



VNIVERSITATIS VALÈNCIA

Facultad de Medicina  
Departamento de Pediatría, Obstetricia y Ginecología  
Programa de doctorado: 3042

**ESTUDIO FUNCIONAL Y ECOGRÁFICO  
CON TECNOLOGÍA HD Live  
Y EFECTO DOPPLER DEL TRASPLANTE  
ORTOTÓPICO DE TEJIDO OVÁRICO**

**Tesis Doctoral presentada por:  
Don Ángel Arturo Blanes Martínez**

**Dirigida por:  
Prof. Dr. Fernando María Bonilla Musoles  
Dra. María Sánchez Serrano  
Prof. Dr. Francisco Bonilla Bartret**

Valencia, mayo de 2017





VNIVERSITATIS VALÈNCIA

Facultad de Medicina

Departamento de Pediatría, Obstetricia y Ginecología

Programa de doctorado: 3042

**ESTUDIO FUNCIONAL Y ECOGRÁFICO CON  
TECNOLOGÍA HD Live Y EFECTO DOPPLER  
DEL TRASPLANTE ORTOTÓPICO DE TEJIDO  
OVÁRICO**

Tesis Doctoral presentada por:

**Ángel Arturo Blanes Martínez**

Dirigida por:

**Prof. Dr. Fernando María Bonilla Musoles**

**Dra. María Sánchez Serrano**

**Prof. Dr. Francisco Bonilla Bartret**

Valencia, 2017



**Fernando María Bonilla Musoles**, catedrático del Departamento de Pediatría, Obstetricia y Ginecología de la Facultad de Medicina de la Universidad de Valencia.

**María Sánchez Serrano**, doctora. Universidad de Valencia  
Departamento de Pediatría, Obstetricia y Ginecología de la Facultad de Medicina de Valencia

**Francisco Bonilla Bartret**, profesor por la Universidad de Valencia  
Departamento de Pediatría, Obstetricia y Ginecología de la Facultad de Medicina de Valencia

CERTIFICAN:

Que la presente Tesis Doctoral, titulada “Estudio funcional y ecográfico con tecnología HD Live y efecto Doppler del trasplante ortotópico de tejido ovárico” ha sido realizada íntegramente por **Don Ángel Arturo Blanes Martínez** bajo nuestra supervisión.

Dicho trabajo está concluido y reúne todos los requisitos para su presentación y defensa como TESIS DOCTORAL ante un tribunal.

Y para que así conste a los efectos oportunos, firmamos la presente certificación en Valencia 30 de mayo de 2017.



**Prof. Dr. Bonilla Musoles**



**Dra. Sánchez Serrano**



**Prof. Dr. Bonilla Bartret**



Como cada gran historia está formada por grandes personas. Doy gracias en primer lugar a mis padres por su amor incondicional y por inculcarme la pasión por el cuidado y el respeto a los pacientes.

Al Profesor Bonilla por confiar en mí desde el primer momento y abrirme las puertas del Clínico, cuna de los grandes ginecólogos valencianos, y la que consideraré siempre mi casa y llevaré siempre orgulloso en mi corazón. Gracias.

A la doctora María Sánchez porque desde el primer momento conectamos y como experta mundial en corteza ovárica merece todo mi respeto y admiración. Gracias.

Al Profesor Francisco Bonilla por su esfuerzo y dedicación a la hora de enseñarme y trabajar todas las imágenes de esta tesis.

Gracias.

A todos mis compañeros y amigos que trabajan en el Hospital Clínico Universitario de Valencia, desde el primero hasta el último. Gracias por ser un ejemplo para mí, por enseñarme todo lo sé, por vuestra paciencia, por vuestros consejos, y por todos los grandísimos momentos allí vividos. Gracias.

A todos los que formáis parte de mi vida, mi Familia y mis amigos, que me habéis apoyado siempre y que habéis confiado en mí. Gracias.

A todas las pacientes, porque vosotras sois el verdadero ejemplo de lucha y perseverancia por la vida, y nos ilumináis con vuestra fortaleza. Gracias.



*A mi padre por ser mi maestro y mi referente,*

*A mi madre por su entrega, fortaleza y amor,*

*A mis hermanos por compartir la vida,*

*A mis abuelos por ser ejemplares,*

*A los que están por venir,*

*A todos Gracias*



"El título de Medicina colgado en la pared,  
el corazón sobre la mesa"



## JUSTIFICACIÓN

El diagnóstico ante cualquier tipo de cáncer, produce un replanteamiento profundo en la vida de las personas. Hasta hace unos años, el objetivo primario era la curación. Ahora, además, se busca conseguir que la calidad de vida y la fertilidad tras el tratamiento sea, si se quiere, igual que antes del diagnóstico.

Cuando una mujer es sometida a un tratamiento oncológico, se puede alterar la función ovárica, incluso el ovario puede dejar de funcionar.

Entre las diferentes opciones terapéuticas en el tratamiento del cáncer que pueden alterar la función gonadal, se encuentran la radioterapia (RT) y la quimioterapia (QT).

La localización de la irradiación, variará en función de la localización y del tipo de tumor. Por otra parte, los agentes quimioterápicos, especialmente los alquilantes, aumentan el riesgo de infertilidad en la mujer.

Por ello, estos tratamientos, con efectos gonadotóxicos, generan la necesidad, si se desea, de proteger los ovarios.

El objetivo de esta protección, consiste en que estos continúen funcionando normalmente tras el tratamiento para que no aparezca un fallo ovárico precoz (FOP).

De no protegerse esta función, niñas y mujeres jóvenes tratadas de cáncer, entrarán en FOP con todos los efectos no deseados que esto conlleva e imposibilidad de ser madres.

Recuperar la función ovárica, debe ser planificado antes del tratamiento del cáncer para que los ovarios no se vean dañados.

Hoy en día, se debe ofrecer, tras un diagnóstico de cáncer, en pacientes en edad pre-reproductiva o reproductiva, la posibilidad de preservar su fertilidad.

Las estrategias para su preservación principalmente:

- La crio-preservación de embriones.
- La crio-preservación de ovocitos.
- La crio-preservación de tejido ovárico.

La **crio-preservación de tejido ovárico**, consiste en extraer corteza ovárica de la paciente antes de comenzar el tratamiento oncológico, congelarla y una vez libre de enfermedad, reimplantarla sobre el ovario. En principio, el objetivo del reimplante es posibilitar la maternidad.

De esta forma, este tejido no sufre ninguna alteración por el efecto tóxico que recibe la paciente para curar su cáncer.

Simultáneamente a la congelación del tejido, se practican estudios para intentar descartar la posibilidad de la existencia de células tumorales en él.

Al reimplantar el tejido sano el ovario deberá recuperar su funcionalidad.

Su ventaja fundamental, es que permite a las mujeres recuperar la función endocrina normal y la posibilidad tener hijos de manera natural. Además, no retrasa el inicio del tratamiento del cáncer porque la paciente no necesita ser estimulada. Se puede realizar la cirugía a los pocos días del diagnóstico e iniciar el tratamiento con QT y/o RT incluso el día después. El reimplante, se realiza una vez la paciente está libre de enfermedad.

En resumen, se logra que la mujer no sufra las consecuencias negativas de los tratamientos oncológicos sobre la función hormonal y la fertilidad.

# ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN .....	17
1.1. Preservación de la fertilidad y de la función ovárica .....	17
1.2. Situación actual del trasplante de corteza ovárica .....	20
1.2.1. El éxito de la investigación traslacional del modelo animal al humano .....	20
1.2.2. Experiencia en gemelas monocigotas .....	24
1.2.3. Beneficios del reimplante de tejido de corteza ovárica .....	24
1.2.4. ¿Cómo funcionan los ovarios trasplantados? .....	25
1.2.5. Reflexión de por qué el trasplante alarga la función ovárica: La reinstauración de la función ovárica tras el reimplante .....	26
1.2.6. HAM en la corteza ovárica .....	26
1.3. Valoración ecográfica del ovario y del endometrio hoy para el trasplante .....	28
1.3.1. Estudio del desarrollo folicular .....	28
1.3.1.1. Nociones ecográficas en el control de la foliculogénesis .....	31
1.3.1.1.1. Visión y recuento de los FA en situación basal .....	32
1.3.1.1.2. La monitorización de la foliculogénesis .....	33
1.3.1.2. La foliculogénesis varía según se trate de un ciclo espontáneo o inducido .....	33
1.3.1.2.1. Ciclo natural .....	33
1.3.1.2.2. Ecografía del ciclo inducido .....	45
1.3.1.2.3. Modos actuales: modo inverso, vocal, sono AVC, HD Live y silueta .....	47
1.3.2. Estudio ecográfico del endometrio .....	52
2. HIPÓTESIS DE TRABAJO .....	55
3. OBJETIVOS .....	57
4. MATERIAL Y MÉTODOS .....	59
4.1. Determinaciones hormonales .....	62
4.2. Corteza ovárica .....	64
4.2.1. Extracción .....	64
4.2.2. Reimplante .....	66
4.2.3. Procesamiento .....	67
4.2.4. Transporte, congelación, crio-almacenaje, descongelación y transporte .....	67
4.3. Técnica ecográfica .....	71

