

Primer nacimiento en Argentina posterior a autotransplante de tejido ovárico criopreservado en una paciente joven, previamente tratada por enfermedad de Askin

Fabian Lorenzo,¹ Marisa Tiberon,¹ Alberto Valcárcel,¹ Carlos Quintans,² Guillermo Marconi,³ Ramiro Quintana,¹ Martín Villamayor Figueroa,¹ E Young¹

¹ Instituto de Ginecología y Fertilidad (IFER). Buenos Aires, Argentina.

² Halitus Instituto Médico. Buenos Aires, Argentina.

³ IVI Buenos Aires. Buenos Aires, Argentina.

Reproducción 2014;29:40-46

Resumen

La criopreservación de tejido ovárico se ofrece como un procedimiento experimental para preservar la fertilidad de los pacientes jóvenes con un alto riesgo de falla ovárica prematura como resultado de la terapia del cáncer. Varias técnicas están disponibles en la actualidad, para preservación de la fertilidad en estos pacientes. Un método nuevo y prometedor es la criopreservación y trasplante de corteza ovárica. El tejido ovárico se puede extraer por laparoscopia, sin ningún retraso significativo del tratamiento quimio y/o radioterápico. En la actualidad, miles de pacientes en todo el mundo han sido objeto de este procedimiento con la esperanza de restaurar su fertilidad posterior. Aunque ya ha sido establecida la eficacia del trasplante de tejido ovárico criopreservado para restaurar la función ovárica, los reportes de embarazos son aún muy escasos. Aquí se describe el embarazo y nacimiento de un bebé sano después de un trasplante ortotópico de tejido criopreservado de ovario, por vía laparoscópica, en una mujer de 34 años de edad, previamente tratada con poliquimioterapia para la enfermedad de Askin, provocándole un falla ovárica prematura. Este embarazo, y la recuperación de la actividad endocrina 6 meses después del trasplante, da prueba convincente de la eficacia exitosa de esta estrategia para el restablecimiento de la fertilidad natural de la paciente después del tratamiento oncológico. Con el reporte de este caso queremos subrayar

la importancia de proponer el procedimiento de criopreservación de tejido ovárico para todas las pacientes jóvenes que requieren tratamiento potencialmente esterilizantes, como una excelente alternativa para preservar la fertilidad futura de las mismas.

Palabras claves. Autoinjerto, criopreservación, enfermedad Askin, preservación de la fertilidad, tejido ovárico.

First birth in Argentina after frozen-thawed ovarian autograft in a young women with history of Askin disease

Summary

Ovarian tissue cryopreservation is offered as an experimental procedure to preserve the fertility of young patients with a high risk of premature ovarian failure as a result of cancer therapy. Several techniques are currently available for preservation of fertility in these patients. A promising new method is cryopreservation and transplantation of ovarian cortex. Ovarian tissue can be removed by laparoscopy, without any significant delay chemo treatment and / or radiotherapy. Today, thousands of patients worldwide have undergone this procedure in the hope of restoring their subsequent fertility.

Here we describe a live birth after orthotopic transplantation of cryopreserved ovarian tissue, Laparoscopic, in a 34-year-old, previously treated with chemotherapy for Askin's Disease, causing her POF.

Correspondencia: Fabian Lorenzo
E-mail: fabian.lorenzo@fibertel.com.ar

In this case report we emphasize the importance of proposing the procedure of ovarian tissue cryopreservation for all young patients who require potentially sterilizing treatment, as an excellent alternative to preserve future fertility.

Key words. Autotransplantation, cryopreservation, Askin disease, fertility preservation, ovarian tissue.

