

Oncofertilidad femenina: estrategias actuales y futuras

Female oncofertility: current and future strategies

Vitale Francisco¹

¹ Médico Ginecólogo-Obstetra. Polo de investigación en Ginecología, Universidad Católica de Lovaina, Bruselas, Bélgica

Correspondencia: Francisco Vitale. E-mail: franvitale92@gmail.com

Conflictos de Interés: los autores declaran no tener conflictos de interés.

Resumen

En las últimas décadas, los avances en diagnóstico y tratamiento de enfermedades oncológicas han aumentado la supervivencia de los pacientes, generando como daño colateral altas tasas de insuficiencia ovárica prematura (IOP) e infertilidad, principalmente en pacientes jóvenes, debido a la gonadotoxicidad de la quimioterapia y la radioterapia. Este artículo revisa en primera instancia las distintas estrategias actuales de preservación de la fertilidad en este grupo de pacientes, como la criopreservación de embriones/ovocitos, que se presenta como opción convencional establecida, con altas tasas de éxito. Nuevos protocolos, como el inicio aleatorio de la estimulación ovárica, han mejorado la eficiencia y reducido el tiempo de espera para iniciar el tratamiento oncológico. La criopreservación y el trasplante de tejido ovárico (CTO/TTO) es la única opción válida para niñas prepuberales, y para casos urgentes. Estudios recientes muestran favorables tasas de éxito en la restauración endocrina y de la fertilidad, aunque todavía persisten preocupaciones sobre la reintroducción de células malignas. La maduración in vitro (MIV) de ovocitos ofrece una alternativa para pacientes con contraindicaciones para la estimulación ovárica controlada. Aunque la tasa de éxito ha mejorado, sigue siendo inferior a la de ovocitos maduros obtenidos mediante estimulación ovárica convencional. La revisión también plantea futuras estrategias de oncofertilidad que por el momento se encuentran en fase experimental, como el uso de nuevos agentes ferto-protectores durante la administración de quimioterapia, el cultivo de tejido ovárico para el desarrollo folicular in vitro y la aplicabilidad de ovarios artificiales trasplantables.

Palabras clave: oncofertilidad; criopreservación; tejido ovárico; maduración in vitro; ovario artificial trasplantable.

Abstract

In recent decades, advances in the diagnosis and treatment of oncological diseases have increased patient survival rates. However, as a collateral damage, high rates of premature ovarian insufficiency (POI) and infertility, primarily in young patients, have been observed due to the gonadotoxicity of chemotherapy and radiotherapy. This article initially reviews the various current strategies for fertility preservation in this patient group, such as embryo/oocyte cryopreservation, which is presented as an established conventional option with high success rates. New protocols, such as random start ovarian stimulation, have improved efficiency and reduced the waiting time to initiate oncological treatment. Ovarian tissue cryopreservation and transplantation (OTC/OTT) are the only viable options for prepubertal girls and urgent cases. Recent studies show favorable success rates in endocrine and fertility restoration, although concerns persist regarding the reintroduction of malignant cells. Oocyte in vitro maturation (IVM) offers an alternative for patients with contraindications for controlled ovarian stimulation. Although success rates have improved, they remain lower than those of mature oocytes obtained through conventional ovarian stimulation. This review also discusses future oncofertility strategies which are currently in the experimental phase, such as the use of new ferto-protective agents during chemotherapy administration, ovarian tissue in vitro culture for follicular development, and the applicability of transplantable artificial ovaries.

Key words: oncofertility; cryopreservation; ovarian tissue; in vitro maturation; transplantable artificial ovary.

INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas, los notables avances en el diagnóstico y tratamiento temprano del cáncer han resultado en un aumento significativo en la tasa de supervivencia, especialmente en pacientes oncológicas jóvenes^(1,2). No obstante, el tratamiento oncológico para estas pacientes generalmente implica extensas sesiones de quimioterapia y/o radioterapia, las cuales han demostrado tener un fuerte efecto gonadotóxico, llevando en muchos casos a una insuficiencia ovárica prematura (IOP), menopausia precoz e infertilidad consecuente⁽³⁾. Aproximadamente, el 30% de los niños expuestos a quimioterapia y/o radioterapia desarrollan disfunción gonadal⁽⁴⁾, y se estima que para el año 2025 habrá alrededor de 100 millones de mujeres en riesgo de sufrir daño ovárico inducido por la quimioterapia⁽⁵⁾. En este contexto, la preservación de la fertilidad y la calidad de vida de estas pacientes ha generado una considerable preocupación.

Aunque el mecanismo aún no está completamente esclarecido, estudios actuales demuestran que las drogas quimioterápicas, especialmente los agentes alquilantes, como la ciclofosfamida, interfieren con la replicación del ADN y la división celular⁽⁶⁾, generando un daño directo en los folículos en etapa de crecimiento. También se observó que sobreactivan de manera masiva los folículos primordiales (FP) acelerando la depleción de la reserva ovárica⁽⁷⁾, y dañan la vascularización del tejido ovárico⁽⁸⁾. La terapia radiante, sobre todo si incluye la región pélvica, también es perjudicial para la reserva ovárica, ya que una dosis de 2 Gy es suficiente para destruir el 50% de los FPs⁽⁹⁾. La edad del paciente, la región irradiada y la dosis utilizada son los factores más determinantes del grado de gonadotoxicidad. La tasa de IOP en pacientes que han experimentado radiación corporal total y radiación pélvica es del 90% y del 97%, respectivamente⁽¹⁰⁾. El mecanismo propuesto de destrucción folicular es mediante el daño ionizante en el ADN⁽¹¹⁾. A su vez, al largo plazo, la radiación genera alteración de la microvasculatura y daño en el estroma ovárico, provocando una extensa fibrosis que acentúa aún más la depleción folicular y una eventual disfunción ovárica⁽¹⁰⁾.

