no sólo implica consecuencias a nivel hormonal llevando a una situación de menopausia precoz, sino que también conduce a una pérdida completa o parcial de la fertilidad. Aun en el caso de poder gestar tras recibir altas dosis de quimio-radioterapia,

puede haber un mayor riesgo de complicaciones durante el embarazo, como el aborto, el parto prematuro o el bajo peso al nacimiento^{10,11}.

En los cánceres pediátricos, el aumento en las tasas de supervivencia ha hecho que los pacientes o sus padres demanden información sobre las consecuencias a largo plazo de dichos tratamientos en cuanto a si éstos afectarán a su crecimiento, su desarrollo puberal o al pronóstico sobre su fertilidad y la posibilidad de preservarla mediante tratamiento. Todos estos aspectos van adquiriendo cada vez mayor importancia en el manejo de los pacientes, e incluso afectan a la elección del tratamiento¹²⁻¹⁴.

Actualmente es inexcusable informar a los padres sobre los efectos que sobre la fertilidad va a tener el tratamiento oncológico, siendo conscientes también de que es muy difícil ajustar un pronóstico. Tan pronto como se realiza el diagnóstico, y una vez se ha informado convenientemente a sus padres, en el caso en el que se considere la opción de preservar la fertilidad, el paciente debe ser remitido con la máxima prontitud a un centro especializado¹⁵.

Daño gonadal asociado a radio o quimioterapia

Quimioterapia

La utilización de múltiples agentes quimioterápicos constituye la base de la mayoría de tratamientos oncológicos en la actualidad. Los ovarios, que poseen desde antes ya del nacimiento un número limitado e irremplazable de folículos, son

extremadamente sensibles a los citotóxicos, por lo que estos producen un daño gonadal irreversible¹⁶, correlacionándose en el examen tisular con una pérdida folicular¹⁷ y siendo el resultado final del proceso fisiopatológico, la menopausia precoz y la esterilidad permanente. Sin embargo, la administración de quimioterápicos no es sinónimo de fallo ovárico total y esterilidad permanente, sino que va a depender de factores pronósticos, como son el tipo de quimioterápicos, la dosis y la edad de la paciente.

En la tabla I se muestran los citotóxicos, clasificados según el grado de gonadotoxicidad. Los agentes alquilantes son los que se asocian a un mayor riesgo de lesión ovárica, actuando de forma dosis dependiente¹⁸. En estudios experimentales realizados en ratas a las que se administró ciclofosfamida a diferentes dosis confirman claramente la dosis-dependencia del daño ovárico pero se apreció daño folicular a dosis tan bajas como 20 mg/kg¹⁹. La administración de ciclofosfamida incrementó el riesgo de fallo ovárico precoz (riesgo relativo entre 4 y 9,3, según diferentes estudios)^{20,21}.

Las mujeres de edad más avanzada y, por tanto, con menor reserva folicular tienen mayor riesgo de desarrollar fallo ovárico incluso con dosis más bajas²². Una vez concluido el tratamiento, la situación hormonal regresa en muchos casos a la normalidad, sobre todo en las más jóvenes; sin embargo, las mujeres tratadas con quimioterapia tendrán siempre mayor riesgo de menopausia precoz y esterilidad^{23,24}. Por todo ello, las pacientes tratadas deben ser alertadas sobre los riesgos de demorar la búsqueda de un embarazo ya que la pérdida de la fertilidad ocurrirá con mayor probabilidad a una edad más temprana.

Radioterapia

Es bien conocido el efecto lesivo que sobre las gónadas tienen las radiaciones ionizantes, provocando daño folicular y esterilidad permanente. El daño gonadal sucede no sólo en la irradiación directa de las gónadas en el caso de irradiación pélvica o en la parte inferior del abdomen, sino que puede ocurrir también cuando los ovarios están fuera de la zona de irradiación. El ovocito humano es muy sensible a la radiación y dosis mayores a 6 Gy causan fallo ovárico irreversible en la mayoría de los casos²⁵, mientras que dosis inferiores a 2 Gy son suficientes para destruir el 50% de la población ovocitaria²⁶. La edad de la paciente y el tipo de radioterapia y su forma de administración son factores pronósticos sobre la intensidad del daño gonadal. El pronóstico empeora cuanto mayor es la edad de la mujer y en general las dosis fraccionadas tienen un efecto más leve que las dosis simples.