Resumen

La criopreservación de tejido ovárico se ofrece como un procedimiento experimental para preservar la fertilidad de los pacientes jóvenes con un alto riesgo de falla ovárica prematura como resultado de la terapia del cáncer. Varias técnicas están disponibles en la actualidad, para preservación de la fertilidad en estos pacientes. Un método nuevo y prometedor es la criopreservación y trasplante de corteza ovárica. El tejido ovárico se puede extraer por laparoscopia, sin ningún retraso significativo del tratamiento quimio y/o radioterápico. En la actualidad, miles de pacientes en todo el mundo han

Introducción

Como resultado de los éxitos en los tratamientos oncológicos, las pacientes de cáncer más jóvenes logran una supervivencia prolongada.^{1,2} Para estas pacientes jóvenes, garantizar su capacidad reproductiva después de los tratamientos oncológicos se ha convertido en una preocupación principal, ya que está directamente relacionada con su calidad de vida. Sin embargo, la insuficiencia ovárica prematura es uno de los efectos adversos más comunes a largo plazo que afectan a las pacientes premenopáusicas tratadas con agentes alquilantes y/o radioterapia.²⁻⁴ El riesgo de insuficiencia ovárica prematura depende principalmente de la edad del paciente, el tipo y dosis de quimioterapia, y el campo de irradiación. Por otra parte, la reanudación de la menstruación cíclica después del tratamiento oncológico no garantiza una fertilidad normal. En una revisión reciente, las posibilidades de embarazo espontáneo se estima en el 28% y sólo el 5% en las mujeres que se encuentran bajo tratamiento oncológico.⁵ El trasplante de médula ósea (TMO) es considerado el tratamiento más gonadotóxico, provocando una falla ovárica pre-

matura en más del 80% de los casos, incluso cuando se realiza durante la infancia.⁶

En los últimos años, la criopreservación de tejido ovárico realizada antes de los tratamientos gonadotóxicos ha ofrecido una nueva esperanza para estas pacientes jóvenes y es considerada como un procedimiento de investigación con el objetivo de restaurar la fertilidad.⁷⁻¹⁰ La recuperación de la función ovárica después del trasplante de tejido ovárico criopreservado se ha descrito en la literatura.^{11,12} Sin embargo, los datos sobre recuperación de la fertilidad después de este procedimiento son todavía muy limitados. El primer embarazo espontáneo a término después de trasplante ortotópico de tejido ovárico criopreservado fue reportado por Donnez y col. en 2004.¹³ Sin embargo, el origen del gameto ha sido cuestionado en este caso, y de hecho la ovulación espontánea en el ovario *in situ* no pudo ser excluida.¹⁴ Tras el trasplante de tejido ovárico criopreservado, otro embarazo a término se informó después de la fertilización *in vitro* (FIV) y transferencia de embriones.¹⁵ A la fecha se han reportado 25 nacimientos de pacientes con autotransplante de tejido ovárico concebidos de manera espontánea o a través de fertilización *in vitro*, pero ninguno en América del Sur, ni por inseminación intrauterina. Desde el año 1998 que se comenzó en nuestra institución el programa de criopreservación de tejido ovárico en paciente oncológicas, siendo 41 aquellas que lo han realizado a la fecha.

Presentamos en esta comunicación, el embarazo y la recuperación de la función ovárica, posterior a un autotransplante de tejido ovárico, de una paciente en falla ovárica por quimioterapia realizada por enfermedad de Askin.

Presentación del caso

Se presenta el caso de una paciente de 28 años, que con diagnóstico de tumor de Askin consulta para asesoramiento sobre preservación de fertilidad previo a la quimioterapia. Esta neoplasia es miembro de los tumores neuroectodérmicos primitivos periféricos y típicamente compromete tejidos blandos de la pared torácica, periostio y parénquima pulmonar por extensión directa. Puede existir recurrencia del tumor a nivel abdominal, por extensión a través del diafragma. Las

metástasis óseas y paravertebrales son comunes, presentándose también a cerebro, regional cervical y retoperitoneal. Los tumores neuroectodérmicos primitivos periféricos (PRET) se derivan de la cresta neural, de células pluripotenciales neuroectodérmicas y de nervios intercostales. Existe, como hallazgo común de este tipo de tumores, la traslocación cromosómica $+(11:22) 4 (24:912) C (MY C)$; se presentan en la infancia y la adolescencia con un promedio de edad de 13 años. Ocasionalmente se ve en la edad adulta y existen 2 casos descritos a los 51 y 67 años, predomina en las mujeres, con una relación respecto a los hombres de 3:1. En una revisión del J Surg Oncol, 1998, se presentó en 14 casos como una masa de la pared del tórax; en 11 con dolor torácico; en 6 casos con compromiso óseo; con fiebre en 4 casos, con disnea en otros tantos y con pérdida de peso, tos seca y hemoptisis en tres casos.