Estrategias de preservación de la fertilidad en pacientes oncológicas

Criopreservación de embriones y ovocitos

Según las guías actuales de la European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE) las técnicas de criopreservación de embriones y de ovocitos son opciones válidas, establecidas para preservar la fertilidad en pacientes postpuberales⁽¹²⁾. Durante muchos años, la criopreservación de embriones se utilizó como único método convencional para preservar la fertilidad, con elevadas tasas de éxito. En el año 2012, la American Society for Reproductive Medicine (ASRM) dejó de considerar a la criopreservación de ovocitos como experimental⁽¹³⁾ y actualmente esta técnica se ofrece como alternativa válida a mujeres sin pareja⁽¹²⁾. Ambas técnicas involucran una estimulación ovárica controlada, una recolección de ovocitos mediante aspiración folicular, y la congelación (vitrificación) de los mismos. La criopreservación de embriones requiere un paso adicional antes de la congelación, que involucra la fertilización in vitro (FIV). La tasa de nacido vivo de estas técnicas depende de la edad de la paciente y del número de ovocitos/embriones criopreservados⁽¹⁴⁾, y oscila entre el 30% y el 40%⁽¹⁵⁾.

En situaciones que demandan un inicio inmediato del tratamiento oncológico, se han introducido nuevos protocolos de estimulación con el objetivo de reducir el tiempo de inicio. La evidencia actual sugiere que múltiples oleadas foliculares son reclutadas de manera continua durante un mismo ciclo menstrual. Este concepto ha contribuido al desarrollo de la variante de estimulación conocida como "random start" (inicio aleatorio), en donde se comienza con la estimulación ovárica en cualquier fase del ciclo, ofreciendo así un gran beneficio con respecto a la cantidad de días de retraso del inicio de la quimioterapia. Los resultados demuestran que no hay diferencias entre la cantidad de ovocitos y la tasa de fecundación obtenidas por esta técnica en comparación con ciclos convencionales de estimulación ovárica^(16,17). Otra variante es el protocolo DouStim (realización de dos estimulaciones ováricas en un mismo ciclo), el cual demostró ser especialmente favorable en la cantidad de ovocitos

recuperados^(18,19). Aunque todavía la calidad de los reportes acerca de este protocolo es moderada-baja, ciertamente representa una opción que vale la pena seguir siendo estudiada. Por otro lado, la combinación de Letrozol, un inhibidor de la enzima aromatasas, durante la estimulación ovárica controlada con gonadotropinas demostró disminuir sustancialmente los niveles máximos de estradiol sin efectos negativos en la maduración del ovocito, aumentando así la seguridad en pacientes con cáncer hormono-sensibles (por ejemplo, cáncer de mama y cáncer de endometrio)⁽²⁰⁾. Este protocolo ha demostrado, con un seguimiento de hasta cinco años, que las tasas de recurrencia y supervivencia al cáncer de mama son similares a quienes no recibieron un tratamiento de estimulación ovárica⁽²¹⁾.

Siempre que sea posible, se recomienda realizar la criopreservación de embriones/ovocitos antes de recibir el tratamiento gonadotóxico, ya que varios estudios demostraron que la respuesta a la estimulación ovárica y la cantidad de folículos generados tienden a disminuir en este tipo de pacientes⁽²²⁾.

Criopreservación (CTO) y trasplante de tejido ovárico (TTO)

Esta técnica consiste en la extracción de tejido ovárico y la criopreservación de fragmentos corticales, para ser auto-trasplantados nuevamente dentro de la cavidad pélvica luego de la remisión completa de la patología oncológica^(2,23). Las principales ventajas son el breve periodo de tiempo requerido para su realización, ya que no necesita estimulación ovárica previa, y la posibilidad de preservar tanto la función reproductiva como la endocrina. A su vez, la CTO es la única opción de preservación de la fertilidad para niñas prepuberales y en casos de pacientes que no pueden retrasar el inicio del tratamiento oncológico^(2,12).

La CTO dejó de ser rotulada como experimental por la ASRM en el año 2019, a pesar de que el primer embarazo reportado por esta técnica fue obtenido en el año 2004⁽²⁴⁾. Desde entonces, más de 200 nacidos vivos se han reportado con el uso de esta técnica. En un artículo que incluyó un extenso reporte de casos realizados en cinco destacados centros europeos, la tasa de nacido vivo luego del

trasplante fue del 30% y del 21%, entre aquellas que concibieron de manera natural y las que se sometieron a FIV, respectivamente⁽²⁵⁾. Además de los resultados reproductivos positivos, casi el 90% de las pacientes trasplantadas recuperó su función endócrina, evidenciada por la restauración de ciclos menstruales y una mejoría en el perfil hormonal, en un periodo de entre 4 a 9 meses luego del trasplante⁽²⁵⁾. Con respecto a la viabilidad del tejido trasplantado, se ha demostrado una duración de hasta 7 años⁽²⁵⁾.