4.3.1. DOPPLER COLOR.....	71
4.3.2. VOCAL .....	72
4.3.3. ANGIO-POWER DOPPLER .....	76
4.3.4. SonoAVC general (Recuento de volumen automatizado general con sonografía).....	78
4.3.5. HD Live.....	78
4.3.5.1. HD Live Silueta .....	80
4.3.5.2. HD Live Flujo .....	81
4.3.5.3. HDlive Silueta Flujo.....	81
4.3.6. TUI (imagen tomográfica ultrasónica) .....	82
5. RESULTADOS .....	83
CASO 1.....	85
CASO 2.....	99
CASO 3.....	115
CASO 4.....	123
CASO 5.....	131
CASO 6.....	147
CASO 7.....	161
CASO 8.....	189
Tablas .....	205
6. DISCUSIÓN .....	209
7. CONCLUSIONES .....	214
8. ABREVIATURAS .....	217
9. BIBLIOGRAFÍA .....	219

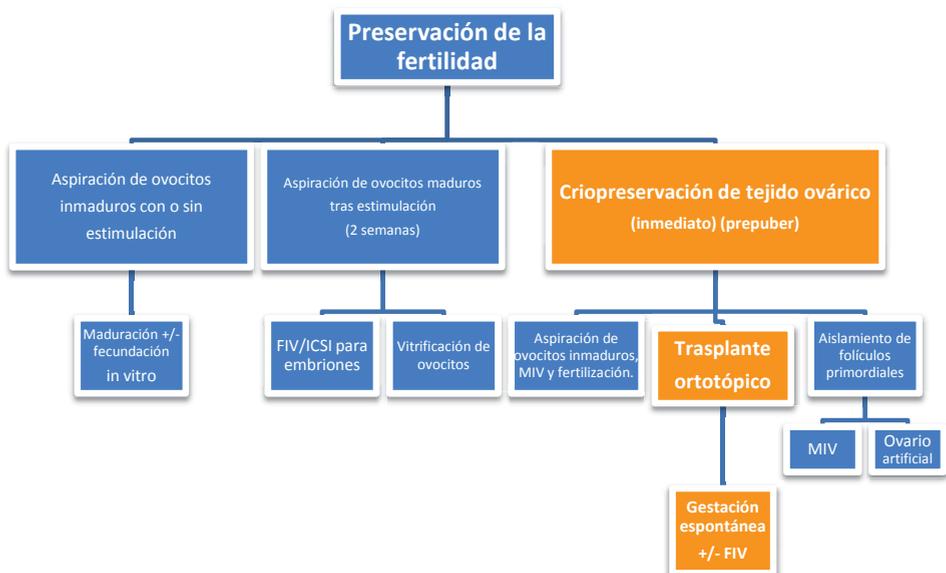
# 1. INTRODUCCIÓN

## 1.1. Preservación de la fertilidad y de la función ovárica

Hoy en día, se debe ofrecer, tras un diagnóstico de cáncer en una paciente en edad pre-reproductiva o reproductiva la posibilidad de preservar su fertilidad. Las estrategias de preservación de la fertilidad incluyen:

- Crio-preservación de embriones.
- Crio-preservación de ovocitos.
- Crio-preservación de tejido ovárico.

Otras técnicas utilizadas con poco éxito, han sido la transposición quirúrgica de los ovarios y el uso de análogos de la hormona liberadora de gonadotropinas.



Extraído de Donnez 2013.

La **crio-preservación de embriones**, sigue considerándose el “*gold standar*” en los tratamientos de reproducción asistida (TRA). Así, fue durante muchos años, la única técnica no experimental, es decir, clínicamente establecida, para preservar la fertilidad en mujeres, de acuerdo con el Comité Ético de la *American Society for Reproductive Medicine* (ASRM). En cualquier caso, no es una opción para pre-púberes, mujeres sin

pareja o que no aceptaran la donación de esperma; situaciones en las que esté contraindicada la estimulación ovárica controlada (EOC) necesaria, o en las que no haya tiempo para realizarla en el contexto clínico-terapéutico.

La **crio-preservación de tejido ovárico**, es la única alternativa para estos casos. También en aquellas mujeres que ya hayan iniciado la quimioterapia.

Los avances en las técnicas de crio-preservación han permitido una crio-preservación eficaz y posterior implante de tejido ovárico.

La criopreservación de tejido ovárico para preservar la fertilidad de los pacientes con cáncer, se ha estudiado desde 1994. R G Gosden describió entonces, la restauración de la fertilidad en ovejas ooforectomizadas. Previamente, se había estudiado en mamíferos más pequeños.

El tejido ovárico, se puede obtener mediante cirugía laparoscópica, o durante una laparotomía, si se realiza para terapia oncológica. En ocasiones, es mejor una mini-laparotomía por ser más rápida y poder realizarse con anestesia loco-regional.

El restablecimiento exitoso de la fertilidad, a partir del implante de tejido ovárico, se ve favorecido por la resistencia relativa de los folículos ováricos a la isquemia, ya que se encuentran en un medio ampliamente avascular. Además, la localización de los folículos primordiales en la corteza ovárica, les permite beneficiarse rápidamente de la revascularización. El implante, se puede realizar en localización heterotópica o en localización ortotópica. El implante heterotópico, es aquel que se realiza en cualquier sitio distinto a la médula ovárica. El ortotópico es, por tanto, aquel en el que el tejido se implanta sobre la médula ovárica.

Lo que sí es común en todos los protocolos de congelación y las técnicas de trasplante, es que un número significativo de folículos se pierde. Los estudios endocrinos y la ecografía permiten una monitorización y seguimiento precisos de la paciente.

En pacientes con cáncer, las técnicas para estudiar la presencia de enfermedad residual mínima (MRD), en muestras de tejido ovárico extraídas, deben realizarse siempre para asegurar que las células cancerosas no se injertan de nuevo en el paciente.

Hace ya treinta años del primer nacido vivo utilizando la técnica de **crio-preservación de ovocitos**. La evolución de las técnicas de congelación, han llevado a la generalización del uso de esta técnica en las clínicas de reproducción asistida en todo el mundo; gracias al método de congelación ultra-rápida conocido como vitrificación.

Simultáneamente, ha habido un incremento en la demanda por parte de las pacientes; especialmente en la que se conoce como “congelación social de ovocitos”, que permite a las mujeres preservar su fertilidad anticipándose a la disminución de la fertilidad edad-dependiente.

Es importante recordar que la criopreservación de embriones, es una técnica utilizada con éxito y clínicamente establecida con anterioridad a la criopreservación de ovocitos. Además, es la técnica de elección en el tratamiento de muchas de las parejas que

acuden a las clínicas de reproducción asistida. No obstante, no está exenta de ciertas limitaciones ético-legales.

La extracción, vitrificación y crio-almacenaje de ovocitos, provee a la mujer que desea o precisa posponer su maternidad, de un sistema ágil, eficaz y seguro para poder hacerlo.

El proceso, consiste en provocar, mediante la administración subcutánea de hormonas (sintetizadas en la mayoría de los casos), una estimulación ovárica controlada. Por este medio, se conseguirá que los ovarios produzcan no uno, como en un ciclo humano natural, si no, más ovocitos, que podrán ser extraídos y congelados mediante vitrificación y crio-almacenados durante años. La extracción de los ovocitos, se realiza mediante punción y aspiración de los folículos que los contienen. Este procedimiento se practica bajo sedación para evitar las posibles molestias inherentes al mismo.

Cuando la mujer, que vitrificó sus ovocitos, desea ser madre, se procede a la preparación de la capa interna de su útero, el endometrio. De forma simultánea se descongelan sus ovocitos, todos o algunos, dependiendo del número y calidad de los mismos, se fecundan y se transfiere un embrión, con la lógica intención de obtener una gestación.

De estas técnicas, la única con la capacidad de recuperar la función ovárica es la **crio-preservación de tejido ovárico**.

## 1.2. Situación actual del trasplante de corteza ovárica

La preservación de la corteza ovárica, en pacientes diagnosticadas de cáncer seguida de reimplante sigue considerándose hoy en día una estrategia experimental, en prácticamente todo el mundo.

Esta no sólo permite preservar un gran número de folículos primordiales para restaurar la fertilidad de forma espontánea, si no, además, recuperar la función endocrina.

No requiere estimulación ovárica, ni retrasar el inicio del tratamiento y puede ser utilizada en niñas pre púberes.

Diferentes autores han ido recopilando los casos trasplantados a nivel mundial y han revelado que la utilización del trasplante de corteza ovárica es una alternativa efectiva para la preservación de la fertilidad (Otayo 2017, Silber 2016, Donnez 2015).

La revisión más reciente (Oktay 2017) analiza desde 1999 a 2016 todos los estudios publicados. Los resultados muestran 309 trasplantes, 84 recién nacidos vivos y 8 gestaciones en curso.

La restauración de la función endocrina fue del 63,9%.

Saca como conclusión, que la preservación de la corteza ovárica debería ser una opción clínica de preservación de la fertilidad.