Con respecto al tratamiento, estos pacientes deben ser sometidos a quimioterapia y radioterapia previstas a la cirugía ya que se ha demostrado que disminuyen el tamaño y mejoran la supervivencia y la recurrencia del tumor. Se han utilizado tratamientos con esquemas de vincristina, doxorubicina, ciclofosfamida y en algunos casos con cisplatino y adriamicina. La radioterapia se realiza posterior a la quimioterapia; en un estudio se requirió de trasplante de médula ósea.

La supervivencia del tumor de Askin es, a los 2 años, del 38%, y a los 6 años, del 14%, dando generalmente metástasis y recidivas. Como terapéutica propuesta a la paciente se le realizó excéresis de 4 costillas de parrilla costal izquierda, seguida de poliquimioterapia (ciclofosfamida, vincristina, endoxan, actinomicina) completando 14 ciclos cada 21 días, determinado por el protocolo; EURO E.W.I.N.G.99. Previo a su tratamiento quimioterápico, le realizamos como estrategia de su preservación de fertilidad: administración de análogos de GNRH simultaneo con la QT, y laparoscopia ginecológica; donde se criopreserva tejido ovárico^[16]: se envía a Anatomía patológica y el resto se criopreserva.

Informe de A P. OI y OD: múltiples folículos primordiales con cuerpo lúteo antiguos.

Informe de criopreservación. Por método de criopreservación lenta se preservan 14 viales con trozos de 1,5-2 mm.

Posterior a la quimioterapia la paciente queda en amenorrea por falla ovárica siendo sus controles de FSH y estradiol sumados a la clínica concordantes con este *status*. Los controles posteriores establecieron la ausencia de recidiva, y se la mantuvo durante ese período con anticonceptivos orales combinados. A partir del 3^{er} año de cumplido el tratamiento oncológico y libre de enfermedad, se autoriza la búsqueda de embarazo por parte del equipo de oncólogos tratantes. Se establece la posibilidad del autotransplante de tejido ovárico y comenzamos con la programación del mismo. Suspendiendo el anticonceptivo se realizan determinaciones hormonales: Fsh: 61.8, Lh: 26.5, Prola: 16.3, E2: 10.2, AMH: menor a 0,01, InhB: 26.

Se decide comenzar el mes previo con valerato de estradiol 2 mg 3 veces por día, y el día previo al transplante (3 semanas posteriores a iniciar el E2) se realizó *Eco Doppler* para decidir sobre qué ovario realizar el autotransplante. Se dosó además anticuerpos antiováricos, los cuales dieron negativo, para utilizarlos como seguimiento posterior. Se realiza en febrero de 2009 CTL con transplante de tejido criopreservado en ovario derecho. Del tejido (16 secciones) descongelado 12 se colocan en ovario, 2 se colocan en cultivo, y 2 se envían a AP; se toma además BP de ovario en el mismo acto quirúrgico. El implante se realizó en la médula del ovario y fijando las piezas con sutura irreabsorbible 6 ceros.

Informes post-transplante

A) *Patológica.* a) BP de ovario D: fragmento de cortical ovárica no se reconocen elementos del aparato folicular. Estroma fibroide con vasos de paredes engrosadas en el 80% de la BP.

B) (Tejido descongelado.) Fragmento de cortical ovárica con 3 folículos primordiales, 2 ovocitos conservados M.O hasta 2 en campos 40x y 1 folículo por milímetro lineal de Bp.

Determinaciones hormonales del medio de cultivo:

Precultivo: B-hcgT: 0,55/ E2:29,9/ testosterona: 14,9.

Post-cultivo: B-hcgT: 0,67/E2:47,56/testosterona: 15,5

Cuidados post-operatorios:

- Valerato de estradiol: 6 mg día.