Se han desarrollado criterios estrictos de selección para esta técnica, que incluyen:

- Mujeres menores de 35 años (reserva ovárica poco comprometida).
- Oportunidad realista de supervivencia a cinco años.
- Riesgo de padecer una IOP debido al tratamiento oncológico superior al 50%.

Existen dos distintos métodos de congelación del tejido ovárico: la vitrificación y la congelación lenta. Los primeros estudios que compararon ambas técnicas arrojaron resultados contradictorios⁽²⁶⁾. En la actualidad, la mayoría de los nacimientos reportados se lograron utilizando la técnica de congelación lenta⁽²⁵⁾, y solo hay unos pocos casos de nacimientos a partir de tejido vitrificado⁽²⁷⁾. Esto probablemente se deba a la reciente incorporación de la vitrificación como metodología de criopreservación de tejido ovárico. Los resultados de estudios recientes muestran que tanto la vitrificación como la congelación lenta son capaces de preservar la morfología folicular y estromal⁽²⁸⁾.

A pesar de los resultados alentadores de esta técnica, existen algunas cuestiones que todavía deben mejorarse. En primer lugar, varios estudios reportaron una pérdida masiva de folículos ováricos inmediatamente después del trasplante, debido a la isquemia inicial. Se estima que alrededor del 60-80% de los folículos ováricos se pierden durante los primeros días post-trasplante⁽²⁹⁾. Para mejorar este resultado, varios grupos de investigación han sugerido el uso de agentes que incrementen la neoangiogénesis, incluyendo factores proangiogénicos, antioxidantes y terapias con células madre⁽³⁰⁻³²⁾. En segundo lugar, el riesgo de reintroducir células

malignas ocultas en el TTO sigue siendo una gran inquietud. Patologías oncológicas como leucemia, linfoma de Burkitt, neuroblastoma y neoplasias del ovario ocupan el grupo de alto riesgo. Sin embargo, existen estrategias para aumentar la seguridad del tejido trasplantado, como por ejemplo: a) evaluación histológica de un fragmento de tejido ovárico por anatomopatólogo experto mediante técnicas de inmunohistoquímica en búsqueda de células neoplásicas, b) pruebas de qPCR usando marcadores específicos para la enfermedad oncológica de base, y c) xenotrasplante en ratón y evaluación a largo plazo para excluir invasión neoplásica en ganglios linfáticos y otros órganos target (hígado, bazo, etc) ⁽³³⁾.

Respecto a las distintas técnicas utilizadas para el TTO, este puede ser ortotópico (dentro de la cavidad pélvica: sobre el ovario remanente o dentro de una ventana peritoneal previamente creada), o heterotópico (por fuera de la cavidad pélvica): a nivel subcutáneo en el abdomen o en el antebrazo. El enfoque ortotópico puede abordarse de manera laparoscópica o mediante una mini-laparotomía ⁽³⁴⁾, y varios centros ya han demostrado con éxito la restauración tanto de la fertilidad como de la función endócrina ⁽²⁵⁾. La variante heterotópica se reserva para pacientes en donde se dificulta la opción ortotópica (múltiples cirugías previas, adherencias, fibrosis, pelvis irradiada, etc). Si bien la paciente recupera su función endócrina, la restauración de la fertilidad luego de esta técnica resulta más desafiante.

Maduración in vitro (MIV) de ovocitos y posterior criopreservación

Teniendo en cuenta el concepto de múltiples oleadas foliculares durante un mismo ciclo menstrual, es posible encontrar folículos con ovocitos inmaduros en cualquier momento del ciclo ⁽³⁵⁾. Estos ovocitos pueden ser recuperados mediante aspiración transvaginal, sin previo protocolo de estimulación ovárica, y madurados in vitro hasta alcanzar el estadio de metafase II ^(36,37). Esta técnica se plantea como una alternativa para mujeres que presentan contraindicaciones para realizar un ciclo de estimulación ovárica controlada (síndrome de ovario

poliquístico o pacientes con alto riesgo de generar un síndrome de hiperestimulación ovárica) ⁽³⁷⁾. Luego de la MIV, los ovocitos maduros pueden usarse en fresco o pueden congelarse para ser utilizados en el futuro. A pesar de que más de 2000 niños han nacido gracias al uso de ovocitos frescos madurados in vitro, hay pocos informes de nacimientos relacionados con el uso de ovocitos criopreservados después de la MIV. Aunque la tasa de nacido vivo luego de MIV ha mejorado con el tiempo y ha alcanzado aproximadamente un 40% por ciclo en centros con experiencia ⁽³⁸⁾, los resultados suelen ser más bajos que los obtenidos de ovocitos maduros recuperados luego de una estimulación ovárica controlada ⁽³⁹⁾.