Tabla I Citotóxicos según el grado de gonadotoxicidad

Alto riesgo	Riesgo intermedio	Bajo/no riesgo
Ciclofosfamida	Cisplatino	Mototrexate
Clorambucil	Carboplatino	5-fluorouracilo
Melfalan	Doxorrubicina	Mercaptopurina
Busulfan		Vincristina
Dacarbacina		Bleomicina
Mostaza nitrogenada		Actinomicina-D
Ifosfamida		
Procarbocina		

Las pacientes que reciben irradiación corporal total tienen un alto riesgo de desarrollar fallo ovárico, considerándose cercana al 100% la probabilidad de fallo ovárico cuando se recibe ciclofosfamida e irradiación corporal total²⁷. El retraso en la aparición del desarrollo puberal puede ser el primer signo de fallo ovárico en estas pacientes.

Cuando el útero es irradiado y la paciente gesta con posterioridad (bien sea por persistencia de su propia función ovárica o, con mayor frecuencia, por utilización de la donación de ovocitos para gestar) hay que considerar ese embarazo como de alto riesgo ya que las secuelas fundamentalmente en cuanto a la vascularización uterina aumentan la probabilidad de aborto, parto prematuro y bajo peso el nacimiento²⁸⁻³⁰.

Opciones para la preservación de la fertilidad

Criopreservación embrionaria

Consiste en la realización de un ciclo FIV, y por tanto precisa de la práctica de una hiperestimulación ovárica controlada así como de una punción ovárica transvaginal para la recogida ovocitaria.

Es una técnica bien establecida y desarrollada, con buenas tasas de éxito. Las tasas de supervivencia embrionaria se aproximan al 90% con tasas de embarazo superiores al 35% por transferencia (Instituto Bernabeu, 2008. Datos no publicados).

Es la única técnica que podríamos definir como *no experimental* y, por tanto, sería la de primera elección. Sin embargo, precisa de una serie de condicionantes que no la hacen apta para un gran número de pacientes. Por una parte, requiere de función ovárica adecuada, por lo que no puede utilizarse en pacientes prepuberales. Por otra parte, no es viable cuando la mujer no tiene pareja, salvo que utilizemos semen procedente de banco, lo cual no es una opción razonable para la mayoría de mujeres. Por último, precisa de un tiempo para su preparación y realización, lo que hace imposible su práctica cuando el tratamiento oncológico debe iniciarse sin demora.

Criopreservación de ovocitos

En pacientes con función ovárica adecuada, ya iniciada la pubertad, y sin tiempo suficiente para la realización de fertilización *in vitro* antes del inicio de la radio-quimioterapia, la congelación de ovocitos puede ser una opción adecuada.

El primer nacimiento descrito en la literatura tras congelación-descongelación de ovocitos fue publicado por Chen en 1986, es decir, hace ya más de 20 años³¹. Posteriormente, el grupo de Porcu publicó los primeros casos de nacidos con ovocitos previamente congelados utilizando microinyección intracitoplasmática de espermatozoides³², siendo reproducido por diversos autores^{33,34}. Sin embargo, la utilización de esta técnica no se generalizó debido a que los resultados fueron claramente inferiores a los obtenidos en FIV con ovocitos frescos e incluso a las tasas de embarazo obtenidas con embriones criopreservados³⁵. Sin embargo, en los últimos años se han publicado trabajos con mejores resultados con las técnicas de congelación tradicionales, al mismo tiempo que ha irrumpido una nueva técnica de congelación, denominada vitrificación, que ha hecho renacer el interés por la

criopreservación de ovocitos, practicándose en la actualidad de forma sistemática en muchos centros en el mundo.

La vitrificación ha simplificado enormemente el proceso de congelación y los resultados son actualmente casi equiparables a los obtenidos con ovocitos frescos, sobre todo cuando utilizamos ovocitos de pacientes no estériles, como es el caso de mujeres que quieren preservar su fertilidad³⁶.

