

Criopreservación ovárica en niñas con cáncer: nuevos retos

G. Sanchís Blanco¹, M. Andrés Moreno², A.F. Gregoraci², J. Cortés Sáez¹, A. Marco Macián¹, J.M. Rubio Rubio³, E. Novella Maestre³, V. Castel Sánchez², C. García-Sala Víguer¹

¹Servicio de Cirugía Pediátrica. ²Unidad de Oncología Pediátrica. ³Unidad de Fertilidad y Reproducción. Hospital Universitario La Fe. Valencia.

RESUMEN

Objetivos. La criopreservación de la corteza ovárica (CCO) para futuro autotrasplante permitirá hacer frente al fallo ovárico precoz y a las alteraciones de la capacidad reproductiva que afectan a algunas de las supervivientes de cáncer pediátrico.

Material y métodos. En el Programa de Preservación de Fertilidad en Oncología Pediátrica se incluyen pacientes con alto riesgo gonadotóxico: las que vayan a recibir radioterapia pélvica, trasplante de precursores hematopoyéticos, altas dosis de radioterapia craneal o agentes alquilantes, o aquéllas con patología ovárica bilateral. Antes del tratamiento oncológico y coincidiendo con otros procedimientos invasivos, se recoge el tejido ovárico por vía laparoscópica. Una vez descartada la malignidad en la muestra y confirmada la presencia de folículos primordiales, el equipo multidisciplinar de oncólogo, cirujano y especialista en fertilidad coordina la manipulación y envío de la corteza ovárica al Banco de Tejidos de la Comunidad Valenciana.

Resultados. De julio de 2008 hasta mayo de 2010 se incluyeron en el programa a 8 pacientes, entre 8 y 18 años, con diagnóstico de: linfoma de Hodgkin (n= 2), leucemia aguda linfoide y mieloide (n= 2), sarcoma de Ewing pélvico, teratoma ovárico bilateral y meduloblastoma. Cinco pacientes recibieron quimioterapia no gonadotóxica previa a la CCO. De forma adicional, se practicaron 6 procedimientos en el mismo acto anestésico. Se realizó ooforectomía parcial en la mitad de los casos y total en el resto, asociando pexia ovárica en 1 ocasión. Todas las muestras fueron válidas.

Conclusiones. La CCO de los casos seleccionados se realizó de forma segura, sin complicaciones ni demora del tratamiento oncológico. Podemos afirmar que la primera experiencia nacional en este tipo de abordaje ha sido satisfactoria.

PALABRAS CLAVE: Criopreservación de corteza ovárica; Cáncer infantil; Fertilidad; Menopausia precoz.

OVARIAN CRYOPRESERVATION IN GIRLS WITH CANCER: NEW CHALLENGES

ABSTRACT

Background. Ovarian cortex cryopreservation (OCC) for future autotransplant represents a treatment alternative for those paediatric cancer survivors affected of ovarian failure and fertility disorders.

Methods. Patients with high gonadotoxic risk are included in the Oncology Paediatric Fertility Preservation Programme: those receiving pelvic radiotherapy, bone marrow transplantation, high doses of cranial radiotherapy or alkylating agents, or those with bilateral ovarian pathology. Prior to the oncological treatment, the ovarian tissue is harvested laparoscopically. At the same time, other invasive procedures are done. Once malignancy is ruled out of the specimen and the presence of primordial follicles is confirmed, the multidisciplinary team of oncologist, paediatric surgeon and fertility specialist coordinate the processing and delivery of the ovarian cortex to the Comunidad Valenciana Tissue Bank.

Results. From July 2008 to May 2010 eight patients have been included in the programme, aged between 8-18 years old and with diagnosis of: Hodgkin's lymphoma (n= 2), Acute Myeloblastic and Lymphoblastic leukaemia (n= 2), pelvic Ewing's sarcoma, bilateral ovarian Teratoma and Meduloblastoma. Five patients underwent non gonadotoxic chemotherapy before OCC. Six additional procedures were done using the same anaesthetic event. Partial oophorectomy was performed in half the cases, total oophorectomy in the rest of them, and an ovarian pexia was once associated. All taken samples were found to be valid.

Conclusions. OCC of selected patients was performed safely, with neither postoperative complications nor delay of the oncological treatment. Therefore, the first national experience in this procedure has been satisfactorily achieved.

KEY WORDS: Ovarian cortex cryopreservation; Children's cancer; Fertility; Premature menopause.