- Deltisona B 40 mg x día.
- Ecografía con Doppler 25-2-09: Normal.
- Luego de 1 mes de estradiol se suspenden continuando con deltisona.

A los 60 días post-transplante se le realizan determinaciones hormonales que informan: E2 menor a 18, Fsh: 118,10, Lh:50,30, InhB:5,9, anticuerpos antióvaricos: negativo, sumados a síntomas carenciales. Las determinaciones hormonales continuaron en valores similares oscilantes hasta cumplir los 6 meses del transplante en donde la paciente muestra cambios sintomáticos (flujo vaginal espontáneo, ausencia de calores,). Y menstruación espontánea de 3 días de duración.

Se realizan determinaciones hormonales: E2: 393, Fsh:11.8, Lh:16.20, DHEAs: 60:30.

Ecografía: Se observan múltiples folículos simultáneos, el mayor de 18 mm.

Menstruó nuevamente a los 24 días: eco basal microfoliculos:, Hormonales: E2: 105, FSH 7,3 LH: 9,5 Prog: 0,43.

Ecografía a los 10 días. Endom: trilaminar de 6,9mm, folículo de 20 mm. Se indica HCG 10.000, Se indica relaciones sexuales programadas. A los 7 días post-HCG progesterona: 4,83.

Comienza con tratamiento de alta complejidad para búsqueda de embarazo, la mayoría de las veces solo presentó un folículo promedio entre 17 y 23 mm, alternando punciones negativas (sin obtenerse ovocitos) se realizaron 4 tratamientos de *in vitro*, en todos los casos se obtuvo un ovocito maduro MII, se transfirió un embrión, y sin lograr embarazo (Figuras 1, 2 y 3).

A partir de abril del 2012 comienza con irregularidad menstrual y alteraciones hormonales llegando a la amenorrea en el mes de septiembre (Tabla 1).

A partir de diciembre de 2012 se planea retransplantar de tejido ovárico, con la amenorrea y síntomas de carenciales (sequedad vaginal, *hot flashes*, etc.) de la paciente.

Se realiza nueva laparoscopia en febrero de 2013 con reposición de tejido ovárico en esta oportunidad en el ovario izquierdo, con la misma técnica y estrategia que en el transplante anterior (14 secciones de tejido criopreservado, en la zona medular del ovario). A partir de abril se realizan estudios hormonales presentando descenso de la FSH, y aumento del estradiol (ver Tabla 1). En

Figura 1.



Figura 2.



Figura 3.

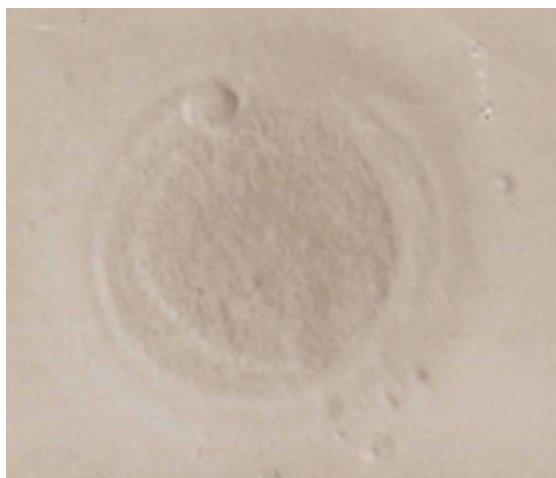


Tabla 1.

Fecha	26/10/2012	05/11/2012	25/02/2013	22/04/2013
FSH	77	91,50	94,50	18,90
LH	61,30	81,90	84,80	15,90
E2	29	12	20	121
P4	0,57	0,60	0,64	0,67

el mes de mayo post-deprivación espontánea, se realiza monitoreo ovulatorio, donde se observa folículo de 18 mm y endometrio trilaminar de 8 mm. Se realiza inseminación intrauterina con resultado positivo. En enero de este año con 37 semanas de gestación posterior a un embarazo normal, nace un feto vivo, sano de 2.980 grs. Sin complicaciones adicionales.