Criopreservación y autotrasplante de tejido ovárico

La corteza ovárica contiene folículos primordiales con ovocitos detenidos en la fase de diplotene de la profase de la primera división meiótica; su estado de inmadurez con metabolismo bajo y ausencia de zona pelúcida lo hace menos susceptible al daño por congelación lo que, unido a la no necesidad de ningún proceso relacionado con la FIV, pudiendo obtenerse la muestra de forma inmediata, lo convierten en una alternativa para muchas pacientes con deseo de preservar su fertilidad, siendo la única estrategia posible cuando la paciente no ha llegado a la pubertad o la quimioterapia debe iniciarse inmediatamente. Por lo tanto, el objetivo del tratamiento es la reimplantación de tejido cortical ovárico en la paciente, bien sea en la cavidad pélvica (localización ortotópica) o en otro lugar de la anatomía, como el brazo o la pared abdominal (localización heterotópica).

El autotrasplante ortotópico tiene la ventaja de permitir la gestación espontánea; sin embargo, su realización es mucho más compleja, requiriendo anestesia general y la práctica de una laparoscopia o laparotomía. El heterotópico tiene múltiples ventajas, como son la no necesidad de cirugía abdominal y anestesia general, es fácil de extraer si se presentan complicaciones y, sobre todo, es mucho más fácil monitorizar el crecimiento folicular y la extracción de los óvulos para la realización de un ciclo de fertilización *in vitro*.

Los primeros estudios sobre criopreservación y trasplante de tejido ovárico datan de mediados del siglo pasado, cuando el único crioprotector utilizado era el glicerol, completamente inefectivo para congelar ovocitos o tejido ovárico. Por este motivo, los resultados fueron pésimos hasta la introducción de crioprotectores mucho más efectivos, como el etilenglicol, DMSO y propanediol³⁷. Con la utilización de estos últimos se

realizaron estudios animales publicándose embarazos con éxito en varias especies³⁸⁻⁴⁰. Esto animó a su utilización en humanos, publicándose casos en los que se constataba la restauración del desarrollo folicular tras la reimplantación de tejido ovárico previamente congelado^{41,42}. Posteriormente se han publicado nacimientos tras descongelación de tejido ovárico y trasplante ortotópico⁴³⁻⁴⁶ y desarrollo embrionario tras FIV en implantes ováricos heterotópicos⁴⁷ (tabla II). Hasta julio de 2008 sólo han nacido en el mundo 5 niños a través de esta técnica y se desconoce el número de mujeres que han sido reimplantadas con tejido ovárico. Varias asociaciones profesionales, como el *Royal College of Obstetricians and Gynaecologists* en 2000, la *British Fertility Society* en 2003⁴⁹, *The Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine* en 2004⁵⁰, o la *FIGO Committee for the Ethical Aspects of Human Reproduction and Women's Health* en 2006⁵¹, han establecido pautas para la introducción de esta técnica insistiendo en su carácter experimental y su resultado incierto.

El autotrasplante presenta un riesgo teórico de re inserción de células malignas y, por tanto, la reintroducción de la enfermedad en una paciente teóricamente curada⁵². Ante esta situación debe considerarse en principio la tendencia a metastatizar en ovario de cada tipo de tumor. Mientras algunos tipos de *cáncer*, como los linfomas o el tumor de Wilms, muy excepcionalmente metastatizan en ovario, las leucemias sí presentan un riesgo a considerar en este órgano⁵³. Por otra parte, es obligatorio tomar las medidas adecuadas desde el punto de vista histológico para detectar células tumorales en las muestras ováricas obtenidas.

Otras alternativas

Criopreservación de folículos primordiales y posterior cultivo *in vitro*

Se basa en aislar y criopreservar folículos primordiales para su posterior descongelación y maduración *in vitro* hasta conseguir folículos antrales, con lo que resolveríamos el problema de la re inserción de células tumorales.

Hasta la actualidad se han conseguido desarrollos foliculares completos e incluso iniciar el desarrollo embrionario *in vitro* pero sólo en ratones^{54,55}.