La extracción de la corteza ovárica debe ser, siempre que sea posible, realizada previamente al inicio del tratamiento gonadotóxico, por la lógica pérdida de folículos (Oktem 2007).

### 1.2.1. El éxito de la investigación traslacional del modelo animal al humano

La preservación de corteza ovárica es, como tantos otros avances en la ciencia médica, una historia del **éxito de la investigación traslacional**.

A principio de los años 50, diferentes grupos comenzaron a investigar qué ocurría con el tejido ovárico en las ratas si se congelaba y se reimplantaba posteriormente.

En 1953 el grupo de Parkes analizó cómo se producía en ratas la regeneración del tejido ovárico injertado después de la exposición a bajas temperaturas.

En 1954 Deansely extrajo a ratas de 7 días tejido ovárico que se congelaba a  $-79^{\circ}\text{C}$ . Posteriormente, se reimplantaba en ratas adultas aneختomizadas. Una pequeña parte del tejido consiguió recuperar la función, pero la mayoría no funcionó.

Nuevamente Parkes, en 1956 encontró que en el proceso de congelación se producía una pérdida de la viabilidad del tejido.

Investigaciones posteriores de Deanesly (1954 y 1957) y de Green, Smith y Zuckerman (1956); observaron que más del 90% de los folículos de las ratas se

destruían en el proceso de congelación previo. A pesar de eso, un pequeño número de folículos primordiales sobrevivían y maduraban.

Parkes y Parrot en 1960, demostraron que después del trasplante ortotópico de tejido ovárico congelado, las ratas recuperaban la función y la fertilidad, aunque no era la misma que si se realizaba un trasplante en fresco.

En esta necesidad de mejorar el proceso de congelación, se centraron los esfuerzos del grupo de Parrot. En 1960 analizó, el resultado de la fertilidad en ratones que habían recibido un trasplante de tejido ovárico congelado a  $-79^{\circ}\text{C}$ . Realizando cambios en los procesos de congelación, consiguió una mejora en la supervivencia del tejido.

Estos fueron:

- 1) Embeber el tejido durante 30-40 minutos, en un medio de glicerol al 12%, en suero de caballo previo a congelación lenta a  $-79^{\circ}\text{C}$ .
- 2) La destrucción de ovocitos, era mayor si se utilizaba glicerol al 8% o cuando el tejido permanecía inmerso 1 o 2 horas en glicerol al 15% y cuando el tejido se almacenaba a  $-79^{\circ}\text{C}$  más de 24 horas.
- 3) Embeber en solución de glicerol a temperatura ambiente sin la posterior congelación también destruía ovocitos.

A partir del estudio de Parrot, se mejoraba en gran medida la pérdida de tejido debido al proceso de congelación. Se consiguió descendencia normal en algunas de las ratonas sometidos al reimplante de tejido ovárico previamente congelado a  $-79^{\circ}\text{C}$ .

Los resultados, indicaron que el almacenamiento congelado y el reimplante del tejido ovárico podrían ser practicables cuando el potencial de fertilidad esté amenazado por QT y/o RT.

En la década de los 90, diferentes grupos estudiaron la funcionalidad del trasplante de tejido ovárico.

En 1996 Newton estudió el tejido ovárico de mujeres sanas congelado lentamente en nitrógeno líquido, con diferentes crioprotectores, almacenado durante aproximadamente 2 meses y reimplantado en ratones SCID (con inmunodeficiencia severa). La valoración de este tejido era realizada mediante la autopsia de estos ratones después del reimplante. En función del crioprotector el número de folículos hallados variaba.

En 1998, Oktay determinó la supervivencia de tejido ovárico humano xenotrasplantado en ratones SCID. A los 22 meses del trasplante, este fue analizado. Se encontraron células necróticas y folículos primordiales sanos, y se comprobó que los folículos eran capaces de sobrevivir al proceso de congelado y de xenotrasplante por un largo periodo de tiempo.

En 1999 Baird, tras demostrar que la función ovárica y la fertilidad podían ser preservadas en ovejas después de la castración y posterior reimplante de corteza ovárica criopreservada, analizó la supervivencia de la función del tejido ovárico.

Estudiaron la función ovárica en las ovejas trasplantadas durante 2 años. Encontraron que las concentraciones de FSH y LH volvían a niveles normales en las ovejas a las 60 semanas del trasplante. La normalización de la función lútea, estudiando los niveles de progesterona, ocurría a las 44 semanas. Aproximadamente el 28% de los folículos primordiales sobrevivían al trasplante. En las autopsias realizadas a las ovejas a las 88 semanas, se encontraron un número normal de folículos antrales pero un escaso número de folículos primordiales.

Este estudio demostró que, a pesar de una drástica reducción del número total de folículos primordiales, la función ovárica era recuperada en las ovejas después del trasplante.

Esta conclusión, abrió las puertas a la preservación de la fertilidad en las mujeres que fueran a ser sometidas a quimioterapia o radioterapia por motivos oncológicos o por otras patologías no malignas.

En 2000, Kim estimuló tejido ovárico humano xenotrasplantado en ratones SCID. Demostró que se podían madurar los folículos, tras la estimulación con gonadotropinas y haga, hasta conseguir cuerpos lúteos funcionales.

Ese mismo año, Oktay publicó el primer trasplante de corteza ovárica humana con recuperación de la función. En este caso fue una mujer a la que se le realizó una salpingooforectomía izquierda por quiste dermoide con 17 años. Posteriormente, con 28 años necesitó realizarse una salpingooforectomía derecha, en este momento se criopreservó la corteza ovárica. Debido a los efectos secundarios de la menopausia, a la paciente se le reimplantó la corteza ovárica.

Quince semanas después del reimplante, se comenzó con estimulación ovárica con una respuesta normal por parte del tejido ovárico reimplantado, obteniendo un folículo dominante y una menstruación posterior. Este fue el primer gran éxito de la investigación traslacional desde el modelo animal a los humanos.

En 2002, Van der Broecke investigó el crecimiento de los folículos, tras estimulación del tejido ovárico humano xenotrasplantado en ratones. Comparó el xenotrasplante en fresco frente al criopreservado. Concluyó, que los folículos primordiales en la corteza trasplantada fresca o congelada podía crecer bajo la estimulación hormonal.

El primer gran éxito clínico, es decir, el primer nacido vivo, tras trasplante de tejido ovárico humano fue publicado por Silber en 2005. Ahora bien, dicho trasplante había sido realizado en fresco entre dos hermanas gemelas monocigóticas en las que una de ellas presentaba un fallo ovárico precoz (Silber 2005).

A partir de este momento, los éxitos de nacimientos después de reimplantes de corteza ovárica se sucedieron.

Una primera serie de casos publicada en 2011 analizó el nacimiento de 13 niños (Donnez 2013). Entre 2013 (Donnez) y 2015 (Drittrich, Van der Ven) se publicaron más de 47 nacidos de madres tras trasplante de corteza ovárica.

En 2016, ya fueron más de 70 niños los que habían nacido en todo el mundo (Silber 2016). Diferentes grupos de trabajo han conseguido que tras el reimplante de la

corteza ovárica las mujeres hayan podido recuperar su función ovárica y la fertilidad (Donnez 2013, Jensen 2015).

En los últimos datos de Oktay, en 2017 son ya 84 los recién nacidos vivos. Los autores analizan desde 1999 a 2016 todos los estudios publicados sobre reimplante de corteza ovárica. No se incluyeron ningún caso de implante de corteza ovárica en fresco ni para el tratamiento de fallo ovárico precoz.

En total 309 trasplantes con tejido ovárico preservado, con un total de 84 recién nacidos y 8 embarazos en el momento de finalización de la revisión. Con una tasa de restauración de la función endocrina del 63,9%.

Llegando a la conclusión de que, con estos datos, la presevación de la corteza ovárica debería ser una opción clínica, es decir no experimental, de preservación de la fertilidad, como previamente había propuesto Silber en 2016.

A pesar del progreso clínico de los últimos 17 años, el proceso continúa siendo experimental. Uno de las causas, es la falta de datos sobre las tasas de éxito, debido a la metodología de los diferentes estudios publicados.

El objetivo principal de la revisión realizada por Oktay en 2017 fue determinar el éxito por paciente, determinando los recién nacidos vivos, embarazo y recuperación de la función endocrina.

La revisión se realizó de los últimos 17 años, desde el primer trasplante de corteza ovárica (Oktay et al 1999) hasta la última publicación de 2016.

Se revisaron 19 estudios. De estos, los datos de 10 estudios se pudieron utilizar para contabilizar los recién nacidos después de trasplantes de corteza ovárica, las gestaciones en curso y la restauración de la función endocrina.

Los 309 trasplantes de corteza ovárica fueron realizados a 255 pacientes. Alguna paciente necesitó varias intervenciones. De estas 246 recibieron corteza ovárica para restaurar la función endocrina y la fertilidad, y 9 para recuperar exclusivamente la función ovárica.

La edad media en el momento de la criopreservación fue de 29.3 +/- 6.5 años. (rango de 9 a 44 años). La edad media en el momento del trasplante fue de 33 +/- 5,7 años (rango de 13.8 a 45).