Estrategias de protección de la función ovárica durante el tratamiento oncológico

Transposición ovárica

Este procedimiento quirúrgico implica la movilización y fijación de ambos ovarios fuera de la pelvis, previo al tratamiento de radiación pélvica (cáncer cervical, rectal o anal), y está indicado en pacientes hasta los 40 años. Más allá de esta edad, el alto riesgo de disminución de la función ovárica no favorece el uso de esta técnica ⁽⁴⁰⁾. Los resultados de la transposición ovárica son variables, pero en general, grandes revisiones sistémicas y meta-análisis documentan un efecto beneficioso ^(41,42). Aunque infrecuentes, este procedimiento conlleva complicaciones (isquemia, formación de quistes, etc) y, a su vez, requiere el reposicionamiento de los ovarios en la pelvis luego de la radioterapia para facilitar un posible embarazo espontáneo ⁽⁴³⁾. Con el objetivo de mejorar las posibilidades de futuro embarazo, se ha propuesto un enfoque combinado de preservación de la fertilidad que implica la CTO de un ovario y la transposición del ovario contralateral en el mismo procedimiento quirúrgico ⁽⁴³⁾. Es de suma importancia remarcar que la irradiación pélvica genera también un daño sustancial a nivel uterino, principalmente perjudicando la microvasculatura, lo que dificulta aún más un futuro embarazo ⁽⁴⁴⁾. En el caso de preservar la función ovárica luego del tratamiento, por lo general, estas pacientes deben recurrir a un útero subrogado.

Agonistas GnRH

La administración de agonistas GnRH durante la quimioterapia se ha utilizado para proteger la función ovárica^(45,46). Sin embargo, hasta ahora los resultados de ensayos clínicos aleatorizados han resultado controversiales⁽⁴⁷⁾. Mientras que algunos estudios en pacientes con cáncer de mama parecen indicar un efecto beneficioso de los agonistas GnRH en la protección de la función ovárica⁽⁴⁸⁾, no se han evidenciado efectos significativos en los marcadores bioquímicos de la reserva ovárica⁽⁴⁹⁾. La eficacia de los agonistas GnRH como alternativa de preservación de la fertilidad aún enfrenta varias objeciones debido a la falta de un mecanismo biológico de respaldo. Varias sociedades científicas (ASCO, ESHRE y ESMO) indican que los agonistas GnRH no deben usarse como sustituto de otros métodos reconocidos y efectivos para la preservación de la fertilidad en pacientes que recibirán quimioterapia^(12,50,51). Todavía es necesario realizar más investigaciones acerca del efecto que ejercen los agonistas GnRH sobre la reserva ovárica para esclarecer el panorama clínico.

Futuras alternativas de preservación de la fertilidad: fase experimental

Agentes ferto-protectores

El término “agente ferto-protector” hace referencia a sustancias que se utilizan con el objetivo de proteger la fertilidad o preservarla durante ciertos tratamientos gonadotóxicos. Además de los agonistas GnRH, varios otros agentes están siendo investigados con el objetivo de bloquear la sobreactivación de los folículos primordiales (FPs) durante la administración de la quimioterapia. Aunque aún no se comprende completamente el mecanismo, se cree que la activación folicular masiva causada por la quimioterapia es mediada por la vía de señalización PI3K/AKT/mTOR⁽⁵²⁾. Al ser activada, esta vía intracelular promueve la transcripción nuclear y la síntesis de proteínas en los ovocitos, lo que lleva a una activación folicular desmedida, y a una consecuente depleción de la reserva ovárica.

La rapamicina es un inhibidor alostérico de mTOR, que ha demostrado prevenir la depleción folicular inducida por ciclofosfamida⁽⁵³⁾ y por cisplatino⁽⁵⁴⁾ en

modelos murinos. Sin embargo, en ninguno de estos experimentos se llevó a cabo un estudio de cría, por lo tanto, aún no puede determinarse si la administración de rapamicina efectivamente preserva la función reproductiva. Además, la vía de señalización PI3K/AKT/mTOR tiene otros roles complejos dentro de las células intrafoliculares, independientes de la activación, tales como la muerte celular y la supervivencia⁽⁵⁵⁾, que requieren una consideración adicional al interpretar estos datos. Por último, es importante destacar que la manipulación farmacológica de estas vías de regulación en células germinales podría implicar consecuencias en futuras generaciones. Todavía son necesarios varios otros estudios que garanticen la efectividad y la seguridad de su uso, antes de poder ser utilizados en la práctica clínica.

La hormona antimülleriana (HAM) juega un rol importante en la supresión de la activación de los FPs y, por lo tanto, en el mantenimiento de su quiescencia. Por consecuencia, se cree que la administración de HAM recombinante humana (rHAM) podría prevenir la sobreactivación folicular causada por agentes quimioterápicos. Este concepto fue investigado por primera vez por Kano y colaboradores, quienes reportaron un efecto protector sobre la activación de los FPs en ratones expuestos a ciclofosfamida tratados con rHAM, en comparación con el grupo control no tratado⁽⁵⁶⁾. Un estudio posterior similar, realizado por Roness y colaboradores confirmó el mismo efecto protector de la rHAM sobre los FPs en ratones tratados con quimioterapia. A su vez, interesantemente, este estudio demostró que la rHAM administrada no interfiere con las acciones terapéuticas de la quimioterapia⁽⁵⁷⁾.