Tabla II Embarazos tras criopreservación y trasplante de tejido ovárico

Diagnóstico	Edad	Método quirúrgico	Implantación	Embarazo	Referencia
Linfoma de Hodgkin	25	Biopsia ovárica unilateral	Ortotópico	Espontáneo. Nacido vivo	Donnez et al (2004) ⁴⁵
Linfoma no Hodgkin	28	Biopsia ovárica unilateral	Ortotópico	FIV. Nacido vivo	Meirow et al (2005) ⁴⁶
Linfoma de Hodgkin	29	Ooforectomía unilateral	Ortotópico y heterotópico	Espontáneo. Aborto	Demeestere et al (2007) ⁴⁴
Linfoma de Hodgkin	28	Ooforectomía unilateral	Ortotópico y heterotópico	FIV. Embarazo bioquímico	Rosendahl (2006) ⁶¹
Linfoma de Hodgkin	31	Biopsia ovárica unilateral	Ortotópico y heterotópico	Espontáneo. Nacido vivo	Demeestere et al (2007) ⁴⁴
Linfoma de Hodgkin	25	Ooforectomía unilateral	Ortotópico y heterotópico	FIV. Aborto	Andersen et al (2008) ⁴³
Linfoma de Hodgkin	26	Ooforectomía unilateral	Ortotópico	FIV. Nacido vivo	Andersen et al (2008) ⁴³
Sarcoma de Ewing	27	Ooforectomía unilateral	Ortotópico	FIV. Nacido vivo	Andersen et al (2008) ⁴³

Xenotrasplante

Consiste en la implantación de tejido ovárico en ratas genéticamente modificadas para conseguir una inmunodeficiencia combinada grave⁵⁶. Se han publicado diversos trabajos demostrando el desarrollo folicular adecuado en tejido ovárico transplantado a ratas estimuladas con gonadotropinas^{57,58}. Hasta el momento, no se ha publicado aplicación clínica alguna de esta técnica, siendo su puesta en práctica dificultosa por los riesgos de transmisión de infecciones retrovirales entre especies. El elevado número de animales sacrificados necesarios para la aplicación de la técnica lo hace por el momento inviable.

Congelación del ovario completo y reimplantación vascular

Uno de los factores que impiden un mejor pronóstico del tejido ovárico criopreservado es la isquemia folicular. Esto podría minimizarse si fuéramos capaces de congelar el ovario entero con su pedículo con la máxima urgencia tras la extracción y posteriormente autotrasplantarlo mediante anastomosis del pedículo vascular, bien sea orto o heterotópico. Esto ha sido demostrado en animales^{59,60} pero no ha sido posible su realización en mujeres, fundamentalmente porque el tamaño del ovario humano es mucho mayor y además deben optimizarse las técnicas de congelación para conservar de forma adecuada la vascularización cortical ovárica. En cualquier caso, la investigación continúa y en un futuro puede ser una técnica útil para preservar la fertilidad.

Donación de ovocitos

Cuando las opciones de conservar la función ovárica son inexistentes o el esfuerzo para conseguir preservar la fertilidad no es razonable para la paciente, la donación de ovocitos constituye una alternativa con unas expectativas de éxito altas (es la técnica de reproducción asistida con mayores tasas de éxito), con un esfuerzo físico mucho menor y con una aceptación y satisfacción de las parejas magnífica. Las pacientes y sus progenitores deben ser informados de esta posibilidad antes de la toma de decisiones para preservar la fertilidad.

Conclusiones

- El aumento de las tasas de supervivencia con los modernos tratamientos oncológicos ha provocado una atención creciente a los efectos a largo plazo de dichos tratamientos.
- Los tratamientos de quimio y radioterapia tienen un efecto nocivo sobre la función ovárica y la fertilidad posterior de las pacientes tratadas.
- Es inexcusable la aportación de información adecuada sobre los efectos sobre la fertilidad de los tratamientos, así como de las posibilidades de preservarla.
- Existen diversas opciones para intentar preservar la fertilidad en las pacientes oncológicas.
- Actualmente, la única técnica aceptada como no experimental es la congelación de embriones. Desgraciadamente esta técnica no es asumible por muchas mujeres y no es posible realizarla en niñas ya que requiere de una función ovárica para la realización de FIV.
- La congelación de tejido ovárico es la única alternativa en la paciente prepuberal. Aunque los casos publicados sobre nacidos a través de esta técnica nos alientan a seguir

- por esta vía de investigación, hay que insistir en lo experimental del tratamiento así como en su resultado incierto.
- Cuando la preservación de la fertilidad es imposible o su realización no es razonable para la paciente, la donación de ovocitos puede constituir una alternativa satisfactoria.