Discusión

Teniendo en cuenta el impacto de la infertilidad en la calidad de vida a largo plazo, todos los pacientes jóvenes que podrían tener como secuela insuficiencia ovárica prematura deben recibir información precisa sobre las opciones disponibles para preservar su fertilidad. En un informe anterior sobre pacientes jóvenes afectadas por el cáncer de mama mostraron que la información que reciben de fertilidad relacionadas con él se valoró como significativamente más importante que la recepción de información relacionada con la menopausia en el momento del diagnóstico.¹⁷ De la misma manera, la mayoría de los pacientes pediátricos oncológicos y sus padres están preocupados por el impacto del tratamiento de fertilidad, pero sólo alrededor de un tercio de ellos están satisfechos con la cantidad de información recibida.¹⁸ La iniciativa del oncólogo en el inicio de un debate, con el apoyo de un equipo multidisciplinario, es un factor determinante de la mejora del acceso a la información y proponer las opciones óptimas para preservar la fertilidad.

La primera opción es reducir la gonadotoxicidad del tratamiento del cáncer con la intención de preservar la función ovárica y la fertilidad natural futura. Esto incluye la transposición de ovario, en el caso de la irradiación de la pelvis, o la adaptación

del régimen de quimioterapia. Basándose en los resultados prometedores de estudios en animales, la administración concomitante de una hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) durante el tratamiento con agentes alquilantes también se ha propuesto para reducir la gonadotoxicidad de las drogas.^{19,20} La eficacia de los agonistas de la GnRH en la preservación de la fertilidad humana fue sugerida por un estudio preliminar.²¹ Sin embargo, ningún estudio prospectivo y aleatorizado que confirme estos resultados se ha informado. Así, en la actualidad, la administración concomitante de un agonista de la GnRH sólo debe ser propuesta como parte de un ensayo clínico.

La segunda opción es criopreservar gametos con el fin de restaurar la fertilidad posteriormente. Alrededor de 15 ovocitos se pueden obtener después de la estimulación ovárica con FSH en pacientes oncológicos.²² En el caso de los tumores sensibles a las hormonas como el cáncer de mama, las alternativas a la gonadotrofinas deben ser propuestas (protocolos de estimulación ovárica con clomifeno, letrozole, etc).³ En pacientes con pareja estable la propuesta es la criopreservación de embriones. A falta de pareja estable la vitrificación de ovocitos maduros también resulta una alternativa aceptable, pero la tasa de embarazo clínico de ovocitos descongelados es todavía baja (2%).²³ La principal limitación de los procedimientos anteriores es la demora de 4 semanas necesarias para lograr la estimulación ovárica y la recolección de ovocitos. Además, este procedimiento no se puede proponer si la paciente ya ha comenzado el tratamiento con quimioterapia debido al riesgo genético y la pobre eficacia.²⁴ La criopreservación de tejido ovárico tiene la ventaja de que permite el almacenamiento de un gran número de folículos primordiales, que se puede realizar en cualquier momento del ciclo menstrual, sin demora, y está disponible para los pacientes prepuberales. Las opciones para restaurar la fertilidad a partir de tejido criopreservado folicular ovárico incluyen el cultivo *in vitro* y el trasplante de tejido ovárico. Sin embargo, el desarrollo de los sistemas de cultivo *in vitro* para apoyar el crecimiento de folículos primordiales probablemente necesitará unos cuantos años más antes de poder tener resultados óptimos. El trasplante de tejido ovárico se ha realizado previamente con éxito en humanos. En la actualidad,

> 40 casos de trasplante heterotópico y ortotópico de tejido ovárico criopreservado han sido reportados. Sin embargo, sólo tres nacimientos se han reportado después de este procedimiento –un bebé concebido naturalmente después de la ovulación espontánea¹³ y los otros fueron concebidos mediante un procedimiento de FIV (Anderson y col. Comunicación ESHRE 2007¹⁵). Por lo tanto, el procedimiento debe todavía ser considerado como experimental.