Cultivo de tejido ovárico para el desarrollo folicular in vitro

La técnica de cultivo de folículos dentro del tejido ovárico previamente criopreservado podría presentarse como alternativa para aquellos pacientes con contraindicaciones al trasplante de tejido ovárico (debido al alto riesgo de reintroducción de células malignas, especialmente en enfermedades onco-hematológicas, neuroblastoma y cáncer de ovario). Sin embargo, esta técnica se encuentra en

fase experimental, ya que todavía no se comprenden completamente todos los mecanismos involucrados en la activación, crecimiento y maduración folicular. Telfer y colaboradores describieron un interesante sistema de cultivo en múltiples pasos, personalizando cada paso al distinto estadio de desarrollo folicular⁽⁵⁸⁾. Según este protocolo, el primer paso consiste en la activación de los FP en estado latente. El siguiente paso implica el aislamiento de aquellos folículos que hayan alcanzado el estadio secundario, mediante microdissección del estroma circundante, y posterior cultivo individual en placas con forma de V, hasta alcanzar la etapa de folículo antral. El tercer paso implica una correcta expansión del complejo cumulo-ovocito (CCO), para lograr finalmente la maduración ovocitaria (ovocitos en estadio de metafase II (MII)). Este equipo reportó la obtención de 9 ovocitos MII a partir de 160 fragmentos iniciales de corteza ovárica, en un sistema de cultivo de 21 días de duración. Si bien este estudio representa un paso esencial hacia la consecución de una completa foliculogénesis *in vitro*, también pone de manifiesto la complejidad de esta técnica y los resultados poco eficientes.

Ovario artificial trasplantable (OAT)

El OAT también se presenta como una potencial alternativa para aquellos pacientes con contraindicaciones para el trasplante ovárico. El objetivo es poder reintroducir de manera segura los folículos encapsulados dentro de una estructura biomimética, para asegurar tanto la secreción endocrina como la maduración de los ovocitos y una posterior ovulación. Para construir un ovario artificial se necesitan tres puntos esenciales: a) el aislamiento seguro de un gran número de folículos preantrales, b) la presencia de diferentes poblaciones de células del estroma ovárico, y c) la creación de una matriz

tridimensional (3D) biomimética capaz de encapsular los folículos y células ováricas aisladas. Las distintas matrices naturales utilizadas incluyen colágeno, alginato y coágulos de plasma de fibrina⁽⁵⁹⁾. Aunque aún están lejos de ser óptimos para la compleja interacción que ocurre entre los folículos, las células estromales y todas las proteínas y fibras que conforman la matriz extracelular ovárica, muchos estudios han demostrado resultados alentadores con respecto a la viabilidad de folículos humanos trasplantados en ratones inmunodeficientes^(60,61). Dolmans y colaboradores observaron crecimiento y buena viabilidad de folículos preantrales humanos encapsulados en coágulos de plasma autólogos luego de 5 meses de ser xenotrasplados en ratones inmunodeficientes⁽⁶²⁾. A pesar de los avances en los últimos años, el OAT aún está lejos de poder ser utilizado en la práctica clínica como opción para restaurar la fertilidad. Todavía se necesitan varios estudios para terminar de comprender los mecanismos biológicos involucrados en la foliculogénesis y la interacción de los folículos con la matriz extracelular para el mantenimiento y desarrollo adecuados de los mismos.

Conclusiones finales

En conclusión, el campo de la oncofertilidad ha experimentado avances significativos en los últimos años, con el desarrollo de nuevas tecnologías prometedoras para el futuro. Sin embargo, aún queda mucho por mejorar y explorar en este ámbito. La integración de enfoques multidisciplinarios, la investigación continua y el acceso equitativo a las opciones de preservación de la fertilidad son cruciales para optimizar la calidad de vida de los pacientes oncológicos y garantizar que tengan la oportunidad de construir una familia después de superar la enfermedad.