Bibliografía

1. Jemal A, Center MM, Ward E, Thun MJ. Cancer occurrence. *Methods Mol Biol.* 2009;471:3-29.
2. Leung W, Hudson MM, Strickland DK, Phipps S, Srivastava DK, Ribeiro RC, et al. Late effects of treatment in survivors of childhood acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol.* 2000;18:3273-79.
3. Shusterman S, Meadows AT. Long term survivors of childhood leukemia. *Curr Opin Hematol.* 2000;7:217-22.
4. Bhatia S, Sather HN, Pabustan OB, Trigg ME, Gaynon PS, Robison LL. Low incidence of second neoplasms among children diagnosed with acute lymphoblastic leukemia after 1983. *Blood.* 2002;99:4257-64.
5. Tauchmanova L, Selleri C, Rosa GD, Pagano L, Orio F, Lombardi G, et al. High prevalence of endocrine dysfunction in long-term survivors after allogeneic bone marrow transplantation for hematologic diseases. *Cancer.* 2002;95:1076-84.
6. Duffy C, Allen S. Medical and psychosocial aspects of fertility after cancer. *Cancer J.* 2009;15:27-33.
7. Oktay KH, Yih M. Preliminary experience with orthotopic and heterotopic transplantation of ovarian cortical strips. *Semin Reprod Med.* 2002;20:63-74.
8. Simone JV. Childhood leukemia-successes and challenges for survivors. *N Engl J Med.* 2003;349:627-28.
9. Bleyer WA. The impact of childhood cancer on the United States and the world. *CA Cancer J Clin.* 1990;40:355-67.
10. Signorello LB, Cohen SS, Bosetti C, Stovall M, Kasper CE, Weathers RE, et al. Female survivors of childhood cancer: preterm birth and low birth weight among their children. *J Natl Cancer Inst.* 2006;98:1453-61.
11. Green DM, Whitton JA, Stovall M, Mertens AC, Donaldson SS, Ruymann FB, et al. Pregnancy outcome of female survivors of childhood cancer: a report from the Childhood Cancer Survivor Study. *Am J Obstet Gynecol.* 2002;187:1070-80.
12. Langeveld NE, Grootenhuis MA, Voute PA, de Haan RJ, van den BC. Quality of life, self-esteem and worries in young adult survivors of childhood cancer. *Psychooncology.* 2004;13:867-81.
13. Anderson RA, Weddell A, Spoudeas HA, Douglas C, Shalet SM, Levitt G, et al. Do doctors discuss fertility issues before they treat young patients with cancer? *Hum Reprod.* 2008;23: 2246-51.
14. Duffy C, Allen S. Medical and psychosocial aspects of fertility after cancer. *Cancer J.* 2009;15:27-33.
15. Lee SJ, Schover LR, Partridge AH, Patrizio P, Wallace WH, Hagerty K, et al. American Society of Clinical Oncology recommendations on fertility preservation in cancer patients. *J Clin Oncol.* 2006;24:2917-31.
16. Oktay K. Ovarian tissue cryopreservation and transplantation: preliminary findings and implications for cancer patients. *Hum Reprod Update.* 2001;7:526-34.
17. Familiari G, Caggiati A, Nottola SA, Ermini M, Di Benedetto MR, Motta PM. Ultrastructure of human ovarian primordial follicles after combination chemotherapy for Hodgkin's disease. *Hum Reprod.* 1993;8:2080-7.
18. Montz FJ, Wolff AJ, Gambone JC. Gonadal protection and fecundity rates in cyclophosphamide-treated rats. *Cancer Res.* 1991;51:2124-6.
19. Meirou D, Lewis H, Nugent D, Epstein M. Subclinical depletion of primordial follicular reserve in mice treated with cyclophosphamide: clinical importance and proposed accurate investigative tool. *Hum Reprod.* 1999;14:1903-7.