Cuarenta y cinco pacientes necesitaron dos o más trasplantes antes de conseguir gestaciones. En todas las gestaciones conseguidas tras el trasplante de corteza ovárica, el tejido había sido congelado mediante la técnica de congelación lenta.

En la revisión, de los 77 embarazo (en curso o partos) el 37,6% fue con técnicas de reproducción asistida. Por lo tanto, el 62,3% fue de manera natural.

De los 267 casos donde se había descrito la técnica quirúrgica, 195 se realizaron mediante acceso laparoscópico (3 de ellos con cirugía robótica) y 72 por vía laparotómica.

De los 228 reimplantes donde se describió la localización, 195 fueron reimplantados ortotópicamente, permitiendo gestación espontánea, y 3 en localización heterotópica.

En 30 casos se combinó la localización heterotópica con la ortotópica.

Hubo variación en la localización del reimplante, pequeñas porciones de tejido en la pared pélvica (Oktay 2011), colocación bajo la corteza ovárica de tejido menopáusico (Meirow 2005) o sobre el ovario decorticado (Silber 2008).

Algunos de los trasplantes se realizaron en dos tiempos para mejorar la vascularización ovárica (Donnez 2004, Demeestere 2007, Donnez 2011, Roux 2010, Revelli 2013).

También se utilizó matriz extracelular como anclaje para mejorar el reimplante en dos pacientes, consiguiendo un recién nacido sano (Oktay 2016).

Las localizaciones heterotópicas incluyeron el antebrazo (Oktay 2001), abdomen (Oktay 2004) y en el espacio retroperitoneal sobre la pared abdominal (Stern 2013).

La tasa acumulada de embarazo, extraído de la revisión de la literatura realizada por Oktay en 2017, fue del 57.5% (69/120). Y la tasa de nacimientos, junto con embarazo en curso fue del 37.7% (65/172).

Esto supone una tasa de gestación del 28.4% con 49/172 mujeres que consiguieron un embarazo en curso o una recién nacido después del reimplante de la corteza ovárica.

### **1.2.2. Experiencia en gemelas monocigotas**

Existen series de tejido ovárico trasplantado sin congelación, que han servido para mejorar la preservación de la fertilidad, sobre todo, en lo que se refiere a la mejora de la técnica de procesamiento de la corteza y técnica quirúrgica en pacientes con cáncer usando tejido ovárico congelado.

Se estudió una serie de 11 ovarios trasplantados en gemelas monocigotas con fallo ovárico discordante, con el resultado de 14 embarazos y consiguiendo 11 recién nacidos vivos; además recuperando la función hormonal normal a los 4-5 meses en toda la serie. (Silber 2007, Silber 2008, Silber 2008).

Esta serie ha servido para comparar con criopreservación de corteza ovárica por motivos oncológicos, no encontrando ninguna disminución en la reserva ovárica.

### **1.2.3. Beneficios del reimplante de tejido de corteza ovárica**

El efecto beneficioso primordial es proteger la función endocrina y la fertilidad en pacientes jóvenes que van a recibir tratamiento gonadotóxico.

En diferentes estudios realizados no se han encontrado células malignas en la corteza ovárica preservada (Kim 2001, Sánchez-Serrano 2009, Meirow 2008).

Las dos indicaciones oncológicas más frecuentes en nuestro ámbito, son el cáncer de mama y la Enfermedad de Hodgkin (EH). En ambos casos, el implante se considera seguro. Sánchez-Serrano en 2009 publicó por primera vez este hecho en cáncer de mama. Respecto a la EH, ya en 2001 Kim lo sugirió, y Meirow lo confirmó en 2008. Otros autores, tampoco han descrito casos de reintroducción del cáncer por el reimplante de tejido ovárico congelado (Greve 2012, Donnez 2013, Jensen 2015).

La posible causa de la ausencia de células tumorales metastásicas en el ovario puede deberse a la naturaleza fibrosa y avascular de la corteza ovárica (Ortega 1981).

La recuperación de los niveles normales de FSH a los 4-5 meses, suponen el periodo de tiempo necesario para que los folículos primordiales, después de ser reclutados, se desarrollen a folículos antrales y, uno de ellos, a folículo ovulatorio.

El ascenso de la HAM hasta niveles normales, seguido de un descenso importante, se debe al reclutamiento masivo de folículos y su posterior depleción. Por la tanto, la pérdida de folículos de forma masiva no se explicaría por fenómenos de apoptosis por isquemia, si no por el reclutamiento masivo post-trasplante (Winkler-Crepaz 2016)

A pesar de este reclutamiento, la corteza trasplantada continúa funcionando con normalidad durante años por el descenso del reclutamiento de folículos primordiales que se produce cuando hay un descenso en la reserva ovárica (Wallace 2010).

Después del trasplante de corteza ovárica, las pacientes son capaces de conseguir gestaciones espontáneas sin necesidad de tratamientos de reproducción asistida.

Actualmente, muchas de las gestaciones son conseguidas de manera natural. (Donnez 2013, Jensen 2015, Oktay 2017).

Otro de los beneficios plausibles es el reclutamiento de los folículos “atrapados” en los ovarios de las pacientes menopáusicas. (Kawamura 2013, Suzuki 2015).

Cuando la reserva ovárica es muy baja, la capacidad para reclutar folículos desaparece, quedando estos atrapados como en un estado de fallo ovárico precoz. Después del reimplante de corteza ovárica, se abre la posibilidad que estos puedan ser también reclutados.

La presión intrínseca de la corteza ovárica puede ser uno de los mecanismos que controlan el reclutamiento de folículos primordiales. En un estudio que analizaba el crecimiento folicular después de xenotrasplante en ratones, encontraron evidencia de que el sobre-reclutamiento después del reimplante era mediado por el mecanismo bioquímico vía PTEN. (Winkler-Crepaz 2016). También encontraron que la translocación FOXO 3 en el núcleo era un mediador en el secuestro de los folículos primordiales inducidos por la presión intrínseca de la corteza ovárica.

#### **1.2.4. ¿Cómo funcionan los ovarios trasplantados?**

Diez años antes del éxito del primer trasplante, se analizó la recuperación de la fertilidad en ovejas (Gosden 1994).

Para valorar el funcionamiento del ovario tras el trasplante, se compararon 11 casos de reimplante en fresco con 11 de criopreservada por motivos oncológicos.

Ambos grupos tuvieron la misma recuperación de la función. Los niveles de FSH, volvieron a valores de premenopausia después de 150 +/-5 días, menstruaciones a las 130 días y elevación masiva de HAM a los 170 +/-7 días. Los niveles de HAM descendieron a niveles por debajo de lo normales a los 240 +/-4 días permaneciendo durante varios años con ciclos ováricos normales. De esta serie se consiguieron 17 recién nacidos, 11 después del trasplante en fresco y 6 después del trasplante tras la criopreservación

### **1.2.5. Reflexión de por qué el trasplante alarga la función ovárica: La reinstauración de la función ovárica tras el reimplante**

La cuestión es saber qué efecto ejerce la corteza ovárica trasplantada en la vida media de la función ovárica de la paciente. A pesar del descenso de la HAM, se produce un alargamiento de la vida media de la función ovárica.

En la literatura se ha descrito, en modelo animal, el fenómeno compensatorio que se produce en la función ovárica para evitar una menopausia precoz, tras la realización de una anexectomía unilateral (Gosden 1989). Se concluyó que la función ovárica no se veía afectada por un descenso de la masa ovárica (Faddy 1992).

Otros estudios, apoyan que la realización de una ooforectomía unilateral, no produce un descenso de la fertilidad de las pacientes, encontrándose sólo un adelanto de la menopausia en 1 o 2 años (Saiduddin 1970, Meredith 1992, Kaaijk 1999, Kim 1999, Aydin 2010 Koskas 2011, Zhai 2012, Yasui 2012, Thomas-Teinturier 2013,).

Estas conclusiones permitirían la preservación de la corteza ovárica en pacientes sin patología que desearan prolongar su vida media reproductiva. Si la ooforectomía unilateral no afecta de una manera negativa la fertilidad y no adelanta la menopausia, podría ser el inicio para preservar la corteza y ser reimplantada posteriormente en mujeres sanas con el objetivo de alargar la vida media reproductiva (Silber 2016).

### **1.2.6. HAM en la corteza ovárica**

La hormona antimulleriana es una glicoproteína dimérica miembro de la superfamilia de los *transforming growth factors*.

Se presenta en los ovarios fetales desde la semana 36 de gestación, expresándose en las células de la granulosa de los folículos.

Es casi indetectable al nacimiento, inicia su incremento entre los 2-4 años y continúa hasta la pubertad tardía. Posteriormente permanece estable, mostrando un declive progresivo durante toda la vida reproductiva hasta que empieza la pérdida de la reserva ovárica, reflejando así la disminución folicular. Es indetectable en menopausia o tras anexectomía bilateral, por lo que los valores circulantes son sólo expresión de su origen.

Las células de la granulosa de los folículos primordiales no la expresan, pero sí la de los folículos primarios y de los antrales hasta un tamaño de 6 mm. Este efecto inhibitorio de la hormona antimülleriana (HAM) sobre la sensibilidad folicular a la hormona folículo estimulante (FSH), juega un papel importante en el proceso de selección folicular.