INTRODUCCIÓN

Los avances en los tratamientos oncológicos en pediatría han aumentado el número de supervivientes en las últimas décadas, alcanzando valores mayores al 70%⁽¹⁾. Es por eso que son cada vez más los pacientes que alcanzan la edad adulta y albergan deseos de concebir y formar una familia. Sin embargo, determinados agentes terapéuticos utilizados como las

Correspondencia: Georgina Sanchís Blanco. Servicio Cirugía Pediátrica. Hospital Universitario La Fe. Valencia
E-mail: georginasb@gmail.com

Trabajo presentado en el XLIX Congreso de la SECP

Recibido: Mayo 2010

Aceptado: Agosto 2010

Tabla I Tratamientos de alto riesgo gonadotóxico

- Radioterapia pélvica
- Trasplante de progenitores hematopoyéticos
- Altas dosis de agentes alquilantes
- Radioterapia holocraneal
- Patología ovárica bilateral

altas dosis de agentes alquilantes, la radioterapia (RT) pélvica, la irradiación holocraneal o el acondicionamiento para trasplante hematopoyético (TPH) tienen efectos gonadotóxicos reconocidos y pueden, en muchos casos, alterar la reserva ovárica causando menopausia precoz e infertilidad⁽²⁾.

Ante esta perspectiva, son cada vez más los especialistas sensibilizados que se esfuerzan en ofrecer alternativas a estas pacientes, aprovechando los constantes avances en reproducción asistida. En mujeres adultas, la congelación de embriones o la vitrificación de ovocitos previas al tratamiento antineoplásico suponen opciones realistas para la preservación de la fertilidad. Su aplicación en la población pediátrica tiene, sin embargo, limitaciones evidentes⁽³⁾. Así pues, en la actualidad la única opción para niñas y adolescentes es la considerada todavía experimental criopreservación de la corteza ovárica (CCO).

Ya desde el nacimiento, la corteza ovárica contiene la reserva total de folículos primordiales imprescindible para el potencial fértil individual. La obtención de un fragmento para su congelación permitirá, en un futuro, el autotrasplante de la misma y la posibilidad de recuperar la función tanto hormonal como reproductiva, tal y como ya han constatado varios grupos de trabajo^(4,5). En los últimos meses, la investigación y avances en la maduración *in vitro* de dichos folículos abre una nueva puerta para aquellas pacientes con enfermedades hematológicas a las que la implantación del tejido ovárico pueda representar un riesgo para su salud^(1,4).

Es ante este panorama esperanzador cuando nuestro centro ha decidido poner en marcha un programa de preservación de la fertilidad de las pacientes oncológicas pediátricas en riesgo, teniendo en cuenta las características fisiológicas y psicológicas de esta población tan vulnerable, y siempre desde un enfoque multidisciplinar. A continuación presentamos los resultados iniciales de nuestra experiencia.

MATERIAL Y MÉTODOS

El desarrollo del programa de preservación de la fertilidad en niñas con cáncer se inició en julio de 2008, y cuenta con un equipo multidisciplinar de oncología pediátrica, cirugía pediátrica y especialistas en reproducción.

El oncólogo pediatra selecciona las candidatas según el riesgo gonadotóxico de los tratamientos que recibirán. Solo aquellas de alto riesgo (Tabla I) se proponen para la inter-



Figura 1. El fragmento de corteza ovárica se obtiene mediante sección fría con tijera laparoscópica.

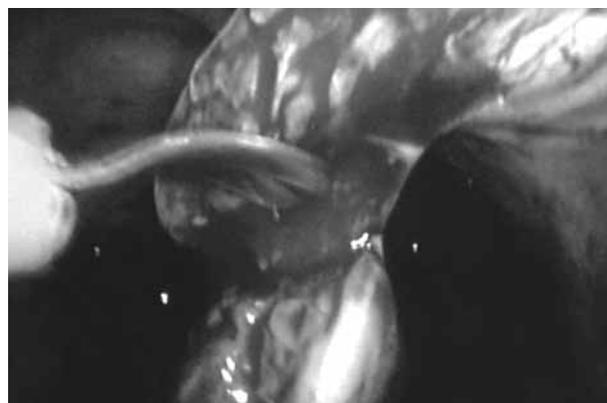


Figura 2. Revisión de la hemostasia del ovario restante y electrocoagulación exclusiva de la médula ovárica.

vención. Tanto los padres como las pacientes mayores de 12 años dan su consentimiento para realizar el procedimiento. Mediante estudios de imagen (ecografía o TAC) se descarta la presencia de enfermedad en el ovario y se visualiza la morfología de los mismos.