Referencias

1. Trama A, Bernasconi A, McCabe MG, Guevara M, Gatta G, Botta L, et al. Is the cancer survival improvement in European and American adolescent and young adults still lagging behind that in children? *Pediatric Blood & Cancer*. 2019 Jan;66(1):e27407.
2. Donnez J, Dolmans MM. Fertility Preservation in Women. Campion EW, editor. *N Engl J Med*. 2017 Oct 26;377(17):1657–65.
3. Wallace WHB, Kelsey TW. Human Ovarian Reserve from Conception to the Menopause. Vitzthum VJ, editor. *PLoS ONE*. 2010 Jan 27;5(1):e8772.
4. Pampanini V, Hassan J, Oliver E, Stukenborg JB, Damdimopoulou P, Jahnukainen K. Fertility Preservation for Prepubertal Patients at Risk of Infertility: Present Status and Future Perspectives. *Horm Res Paediatr*. 2020;93(11–12):599–608.
5. Sun B, Yeh J. Onco-fertility and personalized testing for potential for loss of ovarian reserve in patients undergoing chemotherapy: proposed next steps for development of genetic testing to predict changes in ovarian reserve. *Fertil Res and Pract*. 2021 Dec;7(1):13.
6. Spears N, Lopes F, Stefansdottir A, Rossi V, De Felici M, Anderson RA, et al. Ovarian damage from chemotherapy and current approaches to its protection. *Human Reproduction Update*. 2019 Nov 5;25(6):673–93.
7. Szymanska KJ, Tan X, Oktay K. Unraveling the mechanisms of chemotherapy-induced damage to human primordial follicle reserve: road to developing therapeutics for fertility preservation and reversing ovarian aging. *Molecular Human Reproduction*. 2020 Aug 1;26(8):553–66.
8. Bedoschi G, Navarro PA, Oktay K. Chemotherapy-induced damage to ovary: mechanisms and clinical impact. *Future Oncology*. 2016 Oct;12(20):2333–44.
9. Wallace WHB, Thomson AB, Saran F, Kelsey TW. Predicting age of ovarian failure after radiation to a field that includes the ovaries. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2005 Jul 1;62(3):738–44.
10. Meirou D, Biederman H, Anderson RA, Wallace WHB. Toxicity of chemotherapy and radiation on female reproduction. *Clin Obstet Gynecol*. 2010 Dec;53(4):727–39.
11. Rovani BT, Rissi VB, Rovani MT, Gasperin BG, Baumhardt T, Bordignon V, et al. Analysis of nuclear maturation, DNA damage and repair gene expression of bovine oocyte and cumulus cells submitted to ionizing radiation. *Anim Reprod*. 2023;20(2):e20230021.
12. ESHRE Guideline Group on Female Fertility Preservation, Anderson RA, Amant F, Braat D, D'Angelo A, Chua de Sousa Lopes SM, et al. ESHRE guideline: female fertility preservation. *Hum Reprod Open*. 2020;2020(4):hoaa052.
13. Practice Committees of the American Society for Reproductive Medicine and the Society for Assisted Reproductive Technology. Mature oocyte cryopreservation: a guideline. *Fertil Steril*. 2013 Jan;99(1):37–43.
14. Yasmin E, Mitchell R, Lane S. Preservation of fertility in teenagers and young adults treated for haematological malignancies. *Lancet Haematol*. 2021 Feb;8(2):e149–60.
15. Cobo A, Coello A, Hassane M, Remohí J. Oocyte and Embryo Cryopreservation: Methodology and Clinical Results. In: Grynborg M, Patrizio P, editors. *Female and Male Fertility Preservation* [Internet]. Cham: Springer International Publishing; 2022 [cited 2024 Mar 4]. p. 97–118. Available from: https://link.springer.com/10.1007/978-3-030-47767-7_8
16. Cakmak H, Rosen MP. Random-start ovarian stimulation in patients with cancer. *Current Opinion in Obstetrics & Gynecology*. 2015 Jun;27(3):215–21.
17. Cavagna F, Pontes A, Cavagna M, Dzik A, Donadio NF, Portela R, et al. Specific Protocols of Controlled Ovarian Stimulation for Oocyte Cryopreservation in Breast Cancer Patients. *Current Oncology*. 2018 Dec 1;25(6):527–32.
18. Polat M, Mumusoglu S, Yarali Ozbek I, Bozdogan G, Yarali H. Double or dual stimulation in poor ovarian responders: where do we stand? *Clin Med Insights Reprod Health*. 2021 Jan;15:263349412110241.
19. Vaiarelli A, Cimadomo D, Trabucco E, Vallefucio R, Buffo L, Dusi L, et al. Double Stimulation in the Same Ovarian Cycle (DuoStim) to Maximize the Number of Oocytes Retrieved From Poor Prognosis Patients: A Multicenter Experience and SWOT Analysis. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2018;9:317.
20. Bonardi B, Massarotti C, Bruzzone M, Goldrat O, Mangili G, Anserini P, et al. Efficacy and Safety of Controlled Ovarian Stimulation With or Without Letrozole Co-administration for Fertility Preservation: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Front Oncol*. 2020;10:574669.
21. Kim J, Turan V, Oktay K. Long-Term Safety of Letrozole and Gonadotropin Stimulation for Fertility Preservation in Women With Breast Cancer. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2016 Apr;101(4):1364–71.
22. Chan JL, Johnson LNC, Efymow BL, Sammel MD, Gracia CR. Outcomes of ovarian stimulation after treatment with chemotherapy. *J Assist Reprod Genet*. 2015 Oct;32(10):1537–45.
23. Wallace WHB, Kelsey TW, Anderson RA. Fertility preservation in pre-pubertal girls with cancer: the role of ovarian tissue cryopreservation. *Fertility and Sterility*. 2016 Jan;105(1):6–12.
24. Donnez J, Silber S, Andersen CY, Demeestere I, Piver P, Meirou D, et al. Children born after autotransplantation of cryopreserved ovarian tissue. A review of 13 live births. *Annals of Medicine*. 2011 Sep;43(6):437–50.
25. Dolmans MM, von Wolff M, Poirot C, Diaz-Garcia C, Cacciottola L, Boissel N, et al. Transplantation of cryopreserved ovarian tissue in a series of 285 women: a review of five leading European centers. *Fertil Steril*. 2021b;115(5):1102–15.
26. Isachenko V, Isachenko E, Kreienberg R, Woriedh M, Weiss J. Human ovarian tissue cryopreservation: quality of follicles as a criteria of effectiveness. *Reproductive BioMedicine Online*. 2010 Apr;20(4):441–2.
27. Suzuki N, Yoshioka N, Takae S, Sugishita Y, Tamura M, Hashimoto S, et al. Successful fertility preservation following ovarian tissue vitrification in patients with primary ovarian insufficiency. *Hum Reprod*. 2015 Mar;30(3):608–15.
28. Behl S, Joshi VB, Larson NB, Young MC, Bilal M, Walker DL, et al. Vitrification versus slow freezing of human ovarian tissue: a systematic review and meta-analysis of histological outcomes. *J Assist Reprod Genet*. 2023 Mar;40(3):455–64.