La estabilidad y consistencia relativa, permiten emplearla como marcador de reserva ovárica, de la transición a la menopausia, como predictora de la hiperrespuesta y pronóstico en FIV y en el diagnóstico de SOP. Por lo tanto, también sirve para orientarnos en la reserva ovárica de las pacientes antes y después de trasplante de corteza ovárica.

Tras la realización del reimplante, se produce un descenso progresivo de la FSH con una reanudación de las ovulaciones.

La hormona antimülleriana (HAM) en un primer momento aumenta, después se produce un descenso a niveles muy bajos. Esta oscilación de los valores se debe a un reclutamiento masivo de los folículos con la consiguiente depleción sobre la reserva ovárica.

Lo interesante, es que a pesar de ese descenso de los niveles HAM, el trasplante es capaz de mantener la función durante un largo periodo de tiempo (Silber 2016).

## 1.3. Valoración ecográfica del ovario y del endometrio hoy para el trasplante

### 1.3.1. Estudio del desarrollo folicular

Nadie discute que los ultrasonidos han sido, junto con la endocrinología ginecológica, los dos mayores avances en nuestra especialidad y que han sido, la causa fundamental de la revolución experimentada por las técnicas de Reproducción Asistida (TRA). Hoy no se conciben éstas sin ecografía.

Se inició esta “revolución” con:

- La introducción por Kratochwil, en Viena, de las sondas vaginales. La descripción de los cambios endometriales, la foliculogénesis y de los diversos tipos de cuerpos lúteos por Hackelöer en Hamburgo. La desaparición de la punción folicular por vía laparoscópica por la introducción de la transvaginal ecográfica también en Viena por Feichtinger.

Este control de la foliculogénesis, ha sido facilitado y ampliado por la ecografía 3D/4D, una realidad, que permite nuevos planos de visión, mejor calidad de imagen, nuevos modos ecográficos (HD Live y modo silueta, AVC, el VOCAL, el modo inverso, etc.) altísimas resoluciones y mejor valoración de los órganos pélvicos.

En los últimos años, los avances de la 4D han sido tan espectaculares que nuevamente han revolucionado las posibilidades reproducción.

A pesar de ello, y cuando se revisan las últimas publicaciones, aún pueden presentarse interrogantes fundamentales:

- ¿Cómo valorar mejor la foliculogénesis?, ¿cómo lograr conocer mejor los folículos antrales (FA) existentes?
- ¿Cómo conocer el momento idóneo de la administración de la hCG para desencadenar la ovulación?
- ¿Qué efecto produce la luteinización del folículo dominante sobre el resto de folículos en crecimiento?
- ¿Cuando se considera que un cuerpo lúteo está activo, es regresivo o está luteinizado y no roto?

Por último, las discusiones en relación a las características ecográficas del endometrio (grosor, morfología, delimitación y volumen) son tan amplias que no es sencillo llegar a una protocolización, que oriente hacia una adecuada valoración del concepto de la receptividad endometrial.

Capítulo aparte merece el valor del Doppler color y energía y, más aún, sobre los recientes avances en los variados modos de visualización que ofrece la 3D/4D. (Ilustración 1 a 3)

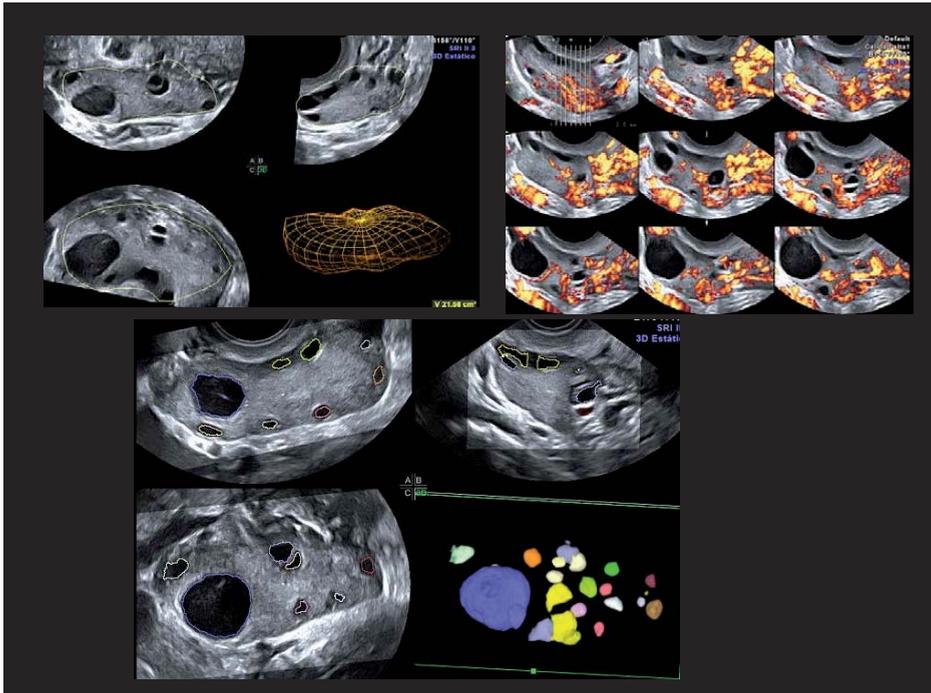


Ilustración 1

Técnicas actuales para la monitorización de la Foliculogénesis natural y que superan, con mucho, a la simple ecografía vaginal 2D convencional que aún hoy disponemos. Arriba e izquierda, planos ortogonales e histograma calculando el volumen total del ovario, interesante cuando se estudia la reserva ovárica. A la derecha, Doppler energía en cortes tomográficos. Esta técnica, mejora enormemente los hallazgos del simple Doppler color. Abajo 2D en planos ortogonales y AVC de los folículos antrales existentes. Cada folículo, aparece con un color diferente y podemos numerarlos y medirlos. Destaca, en azul, el folículo dominante.

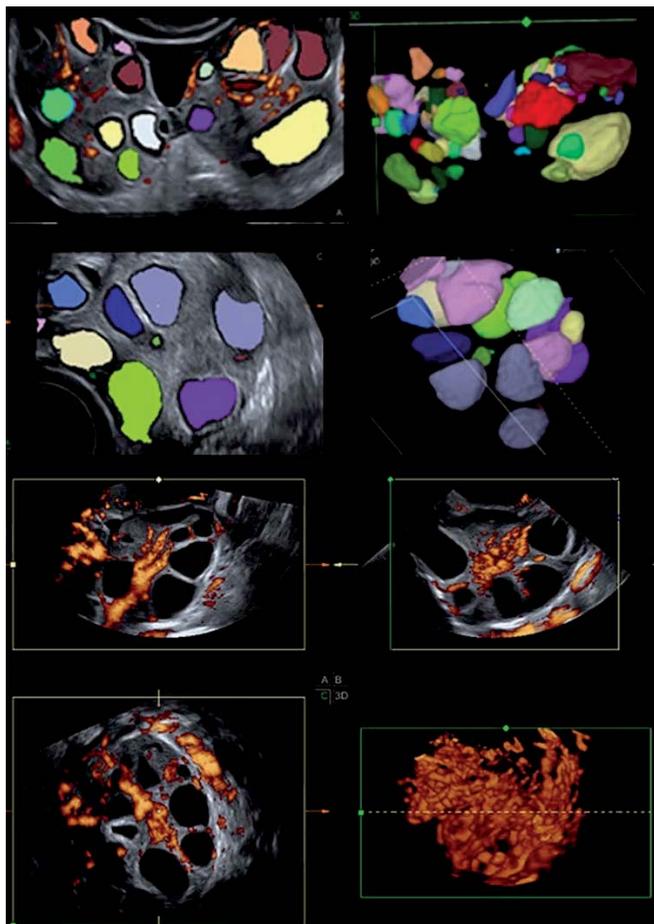


Ilustración 2: Foliculogénesis. Imagen vascular alrededor de cada folículo obtenida con ecografía 3D angiopower.

Puede verse, como sólo los folículos pre-ovulatorios disponen de una ingente vascularización perifolicular, que permitirá la transvasación desde los vasos al interior del líquido folicular, sin que aumente la presión interna en el folículo. En la parte superior de la imagen los mismos folículos vistos con AVC.

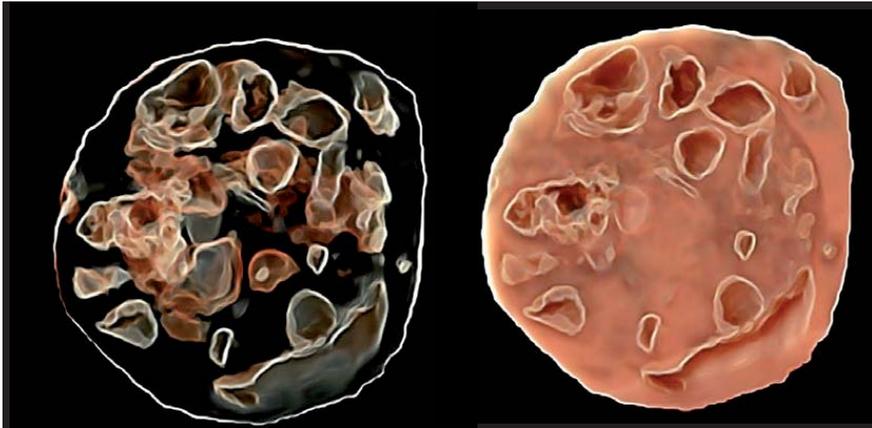


Ilustración 3: Foliculogénesis espontánea. La nueva tecnología "silueta" delimita el perfil de las estructuras y permite ver cada uno de los folículos antrales.