20. Byrne J, Fears TR, Gail MH, Pee D, Connelly RR, Austin DF, et al. Early menopause in long-term survivors of cancer during adolescence. *Am J Obstet Gynecol*. 1992;166:788-93.
21. Meirou D, Nugent D. The effects of radiotherapy and chemotherapy on female reproduction. *Hum Reprod Update*. 2001;7:535-43.
22. Tauchmanova L, Selli C, Rosa GD, Pagano L, Orio F, Lombardi G, et al. High prevalence of endocrine dysfunction in long-term survivors after allogeneic bone marrow transplantation for hematologic diseases. *Cancer*. 2002;95:1076-84.
23. Tauchmanova L, Selli C, Rosa GD, Pagano L, Orio F, Lombardi G, et al. High prevalence of endocrine dysfunction in long-term survivors after allogeneic bone marrow transplantation for hematologic diseases. *Cancer*. 2002;95:1076-84.
24. Wikstrom AM, Hovi L, Dunkel L, Saarinen-Pihkala UM. Restoration of ovarian function after chemotherapy for osteosarcoma. *Arch Dis Child*. 2003;88:428-31.
25. Howell S, Shalet S. Gonadal damage from chemotherapy and radiotherapy. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 1998;27:927-43.
26. Wallace WH, Thomson AB, Kelsey TW. The radiosensitivity of the human oocyte. *Hum Reprod*. 2003;18:117-21.
27. Sanders JE, Buckner CD, Amos D, Levy W, Appelbaum FR, Doney K, et al. Ovarian function following marrow transplantation for aplastic anemia or leukemia. *J Clin Oncol*. 1988;6:813-8.
28. Critchley HO, Bath LE, Wallace WH. Radiation damage to the uterus -review of the effects of treatment of childhood cancer. *Hum Fertil (Camb)*. 2002;5:61-6.
29. Green DM, Peabody EM, Nan B, Peterson S, Kalapurakal JA, Breslow NE. Pregnancy outcome after treatment for Wilms tumor: a report from the National Wilms Tumor Study Group. *J Clin Oncol*. 2002;20:2506-13.
30. Green DM, Whitton JA, Stovall M, Mertens AC, Donaldson SS, Ruymann FB, et al. Pregnancy outcome of female survivors of childhood cancer: a report from the Childhood Cancer Survivor Study. *Am J Obstet Gynecol*. 2002;187:1070-80.
31. Chen C. Pregnancy after human oocyte cryopreservation. *Lancet*. 1986;1:884-6.
32. Porcu E, Fabbri R, Seracchioli R, Ciotti PM, Magrini O, Flamigni C. Birth of a healthy female after intracytoplasmic sperm injection of cryopreserved human oocytes. *Fertil Steril*. 1997;68:724-6.
33. Quintans CJ, Donaldson MJ, Bertolino MV, Pasqualini RS. Birth of two babies using oocytes that were cryopreserved in a choline-based freezing medium. *Hum Reprod*. 2002;17:3149-52.
34. Yoon TK, Kim TJ, Park SE, Hong SW, Ko JJ, Chung HM, et al. Live births after vitrification of oocytes in a stimulated in vitro fertilization-embryo transfer program. *Fertil Steril*. 2003;79:1323-6.
35. Oktay K, Cil AP, Bang H. Efficiency of oocyte cryopreservation: a meta-analysis. *Fertil Steril*. 2006;86:70-80.
36. Kim TJ, Laufer LR, Wook Hong S. Vitrification of oocytes produces high pregnancy rates when carried out in fertile women. *Fertil Steril*. 12-2-2009.
37. Oktay K. Ovarian tissue cryopreservation and transplantation: preliminary findings and implications for cancer patients. *Hum Reprod Update*. 2001;7:526-34.
38. Gosden RG, Baird DT, Wade JC, Webb R. Restoration of fertility to oophorectomized sheep by ovarian autografts stored at -196 degrees C. *Hum Reprod*. 1994;9:597-603.
39. Szein J, Sweet H, Farley J, Mobraaten L. Cryopreservation and orthotopic transplantation of mouse ovaries: new approach in gamete banking. *Biol Reprod*. 1998;58:1071-4.
40. Liu J, Van Der EJ, Van den BR, Dhont M. Live offspring by in vitro fertilization of oocytes from cryopreserved primordial mouse follicles after sequential in vivo transplantation and in vitro maturation. *Biol Reprod* 2001;64:171-8.
41. Oktay K, Karlikaya G. Ovarian function after transplantation of frozen, banked autologous ovarian tissue. *N Eng J Med*. 2000;342:1919.