29. Roness H, Meirou D. FERTILITY PRESERVATION: Follicle reserve loss in ovarian tissue transplantation. *Reproduction*. 2019 Nov;158(5):F35–44.
30. Manavella DD, Cacciottola L, Pommé S, Desmet CM, Jordan BF, Donnez J, et al. Two-step transplantation with adipose tissue-derived stem cells increases follicle survival by enhancing vascularization in xenografted frozen-thawed human ovarian tissue. *Human Reproduction*. 2018 Jun 1;33(6):1107–16.
31. Gao J, Huang Y, Li M, Zhao H, Zhao Y, Li R, et al. Effect of Local Basic Fibroblast Growth Factor and Vascular Endothelial Growth Factor on Subcutaneously Allotransplanted Ovarian Tissue in Ovariectomized Mice. *Zhang M, editor. PLoS ONE*. 2015 Jul 24;10(7):e0134035.
32. Cacciottola L, Courtoy GE, Nguyen TYT, Hossay C, Donnez J, Dolmans MM. Adipose tissue-derived stem cells protect the primordial follicle pool from both direct follicle death and abnormal activation after ovarian tissue transplantation. *J Assist Reprod Genet*. 2021 Jan;38(1):151–61.
33. Dolmans MM, Marinescu C, Saussoy P, Van Langendonck A, Amorim C, Donnez J. Reimplantation of cryopreserved ovarian tissue from patients with acute lymphoblastic leukemia is potentially unsafe. *Blood*. 2010 Oct 21;116(16):2908–14.
34. Donnez J, Manavella DD, Dolmans MM. Techniques for ovarian tissue transplantation and results. *Minerva Ginecol*. 2018 Aug;70(4):424–31.
35. Chian RC, Uzelac PS, Nargund G. In vitro maturation of human immature oocytes for fertility preservation. *Fertil Steril*. 2013 Apr;99(5):1173–81.
36. Mostinckx L, Segers I, Belva F, Buyl R, Santos-Ribeiro S, Blockeel C, et al. Obstetric and neonatal outcome of ART in patients with polycystic ovary syndrome: IVM of oocytes versus controlled ovarian stimulation. *Hum Reprod*. 2019 Aug 1;34(8):1595–607.
37. Mostinckx L, Goyens E, Mackens S, Roelens C, Boudry L, Uvin V, et al. Clinical outcomes from ART in predicted hyperresponders: in vitro maturation of oocytes versus conventional ovarian stimulation for IVF/ICSI. *Hum Reprod*. 2024 Jan 4;dead273.
38. Vuong LN, Ho VNA, Ho TM, Dang VQ, Phung TH, Giang NH, et al. In-vitro maturation of oocytes versus conventional IVF in women with infertility and a high antral follicle count: a randomized non-inferiority controlled trial. *Human Reproduction*. 2020 Nov 1;35(11):2537–47.
39. Walls ML, Ryan JP, Keelan JA, Hart R. In vitro maturation is associated with increased early embryo arrest without impairing morphokinetic development of useable embryos progressing to blastocysts. *Hum Reprod*. 2015 Aug;30(8):1842–9.
40. Moawad NS, Santamaria E, Rhoton-Vlasak A, Lightsey JL. Laparoscopic Ovarian Transposition Before Pelvic Cancer Treatment: Ovarian Function and Fertility Preservation. *Journal of Minimally Invasive Gynecology*. 2017 Jan;24(1):28–35.
41. Tessier L, McKechnie T, Lee Y, Park LJ, Gangam N, Eskicioglu C. Laparoscopic ovarian transposition prior to pelvic radiation in young women with anorectal malignancies: a systematic review and meta-analysis of prevalence. *Colorectal Disease*. 2023 Jul;25(7):1336–48.
42. Genovese F, Zambrotta E, Incognito GG, Gulino FA, Di Guardo F, Genovese D, et al. Techniques and endocrine-reproductive outcomes of ovarian transposition prior to pelvic radiotherapy in both gynecologic and non-gynecologic cancers: A systematic review and meta-analysis. *Intl J Gynecology & Obste*. 2023 Nov 8;ijgo.15229.
43. Sonmezer M. Fertility preservation in female patients. *Human Reproduction Update*. 2004 May 1;10(3):251–66.
44. Buonomo B, Orecchia R, Tomao F, Pup LD, Garcia-Faura A, Peccatori FA. Uterine irradiation as a determinant of infertility and pregnancy losses in young cancer survivors. *Ecancer-medicalscience*. 2020;14:1032.
45. Mauri D, Gazouli I, Zarkavelis G, Papadaki A, Mavroeidis L, Gkoura S, et al. Chemotherapy Associated Ovarian Failure. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2020;11:572388.
46. Blumenfeld Z, Zur H, Dann EJ. Gonadotropin-Releasing Hormone Agonist Cotreatment During Chemotherapy May Increase Pregnancy Rate in Survivors. *Oncologist*. 2015 Nov;20(11):1283–9.
47. Dolmans MM, Taylor HS, Rodriguez-Wallberg KA, Blumenfeld Z, Lambertini M, von Wolff M, et al. Utility of gonadotropin-releasing hormone agonists for fertility preservation in women receiving chemotherapy: pros and cons. *Fertility and Sterility*. 2020 Oct;114(4):725–38.
48. Lambertini M, Moore HCF, Leonard RCF, Loibl S, Munster P, Bruzzone M, et al. Gonadotropin-Releasing Hormone Agonists During Chemotherapy for Preservation of Ovarian Function and Fertility in Premenopausal Patients With Early Breast Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis of Individual Patient-Level Data. *JCO*. 2018 Jul 1;36(19):1981–90.
49. Leonard RCF, Adamson DJA, Bertelli G, Mansi J, Yellowlees A, Dunlop J, et al. GnRH agonist for protection against ovarian toxicity during chemotherapy for early breast cancer: the Anglo Celtic Group OPTION trial. *Annals of Oncology*. 2017 Aug;28(8):1811–6.
50. Oktay K, Harvey BE, Partridge AH, Quinn GP, Reinecke J, Taylor HS, et al. Fertility Preservation in Patients With Cancer: ASCO Clinical Practice Guideline Update. *JCO*. 2018 Jul 1;36(19):1994–2001.
51. Lambertini M, Peccatori FA, Demeestere I, Amant F, Wyns C, Stukenborg JB, et al. Fertility preservation and post-treatment pregnancies in post-pubertal cancer patients: ESMO Clinical Practice Guidelines†. *Annals of Oncology*. 2020 Dec;31(12):1664–78.
52. Devos M, Diaz Vidal P, Bouziotis J, Anckaert E, Dolmans MM, Demeestere I. Impact of first chemotherapy exposure on follicle activation and survival in human cryopreserved ovarian tissue. *Human Reproduction*. 2023 Mar 1;38(3):408–20.
53. Zhou L, Xie Y, Li S, Liang Y, Qiu Q, Lin H, et al. Rapamycin