### 1.3.1.1. *Nociones ecográficas en el control de la foliculogénesis*

Entre los medios disponibles para una adecuada monitorización de la foliculogénesis, resulta evidente, que solo la ecografía es capaz de ver la evolución del crecimiento folicular en cortos periodos de tiempo.

La foliculogénesis, se inicia al menos entre 70 y 74 días antes de la ovulación, es decir, dos ciclos y medio antes.

La inician de 400 a 500 folículos primordiales y primarios, en un área ovárica, cada vez distinta, sin que se sepa los mecanismos de ¿por qué en esa área y por qué en ese ovario en concreto; Este hecho ocurre independiente de la acción de las hormonas hipofisarias.

Aunque desconocemos el mecanismo último por el cual estos folículos inician el crecimiento, se sabe que están implicados factores de crecimiento locales, la presencia de una mejor micro-vascularización folicular y la existencia de una capa de células de la granulosa intacta y funcional.

Cuanto mayor sea el número de células en esta capa de granulosa, lo será el de receptores para las hormonas gonadotropinas (FSH y LH), y, consecuentemente, mayor será la posibilidad de desarrollo y dominancia folicular.

La foliculogénesis ovárica tiene tres fases bien establecidas:

1. Reclutamiento de la cohorte folicular.
2. Selección de 20-25 folículos antrales durante el pico de la FSH inter-cíclica del ciclo anterior.
3. Dominancia y maduración folicular de uno o, excepcionalmente, más folículos.

El final de la inmensa mayoría de folículos pre-antrales y antrales será su atresia, motivada fundamentalmente por la apoptosis.

#### 1.3.1.1.1. Visión y recuento de los FA en situación basal

El conocimiento de los FA, los antrales existentes en la ecografía basal y, (aunque en menor magnitud), del volumen ovárico, tiene una importancia capital para el conocimiento de la reserva ovárica.

En un intento por protocolizar la valoración, se ha establecido que la medición de los FA debe realizarse durante los primeros días del ciclo menstrual.

La ecografía vaginal es capaz de ver y medir estos pequeños folículos (2 a 3mm). Esta visión es mucho más sencilla cuando empleamos la ecografía 3D en sus diversos modos: el inverso, AVC, VOCAL y silueta (Ilustración 4 y 5).

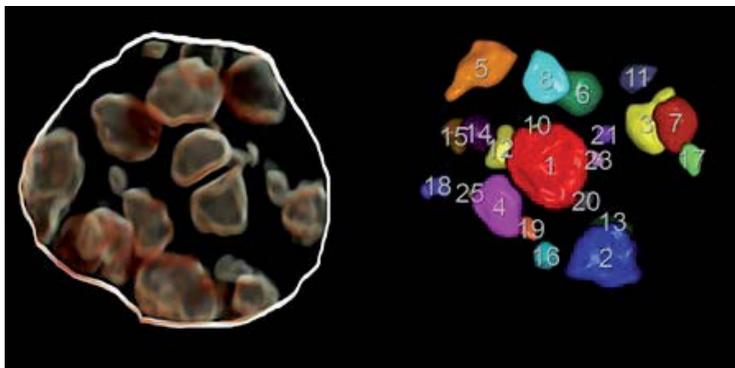


Ilustración 4: Recuento de folículos antrales mediante modo AVC, en colores, y silueta.

La forma de calcular el número de folículos antrales para el conocimiento de la reserva ovárica ha cambiado drásticamente en los últimos años con estas nuevas tecnologías.

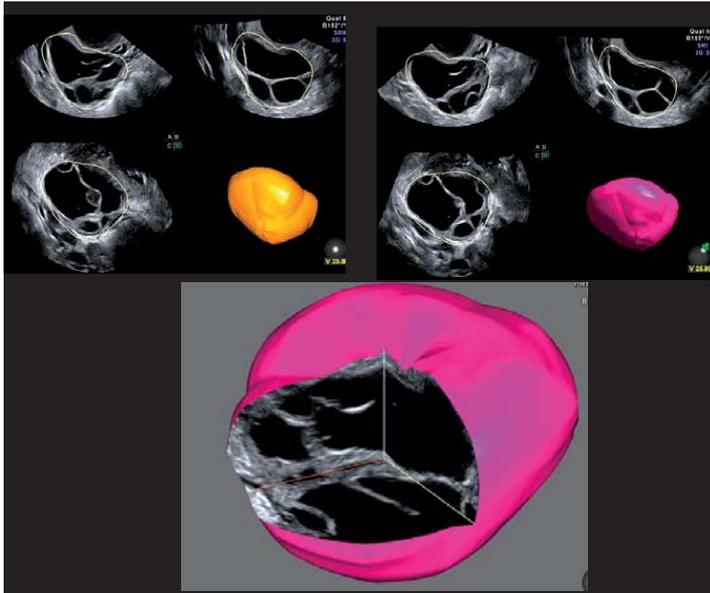


Ilustración 5: Cálculo automático del volumen ovárico con modo VOCAL.

Vemos toda la superficie ovárica y en su interior los folículos. Este cálculo, recomendado por la clasificación de Rotterdam de los ovarios poliquísticos.

#### 1.3.1.1.2. La monitorización de la foliculogénesis.

Las ecografías vaginales 2D o 3D permiten un control óptimo (diario o en cortos intervalos de tiempo) del crecimiento folicular.

Es aconsejable realizar el primer control ecográfico, los 2-3 primeros días de ciclo. Los controles posteriores, en ciclos inducidos, se harán tras seis días de administración de gonadotrofinas o a los 4-5 días de finalizar el citrato de clomifeno.

#### 1.3.1.2. *La foliculogénesis varía según se trate de un ciclo espontáneo o inducido*

##### 1.3.1.2.1. Ciclo natural

Como acabamos de mencionar, la primera ecografía (o basal), debe realizarse en los días 2° o 3° del ciclo y aporta un conocimiento muy aproximado de la reserva ovárica.

Folículos que se observan de entre 2 a 9 mm forman parte de la cohorte de folículos antrales pequeños que están iniciando su proceso de maduración. Pronto se ve emerger un folículo dominante entre ellos diferenciado por su mayor tamaño y crecimiento más rápido.

Los acompañantes o no crecen o se atresian. Raramente alcanzan los 14 mm.

Es a partir de este momento cuando, si se desea, pueden realizarse determinaciones hormonales y controles ecográficos cada 48 horas.

El crecimiento folicular, va parejo a la producción de  $17\beta$ - estradiol y se considera que el folículo está maduro cuando produce  $\sim 250$  pg/ml.

Dado que, en ciclos espontáneos la relación entre el crecimiento folicular y la producción de estradiol es lineal hasta el día 10 de ciclo, estas determinaciones pueden evitarse.

El crecimiento del folículo dominante, a partir del día 10 de ciclo, ya no es lineal sino exponencial. El folículo crece tanto más rápido cuanto más próximo está de la ovulación y aún más cuando se aproxima esta. Crece a una velocidad de 1 a 1,2 mm/día hasta el día 10, y una media de 1,8 mm al final de la fase proliferativa.

Antes de la ovulación, el diámetro folicular medio del folículo ovulatorio es de 22 a 25 mm (ocasionalmente entre 18 y 36 mm) y este su crecimiento es el único marcador que va a predecir con seguridad la ovulación (Figs. 6 a 9).

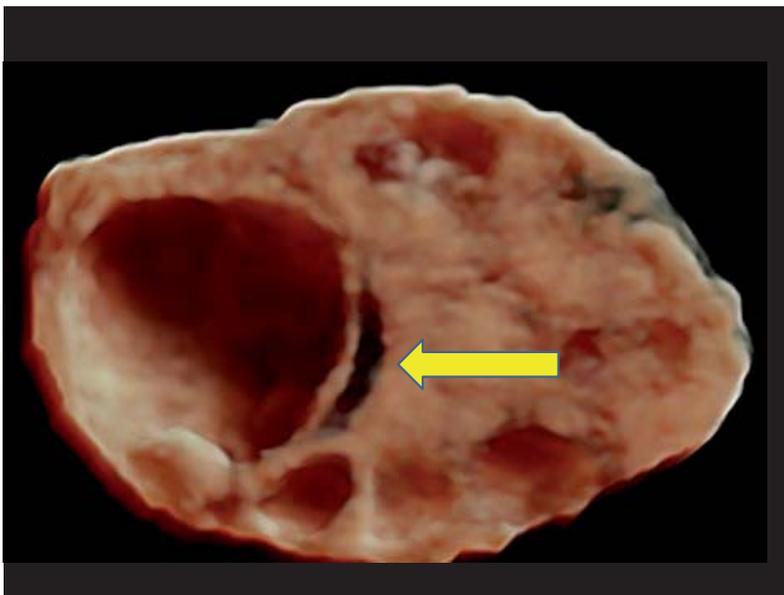


Ilustración 6: Folículo dominante o de De Graaf. Junto a él varios FA pequeños. La flecha señala el desprendimiento de una zona de la granulosa, signo ecográfico indirecto de ovulación inminente.