El tejido ovárico se obtiene por cirugía laparoscópica bajo anestesia general, y se asocia con otros procedimientos que requieran sedación: colocación de catéter venoso central (CVC), punción lumbar (PL), aspirado de médula ósea (AMO) o resección del tumor. Se utiliza un trócar umbilical de 10 mm y dos trócares de 5 mm colocados en los cuadrantes inferiores derecho e izquierdo. El programa actual pediátrico considera la ooforectomía parcial como técnica quirúrgica de elección. Mediante tijeras de corte frío se secciona un bloque de corteza ovárica, aproximadamente el 50% del total. La hemostasia con electrocoagulación se limita a la zona medular (Figs. 1 y 2). En todos los casos, el tejido se extrae con una bolsa laparoscópica y se transfiere al especialista en reproducción para su inmediata manipulación (Fig. 3). Tras el envío de muestras para descartar malignidad (estudios histológicos, morfológicos y de



Figura 3. Manipulación del tejido ovárico para su criopreservación. División en múltiples fragmentos para estudios biológicos, muestra extemporánea para descartar malignidad e inmediata inmersión en líquido de preservación.

biología molecular), la corteza ovárica se remite de forma urgente al Banco de Tejidos de la Comunidad Valenciana. Allí se somete a un proceso de congelación lenta, según el protocolo establecido.

El programa contempla la posibilidad de descongelación y autotrasplante del tejido ovárico en aquellas pacientes mayores de edad, con un tiempo de supervivencia libre de enfermedad razonable y que hayan experimentado fallo ovárico precoz (FOP).

RESULTADOS

En el periodo entre julio de 2008 hasta mayo del 2010 se han incluido en el programa 8 pacientes consideradas de alto riesgo gonadotóxico, mediana de edad de 13 años (rango: 8-18) y con los siguientes diagnósticos: linfoma de Hodgkin estadio III (n= 2), leucemia aguda linfoide y

mieloide (n= 2), sarcoma de Ewing pélvico metastásico, teratoma ovárico bilateral y meduloblastoma metastásico (Tabla II).

Cinco de las 8 pacientes recibieron quimioterapia (QT) poco gonadotóxica previa a la CCO. Tres de ellas se someterían a un TPH posterior, para el tratamiento de su leucemia aguda. En todos los casos se descartó enfermedad macroscópica en el ovario mediante técnicas de imagen (ecografía abdominal) antes de la intervención.

La corteza ovárica se obtuvo por vía laparoscópica. En la mitad de las pacientes se realizó ooforectomía parcial y, en la otra mitad, ooforectomía total. A la paciente con sarcoma de Ewing pélvico, pendiente de recibir RT abdominal a altas dosis, se le asoció una pexia ovárica. Se practicaron 6 procedimientos (2 implantaciones de CVCs, 3 AMO y 1 PL) en el mismo acto quirúrgico en 5 pacientes.

La totalidad de las muestras recogidas fue válida, descartándose malignidad y evidenciando folículos primordiales

Tabla II

Paciente	Edad	Diagnóstico	Tratamiento	Ooforectomía	Anatomía patológica	Evolución
1	13	S. Ewing pala ilíaca D metastático	RT + QT + autoTPH	Total D + pexia I Pre Tto	Folículos ✓✓ Malignidad ✗	Vive
2	8	Meduloblastoma Metastático	IQ + QT + RT	Total I Pre Tto	Folículos ✓✓✓ Malignidad ✗	Vive
3	18	Teratoma maduro ovario	IQ	Total D	Folículos ✓✓ Malignidad ✗	Vive
4	13	Linfoma Hodgkin estadio III	QT	Total Post 1 ciclo	Folículos ✓✓ Malignidad ✗	Vive
5	13	Linfoma Hodgkin estadio III	QT	Parcial I Pre Tto	Folículos ✓ Malignidad ✗	Vive
6	15	LMA	QT + TPH	Parcial D Pre TPH	Folículos ✓✓✓ Malignidad ✗	Vive
7	13	LMA	QT + TPH	Parcial D Pre TPH	Folículos ✓✓ Malignidad ✗	Vive
8	16	LLA	QT + TPH	Parcial D Pre TPH	Folículos ✓ Malignidad ✗	Vive

RT: radioterapia; QT: quimioterapia; IQ: cirugía; Pre TPH: antes del trasplante de progenitores hematopoyéticos; Pre Tto: antes de iniciar el tratamiento; Post 1 ciclo: después de 1 ciclo de quimioterapia; D: derecha; I: izquierda; LMA: leucemia mieloide aguda; LLA: leucemia linfóide aguda; ✓: presente; ✗: ausente.

en las cortezas. Todas las pacientes tuvieron una excelente evolución posterior, sin presentar ningún tipo de complicación derivada de la cirugía, y en ningún caso se retrasó el tratamiento oncológico. En el momento actual, todas las pacientes se encuentran libres de enfermedad con una media de seguimiento de 7 meses.