- Prevents cyclophosphamide-induced Over-activation of Primordial Follicle pool through PI3K/Akt/mTOR Signaling Pathway in vivo. *J Ovarian Res.* 2017 Dec;10(1):56.
54. Xie Y, Li S, Zhou L, Lin H, Jiao X, Qiu Q, et al. Rapamycin preserves the primordial follicle pool during cisplatin treatment in vitro and in vivo. *Molecular Reproduction Devel.* 2020 Apr;87(4):442–53.
55. Steelman LS, Chappell WH, Abrams SL, Kempf CR, Long J, Laidler P, et al. Roles of the Raf/MEK/ERK and PI3K/PTEN/Akt/mTOR pathways in controlling growth and sensitivity to therapy-implications for cancer and aging. *Aging.* 2011 Mar 10;3(3):192–222.
56. Kano M, Sosulski AE, Zhang L, Saatcioglu HD, Wang D, Nagykerly N, et al. AMH/MIS as a contraceptive that protects the ovarian reserve during chemotherapy. *Proc Natl Acad Sci USA [Internet].* 2017 Feb 28 [cited 2024 Mar 6];114(9). Available from: <https://pnas.org/doi/full/10.1073/pnas.1620729114>
57. Roness H, Spector I, Leichtmann-Bardoogo Y, Savino AM, Dereh-Haim S, Meirou D. Pharmacological administration of recombinant human AMH rescues ovarian reserve and preserves fertility in a mouse model of chemotherapy, without interfering with anti-tumoural effects. *J Assist Reprod Genet.* 2019 Sep;36(9):1793–803.
58. McLaughlin M, Albertini DF, Wallace WHB, Anderson RA, Telfer EE. Metaphase II oocytes from human unilaminar follicles grown in a multi-step culture system. *Mol Hum Reprod.* 2018 Mar 1;24(3):135–42.
59. Dadashzadeh A, Moghassemi S, Peaucelle A, Lucci CM, Amorim CA. Mind the mechanical strength: tailoring a 3D matrix to encapsulate isolated human preantral follicles. *Hum Reprod Open.* 2023;2023(2):hoad004.
60. Dolmans MM, Martínez-Madrid B, Gadsseux E, Guiot Y, Yuan WY, Torre A, et al. Short-term transplantation of isolated human ovarian follicles and cortical tissue into nude mice. *Reproduction.* 2007 Aug;134(2):253–62.
61. Paulini F, Vilela JMV, Chiti MC, Donnez J, Jadoul P, Dolmans MM, et al. Survival and growth of human preantral follicles after cryopreservation of ovarian tissue, follicle isolation and short-term xenografting. *Reproductive BioMedicine Online.* 2016 Sep;33(3):425–32.
62. Dolmans MM, Yuan WY, Camboni A, Torre A, Langendonck AV, Martínez-Madrid B, et al. Development of antral follicles after xenografting of isolated small human preantral follicles. *Reproductive BioMedicine Online.* 2008 Jan;16(5):705–11.