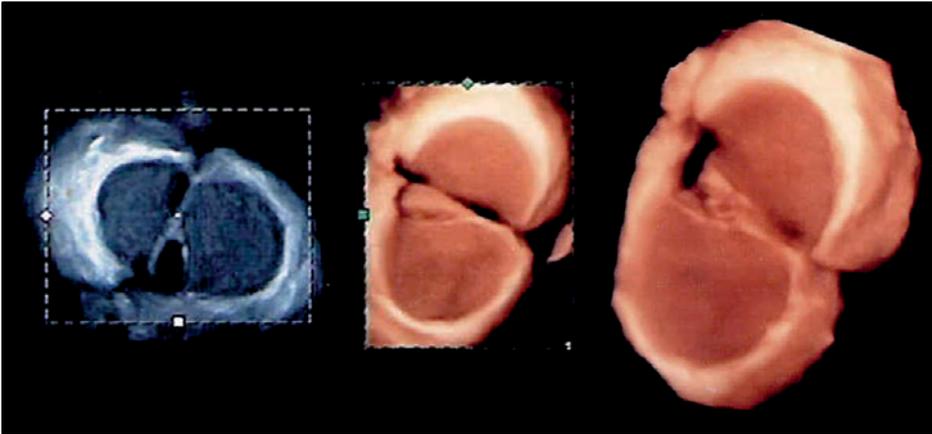


Ilustración 7: Folículo maduro preovulatorio. Observamos toda la cavidad. Ecografía 3D

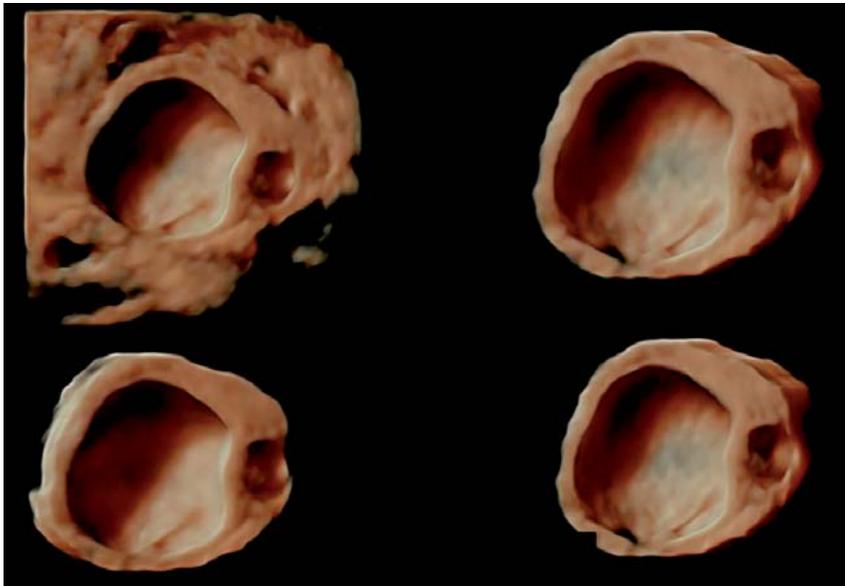


Ilustración 8: Folículo maduro en fase preovulatoria. Ecografía HD Live con varias orientaciones espaciales del foco de luz.

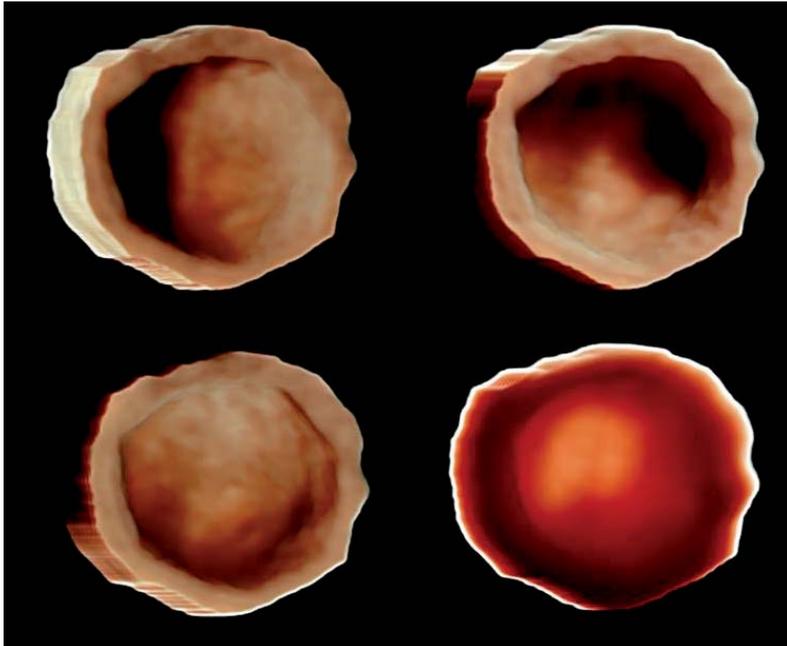


Ilustración 9: Folículo maduro. HD Live.

Esta técnica, permite ver todo su interior desde distintos ángulos luminosos, apareciendo de esta forma luces y sombras que mejoran la calidad de visión. Igualmente se puede ver con máxima luminosidad.

Un resumen muy aproximado sería:

#### CARACTERÍSTICAS ECOGRÁFICAS DEL FOLÍCULO MADURO PRE-OVULATORIO O DE DE GRAAF

Tamaño $\geq$ 21-25 mm, en ciclo espontáneo
Tamaño $\geq$ 18 mm, en una inducción con clomifeno y /o HMG
Tamaño $\geq$ 15 mm, en una inducción con Gonadotropinas
Producción superior a 250 pg/ml de $17\beta$ Estradiol
Aparición del cumulus oophorus
Aparición del signo de espinas de rosal o contorno irregular
Aparición de desdoblamiento de la granulosa

Existen otras imágenes ecográficas predictoras de que la ovulación está muy próxima, pero no son siempre visibles:

### Visualización del cumulus oophorus

Con ecografía vaginal, se suele ver en el 20% que aumenta al 50 % si se emplea ecografía 3D/4D/HD Live y siempre en folículos mayores de 18 mm (Ilustración 10 a 13). Aparece menos de 24 horas antes de la ovulación.

En realidad, estamos observando aquellos folículos que son más maduros y que con mucha probabilidad contendrán ovocitos en Metafase II, por tanto, los ideales para que sean fertilizados (o para puncionar en casos de ciclos FIV/ICSI).

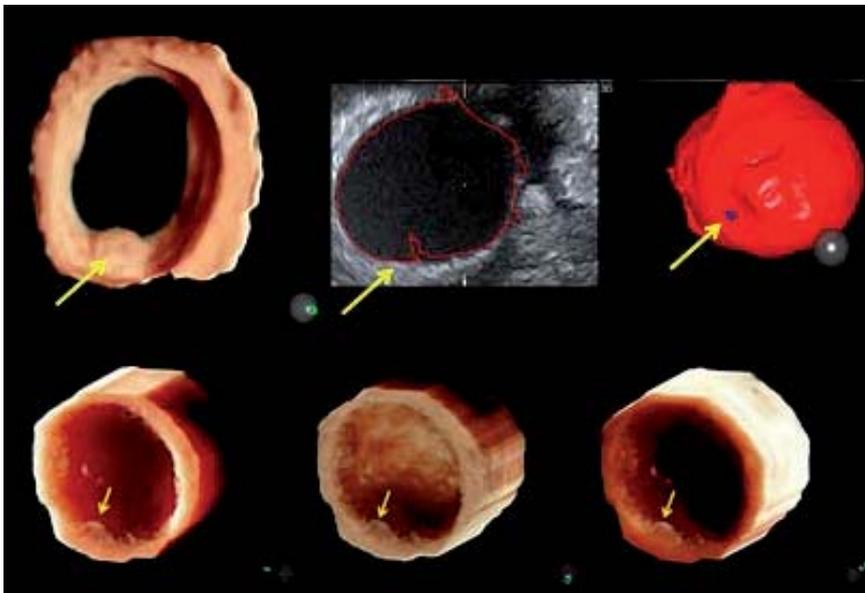


Ilustración 10: Cúmulus oophorus marcado por las flechas amarillas visto en 4D HD Live y VOCAL (arriba) y en tres cortes seriados del mismo folículo (abajo)

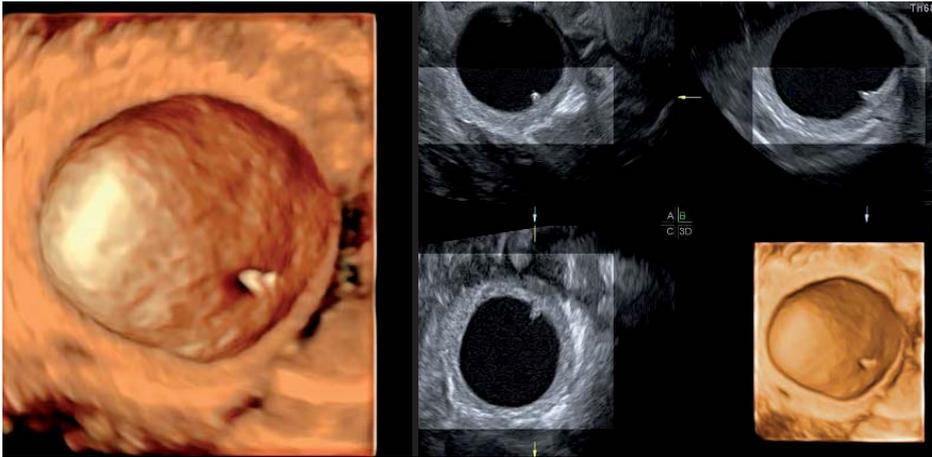


Ilustración 11: Cúmulus oophorus.