42. Radford JA, Lieberman BA, Brison DR, Smith AR, Critchlow JD, Russell SA, et al. Orthotopic reimplantation of cryopreserved ovarian cortical strips after high-dose chemotherapy for Hodgkin's lymphoma. *Lancet*. 2001;357:1172-5.
43. Andersen CY, Rosendahl M, Byskov AG, Loft A, Ottosen C, Dueholm M, et al. Two successful pregnancies following autotransplantation of frozen/thawed ovarian tissue. *Hum Reprod*. 2008;23:2266-72.
44. Demeestere I, Simon P, Emiliani S, Delbaere A, Englert Y. Fertility preservation: successful transplantation of cryopreserved ovarian tissue in a young patient previously treated for Hodgkin's disease. *Oncologist*. 2007;12:1437-42.
45. Donnez J, Dolmans MM, Demylle D, Jadoul P, Pirard C, Squifflet J, et al. Livebirth after orthotopic transplantation of cryopreserved ovarian tissue. *Lancet*. 2004;364:1405-10.
46. Meirou D, Levron J, Eldar-Geva T, Hardan I, Fridman E, Zalel Y, et al. Pregnancy after transplantation of cryopreserved ovarian tissue in a patient with ovarian failure after chemotherapy. *N Engl J Med*. 2005;353:318-21.
47. Oktay K, Buyuk E, Veeck L, Zaninovic N, Xu K, Takeuchi T, et al. Embryo development after heterotopic transplantation of cryopreserved ovarian tissue. *Lancet*. 2004;363:837-40.
48. Royal College of Obstetricians and Gynaecologists 2000. Storage of Ovarian and Prepubertal Testicular Tissue. Report of a Working Party. London: RCOG Press. 2000.
49. British Fertility Society. A strategy for fertility services for survivors of childhood cancer. *Hum Fertil (Camb)*. 2003;6:A1-A39.
50. The Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Ovarian tissue and oocyte cryopreservation. *Fertil Steril*. 2004;82:993-8.
51. Lee SJ, Schover LR, Partridge AH, Patrizio P, Wallace WH, Hagerty K, et al. American Society of Clinical Oncology recommendations on fertility preservation in cancer patients. *J Clin Oncol*. 2006;24:2917-31.
52. Shaw JM, Bowles J, Koopman P, Wood EC, Trounson AO. Fresh and cryopreserved ovarian tissue samples from donors with lymphoma transmit the cancer to graft recipients. *Hum Reprod*. 1996;11:1668-73.
53. Sonmezer M, Oktay K. Fertility preservation in female patients. *Hum Reprod Update*. 2004;10:251-66.
54. Cortvrindt R, Smits J, Van Steirteghem AC. A morphological and functional study of the effect of slow freezing followed by complete in-vitro maturation of primary mouse ovarian follicles. *Hum Reprod*. 1996;11:2648-55.
55. Smits J, Cortvrindt R. Oocyte in-vitro maturation and follicle culture: current clinical achievements and future directions. *Hum Reprod*. 1999;14 (Suppl 1):145-61.
56. Gosden RG, Boulton MI, Grant K, Webb R. Follicular development from ovarian xenografts in SCID mice. *J Reprod Fertil*. 1994;101:619-23.
57. Van Den BR, Liu J, Handyside A, Van der Elst JC, Krausz T, Dhont M, et al. Follicular growth in fresh and cryopreserved human ovarian cortical grafts transplanted to immunodeficient mice. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2001;97:193-201.
58. Oktay K, Newton H, Mullan J, Gosden RG. Development of human primordial follicles to antral stages in SCID/hpg mice stimulated with follicle stimulating hormone. *Hum Reprod*. 1998;13:1133-8.
59. Chiu DT, Hu G. Evaluation of the hormonal function and histological features of heterotopic isogenic ovarian transplantation in rats. *Plast Reconstr Surg*. 2003;111:1646-52.
60. Wang X, Chen H, Yin H, Kim SS, Lin TS, Gosden RG. Fertility after intact ovary transplantation. *Nature*. 2002;415:385.
61. Rosendahl M, Loft A, Byskov AG, Ziebe S, Schmidt KT, Andersen AN, et al. Biochemical pregnancy after fertilization of an oocyte aspirated from a heterotopic autotransplant of cryopreserved ovarian tissue: case report. *Hum Reprod*. 2006;21:2006-9.