Presentamos aquí el primer embarazo en Argentina después de un trasplante de tejido ovárico y el primero en el mundo por inseminación intrauterina. Establecimos la viabilidad del injerto a través de varios controles (dosaje hormonal de medio de cultivo, informe de AP). La paciente había recibido tratamiento previo poliquimioterápico, tras lo cual se observa una recuperación espontánea de la función ovárica en <10% de los pacientes.²⁵ Por otra parte, la insuficiencia ovárica prematura antes del procedimiento de trasplante fue bien documentada por los perfiles hormonales, y ecografías ginecológicas, lo que confirma la ausencia de folículos.¹⁶ La evolución del perfil hormonal después del trasplante es también compatible con el injerto como así también la documentación del crecimiento folicular. Como se describió previamente, el tiempo necesario para restaurar la función ovárica después del trasplante (6 meses) refleja el tiempo necesario para la folículo-logénesis en los seres humanos.¹⁶ Uno de los principales problemas después del trasplante de tejido ovárico es el daño isquémico durante el proceso de revascularización, lo que limita el tiempo de vida del injerto. De acuerdo con la literatura, la vida útil varía de unos pocos meses hasta más de 2 años, dependiendo sobre todo tanto la edad del paciente en el momento del procedimiento de criopreservación como de la cantidad de tejido ovárico trasplantado.^{12,26,27} Sin embargo, una correlación entre estos factores y el tiempo de vida del injerto no es fácil de establecer.

Otra limitación del procedimiento es la posibilidad de reintroducir células malignas. De acuerdo con estudios previos, no ha habido evidencia de invasión de la enfermedad en el tejido ovárico de pacientes con diagnóstico de linfoma de Hodgkin.²⁸ Sin embargo, la seguridad del procedimiento se debe evaluar en cada solicitud, teniendo en cuenta el tipo de enfermedad y el análisis de tejido

de ovario. A pesar de los datos tranquilizadores respecto a la ausencia de recaída y la buena salud de los bebés que nacen después de este procedimiento, todos los niños, y los pacientes que se conciben de esta manera, deberían tener a largo plazo de seguimiento, sobre todo cuando el tejido ovárico fue expuesto a la quimioterapia sistémica antes de criopreservación. Por último, si todas las opciones anteriormente descritas no son viables, los enfoques alternativos a la crianza, como la donación de ovocitos, deben considerarse.

Conclusión

Este caso subraya la importancia de proponer la criopreservación de tejido ovárico a todos los pacientes jóvenes que requieren potencialmente tratamiento esterilizantes para el cáncer, especialmente cuando otros procedimientos, tales como la criopreservación de embriones o de ovocitos no se recomiendan. Cuando es exitoso se recupera fertilidad pero también la función endocrina ovárica. No habría conflictos legales con la guarda de embriones en caso de fallecimiento del paciente.

Referencias

1. Horwitz SM, Horning SJ. Advances in the treatment of Hodgkin's lymphoma. *Curr Opin Hematol* 2000;7:235–240.
2. Brougham MF, Wallace WH. Subfertility in children and young people treated for solid and haematological malignancies. *Br J Haematol* 2005;131:143–155.
3. Sonmezer M, Oktay K. Fertility preservation in young women undergoing breast cancer therapy. *The Oncologist* 2006;11:422–434.
4. Teinturier C, Hartmann O, Valteau-Couanet D, et al. Ovarian function after autologous bone marrow transplantation in childhood: High-dose busulfan is a major cause of ovarian failure. *Bone Marrow Transplant* 1998;22:989–994.
5. Lobo RA. Potential options for preservation of fertility in women. *N Engl J Med* 2005;353:64–73.
6. Wallace WH, Anderson RA, Irvine DS. Fertility preservation for young patients with cancer: Who is at risk and what can be offered? *Lancet Oncol* 2005;6:209–218.
7. Radford J, Shalet S, Lieberman B. Fertility after treatment for cancer. Questions remain over ways of preserving ovarian and testicular tissue. *BMJ* 1999;319:935–936.
8. Demeestere I, Simon P, Englert Y, et al. Preliminary experience of ovarian tissue cryopreservation procedure: Alternatives, perspectives and feasibility. *Reprod Biomed Online* 2003;7:572–579.