DISCUSIÓN

A medida que los tratamientos del cáncer pediátrico han mejorado la supervivencia, los efectos secundarios de los mismos han tomado mayor relevancia. La menopausia precoz y la infertilidad, aunque poco frecuentes en líneas generales, suponen un gran impacto en la vida de los pacientes⁽³⁾. Ofrecer una alternativa para prevenir y poder tratar esta condición es, por tanto, de suma importancia.

Las opciones de preservación de la fertilidad en niñas y adolescentes son más limitadas que en mujeres adultas. La congelación de embriones y la vitrificación de ovocitos no se contemplan en este colectivo porque requieren un periodo de estimulación hormonal que puede retrasar el tratamiento oncológico, técnicas agresivas en el procedimiento (acceso transvaginal) y la necesidad de una pareja para desarrollar un embrión⁽²⁾.

Así pues, la CCO se presenta como la única alternativa en la infancia que, además, permite disponer de folículos primordiales desde edades muy tempranas. Tal y como han hecho otros grupos de trabajo a nivel internacional⁽⁶⁻⁸⁾, el programa iniciado desciende la edad de corte sin límite in-

ferior. Todo ello implicando de forma activa a los cirujanos pediátricos en estrecha colaboración con los especialistas de fertilidad.

Resulta de vital importancia la selección adecuada de las candidatas. Algunos grupos recomiendan la CCO para aquellas pacientes con >50% de riesgo de FOP⁽⁵⁾. Sin embargo, dado el perfil considerado todavía experimental de la técnica, nuestro programa se ofrece a aquellas niñas y adolescentes que presenten un riesgo elevado (considerado >80%). Este grupo incluye aquellas que vayan a recibir dosis altas de agentes alquilantes (principalmente ciclofosfamida, ifosfamida, nitrosureas, clorambucil, melfalan, busulfan y procarbacin) bien sea como acondicionamiento de TPH o como parte de su protocolo de QT; las que vayan a someterse a RT pélvica, irradiación corporal total utilizada en TPH, así como a RT holocraneal que anula el eje endocrino-gonadal; y, finalmente, aquellas que presenten patología ovárica bilateral.

Preferiblemente, la CCO debe realizarse antes que las pacientes reciban la QT gonadotóxica, aunque se pueden valorar excepciones según los ciclos, dosis y tipo de QT que hayan recibido. Los principales grupos de trabajo coinciden con nosotros en realizar la CCO en pacientes con leucemia que van a ser sometidas a TPH, justo antes de llevarlo a cabo^(2,9).

El fragmento de corteza ovárica puede extirparse mediante biopsias múltiples u ooforectomía. Antes de desarrollar completamente el programa pediátrico, se aplicó el protocolo de mujeres adultas vigente en nuestro hospital en 4 ocasiones, realizando así una ooforectomía total. Sin embargo, dada la gran reserva ovárica de la niña y, de acuerdo con otros centros de oncología infantil⁽²⁾, preferimos la ooforectomía parcial.

Pudiendo considerarse la extirpación total en aquellos casos de riesgo muy elevado de FOP.

Para obtener el tejido ovárico, debe evitarse la electrocoagulación ya que estudios histológicos muestran daño de los folículos primordiales⁽¹⁰⁾. Por este motivo utilizamos el corte frío, aunque hay equipos que dejan a manos del cirujano la elección del instrumental⁽⁸⁾.

La transposición ovárica mediante pexia puede asociarse a los casos de RT pélvica. Aunque no elimina la gonadotoxicidad producida por la QT que habitualmente se asocia, sí reduce el impacto de la radiación al alejar el ovario del campo de tratamiento^(1,6).

El objetivo final de la CCO es el autotrasplante, a realizar en el momento en que se confirme el FOP de la paciente y siempre que se encuentre libre de enfermedad. Aunque se considera todavía experimental, esta técnica se ha realizado en mujeres adultas desde el año 2000⁽¹¹⁾, consiguiendo la restauración endocrina y de la fertilidad, y se describen los primeros nacimientos de niños sanos en 2004⁽¹²⁾. En población pediátrica aún no hay datos publicados respecto a la utilización de corteza criopreservada. El trasplante de tejido ovárico puede realizarse ortotópico o heterotópico⁽¹⁰⁾. La implantación en un bolsillo peritoneal o el injerto en el ovario (ya sea el mismo biopsiado o el contralateral), se considera ortotópico y ofrece la posibilidad de generar embarazos espontáneos. En cambio, la implantación heterotópica de corteza criopreservada en el tejido celular subcutáneo del antebrazo o de la pared abdominal persigue, principalmente, la recuperación hormonal. Si bien hay casos descritos de embarazos espontáneos⁽¹³⁾, se prevé la necesidad de recurrir a técnicas de fertilización *in vitro* utilizando los ovocitos generados en el tejido implantado.