9. Lee SJ, Schover LR, et al. American Society of Clinical Oncology recommendations on fertility preservation in cancer patients. *J Clin Oncol* 2006;24:2917–2931.
10. Moffa F, Bacciardi CP, Fagioli F, et al. Ovarian tissue cryostorage and grafting: An option to preserve fertility in pediatric patients with malignancies. *Pediatr Hematol Oncol* 2007;24:29–44.
11. Oktay K, Karlikaya G. Ovarian function after transplantation of frozen, banked autologous ovarian tissue. *N Engl J Med* 2000;342:1919.
12. Radford JA, Lieberman BA, Brison DR, et al. Orthotopic reimplantation of cryopreserved ovarian cortical strips after high-dose chemotherapy for Hodgkin's lymphoma. *Lancet* 2001;357:1172–1175.
13. Donnez J, Dolmans MM, Demylle D et al. Livebirth after orthotopic transplantation of cryopreserved ovarian tissue. *Lancet* 2004;364:1405–1410.
14. Oktay K, Tilly J. Livebirth after cryopreserved ovarian tissue autotransplantation. *Lancet* 2004;364:2091–2092.
15. Meirow D, Levron J, Eldar-Geva T, et al. Pregnancy after transplantation of cryopreserved ovarian tissue in a patient with ovarian failure after chemotherapy. *N Engl J Med* 2005;353:318–321.
16. Demeestere I, Simon P, Buxant F et al. Ovarian function and spontaneous pregnancy after combined heterotopic and orthotopic cryopreserved ovarian tissue transplantation in a patient previously treated with bone marrow transplantation: Case report. *Hum Reprod* 2006;21:2010–2014.
17. Thewes B, Meiser B, Taylor A, et al. Fertility- and menopause-related information needs of younger women with a diagnosis of early breast cancer. *J Clin Oncol* 2005;23:5155–5165.
18. Oosterhuis BE, Goodwin T, Kiernan M, et al. Concerns about infertility risks among pediatric oncology patients and their parents. *Pediatr Blood Cancer* 2008;50:85–89.
19. Ataya KM, Palmer KC, Blacker CM, et al. Inhibition of rat ovarian [3H]thymidine uptake by luteinizing hormone-releasing hormone agonists: A possible mechanism for preventing damage by cytotoxic agents. *Cancer Res* 1988;48:7252–7256.
20. Ataya K, Rao LV, Lawrence E, et al. Luteinizing hormone-releasing hormone agonist inhibits cyclophosphamide-induced ovarian follicular depletion in rhesus monkeys. *Biol Reprod* 1995;52:365–372.
21. Blumenfeld Z, Eckman A. Preservation of fertility and ovarian function and minimization of chemotherapy-induced gonadotoxicity in young women by GnRH-a. *J Natl Cancer Inst Monogr* 2005;34:40–43.
22. Porcu E, Fabbri R, Damiano G, et al. Oocyte cryopreservation in oncological patients. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2004;113(Suppl 1):S14–S16.
23. Oktay K, Cil AP, Bang H. Efficiency of oocyte cryopreservation: A meta-analysis. *Fertil Steril* 2006;86:70–80.
24. Dolmans MM, Demylle D, Martinez-Madrid B, et al. Efficacy of in vitro fertilization after chemotherapy. *Fertil Steril* 2005;83:897–901.
25. Meirow D, Nugent D. The effects of radiotherapy and chemotherapy on female reproduction. *Hum Reprod Update* 2001;7:535–543.
26. Schmidt KL, Andersen CY, Loft A, et al. Follow-up of ovarian function post-chemotherapy following ovarian cryopreservation and transplantation. *Hum Reprod* 2005;20:3539–3546.
27. Donnez J, Martinez-Madrid B, Jadoul P, et al. Ovarian tissue cryopreservation and transplantation: A review. *Hum Reprod Update* 2006;12:519–535.
28. Seshadri T, Gook D, Lade S, et al. Lack of evidence of disease contamination in ovarian tissue harvested for cryopreservation from patients with Hodgkin lymphoma and analysis of factors predictive of oocyte yield. *Br J Cancer* 2006;94:1007–1010.