Dada la posibilidad teórica de reintroducir células malignas con el autotrasplante, el tejido es sometido a estudios exhaustivos para descartar enfermedad⁽¹⁰⁾ (histología, inmunohistoquímica, reacción en cadena de la polimerasa, etc.). En los últimos meses, además, se están desarrollando técnicas de maduración folicular *in vitro*^(1,4) para las pacientes con leucemia y aquellas con riesgo de existir enfermedad en el ovario en las que el autotrasplante de la corteza estaría contraindicado⁽¹⁴⁾.

Aunque se encuentra todavía en fase experimental, la CCO es, desde nuestra experiencia, una técnica sencilla, de recuperación postoperatoria rápida (24-48 horas) que no asocia morbilidad ni demora del tratamiento oncológico. Estos datos, junto al hecho de que el mismo acto anestésico se utiliza para otros procedimientos que resultan invasivos en la infancia, resaltan la necesidad de un enfoque pediátrico y multidisciplinar del programa. Los buenos resultados obtenidos en nuestra

serie son alentadores y ofrecen un futuro prometedor para la preservación de la fertilidad en las jóvenes pacientes.

BIBLIOGRAFÍA

1. Andrés MM, Castel V. Preservación de la fertilidad en niños adolescentes con cáncer: situación actual y perspectivas futuras. *An Pediatr*. 2009; 71 (5): 440-6.
2. Wallace W, Anderson RA, Irvine S. Fertility preservation for young patients with cancer: who is at risk and what can be offered? *Lancet Oncol*. 2005; 6: 209-18.
3. Lee S, Schover L, Partridge A, Patricio P, Wallace W, Hagerty K, et al. American Society of clinical Oncology recommendations on Fertility preservation in Cancer Patients. *J Clin Oncol*. 2006; 24: 2917-31.
4. Jeruss JS, Woodruff TK. Preservation of fertility in patients with cancer. *N Engl J Med*. 2009; 360: 902-11.
5. Anderson RA, Wallace W, Baird DT. Ovarian cryopreservation for fertility preservation: indications and outcomes. *Reproduction*. 2008; 136: 681-9.
6. Oktay K, Oktem O. Fertility preservation medicine: a new field in the care of young cancer survivors. *Pediatr Blood Cancer*. 2009; 53: 267-73.
7. Oktay K, Oktem O. Ovarian cryopreservation and transplantation for fertility preservation for medical indications: report of an ongoing experience. *Fertil Steril*. 2010; 93: 762-8.
8. Feigin E, Abir R, Fisch B, Kravarusic D, Steinberg R, Nitke S, et al. Laparoscopic ovarian tissue preservation in young patients at risk for ovarian failure as a result of chemotherapy/irradiation for primary malignancy. *J Ped Surg*. 2007; 42: 862-4.
9. 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.
10. Von Wolff M, Donnez J, Hovatta O, Keros V, Maltaris T, Montag M, et al. Cryopreservation and autotransplantation of human ovarian tissue prior to cytotoxic therapy - A technique in its infancy but already successful in fertility preservation. *Eur J Cancer*. 2009; 45: 1547-53.
11. Oktay K, Karlikaya G. Ovarian function after transplantation of frozen, banked autologous ovarian tissue. *N Engl J Med*. 2000; 342: 1919.
12. Donnez J, Dolmans MM, Demylle D, Jadoul P, Pirard C, Squifflet J, et al. Live birth after orthotopic transplantation of cryopreserved ovarian tissue. *Lancet*. 2004; 364: 1405-10.
13. Oktay K. Spontaneous conceptions and live birth after heterotopic ovarian transplantation: is there a germline stem cell connection? *Hum Reprod*. 2006; 21: 1345-8.
14. Rosendahl M, Andersen MT, Ralkiaer E, Kielsen L, Andersen MK, Andersen CY. Evidence of residual disease in cryopreserved ovarian cortex from female patients with leukemia. *Fertil Steril*. 2010; 94 (6): 2186-90.