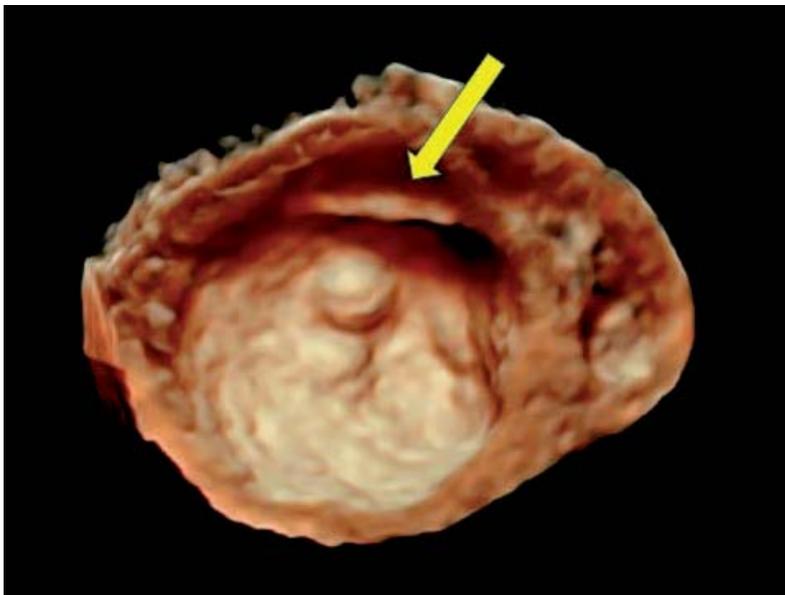


Ilustración 12: Cúmulus oophorus, en su porción superior vemos ya el desdoblamiento de una parte de la granulosa (Flecha).

### **Desdoblamiento de la granulosa**

Aparece en las 5 a 12 horas que preceden a la ovulación (ilustración 6 y 12). Se produce al edematizarse la teca, por el efecto de la hialuronidasa.

Aparece como un halo irregular y eco negativo. Como en el signo anterior, es difícil ver con ecografía vaginal, pero se ve en el 50% de folículos ovulatorios empleando 3D/4D/HD Live. Al igual que con la visión del cumulus, es un signo que indica potencial de maduración folicular.

### **Aparición de las “espinas de rosal”**

En estos casos, la capa granulosa es ya irregular, está ya ondulándose, rompiéndose, apareciendo indentaciones hacia el interior del folículo (ilustración 13).



Ilustración 13: Espinas de rosal marcadas por las flechas en una imagen 2D. Son fragmentos de la granulosa rota que se desprende hacia el interior del folículo. Aparecen < 12 horas antes de la ovulación.

Estas dos últimas imágenes coinciden con el inicio de la luteinización.

También, como en los casos anteriores es difícil de ver con ecografía vaginal (18%), pero debe buscarse con 3D y HD Live (60%).

## OVULACIÓN

Tras la rotura de la pared folicular se produce la salida del líquido folicular, un fenómeno que “no es explosivo “. Puede durar de escasos segundos a 30-45 minutos.

Se han descrito numerosos signos ecográficos, tanto con ecografía abdominal como vaginal, pero vamos a enumerar los que consideramos de interés clínico:

- Desaparición brusca del foliculo (es un signo indirecto y poco útil). Es más importante si se acompaña de aparición simultánea de líquido en Douglas
- Aparición de las típicas imágenes del cuerpo lúteo.

Pasados pocos minutos, el antro folicular se rellena total o parcialmente con sangre apareciendo la típica imagen del cuerpo lúteo “hemorrágico” de forma irregular, con ecos internos y frecuentemente la pared engrosada.

Ésta es la primera imagen realmente patognomónica y, si se busca, se encuentra prácticamente en el 100% de los casos. (ilustración 14).

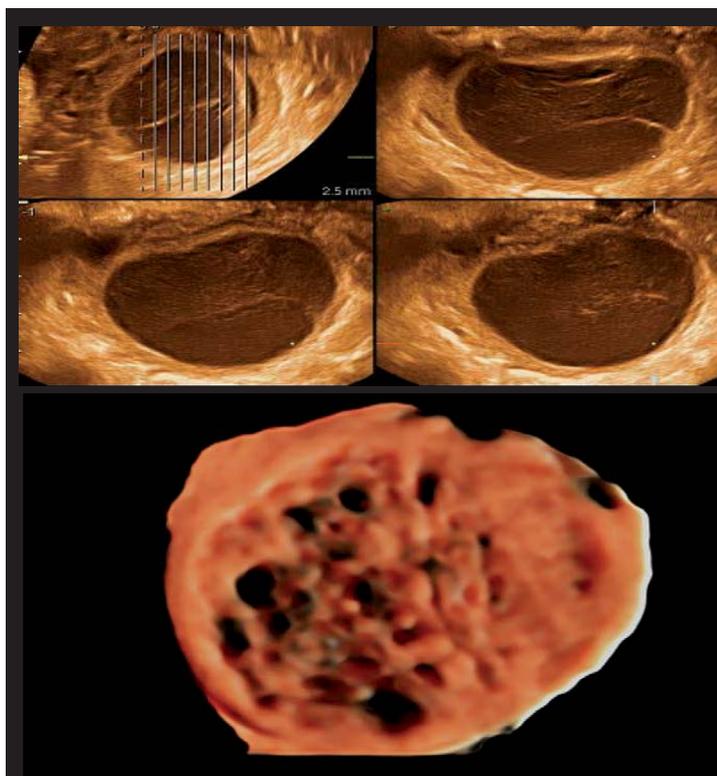


Ilustración 14: Cuerpo lúteo hemorrágico visto en imagen tomográfica y HD Live.

Tras esta, el cuerpo lúteo toma tres formas ecográficas de presentación, todas igualmente patognomónicas de ovulación.

Es importante recalcar, que dos de sus imágenes ecográficas, la reticular y especialmente la eco-gris, pueden pasar desapercibidas a la 2D vaginal, especialmente, si no se utiliza el Doppler (ilustración 15).

**Las tres formas ecográficas del cuerpo lúteo son:**

a) Cuerpo lúteo en tres capas:

El cuerpo lúteo, muestra una capa externa hiperrefringente con 2D vaginal, debido al engrosamiento de la pared de la teca; una capa intermedia gris, por la refringencia de la granulosa-teca luteinizada; y una capa interna y central negra, debida al acúmulo de sangre.

Es la forma más común, al estar presente en el 90% de casos (ilustración 15 y 16).

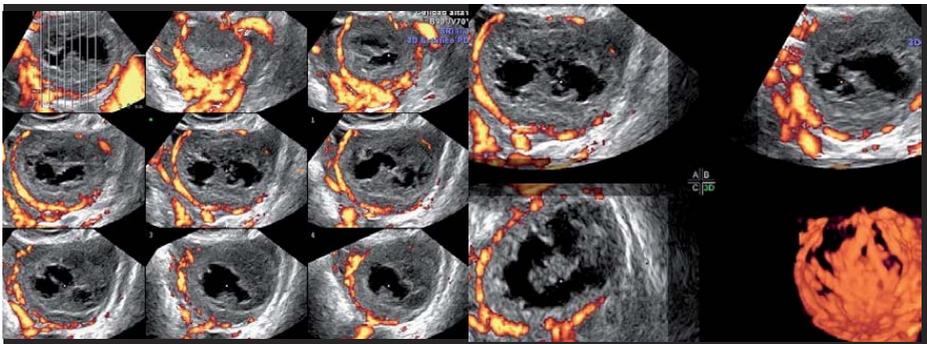


Ilustración 15: Cuerpo lúteo en tres capas con planos ortogonales y Doppler energía. Se ve claramente el centro eco negativo, a su alrededor una capa gris, la granulosa luteinizada y por fuera y con numerosos vasos formando el "anillo de fuego" una capa más blanca.

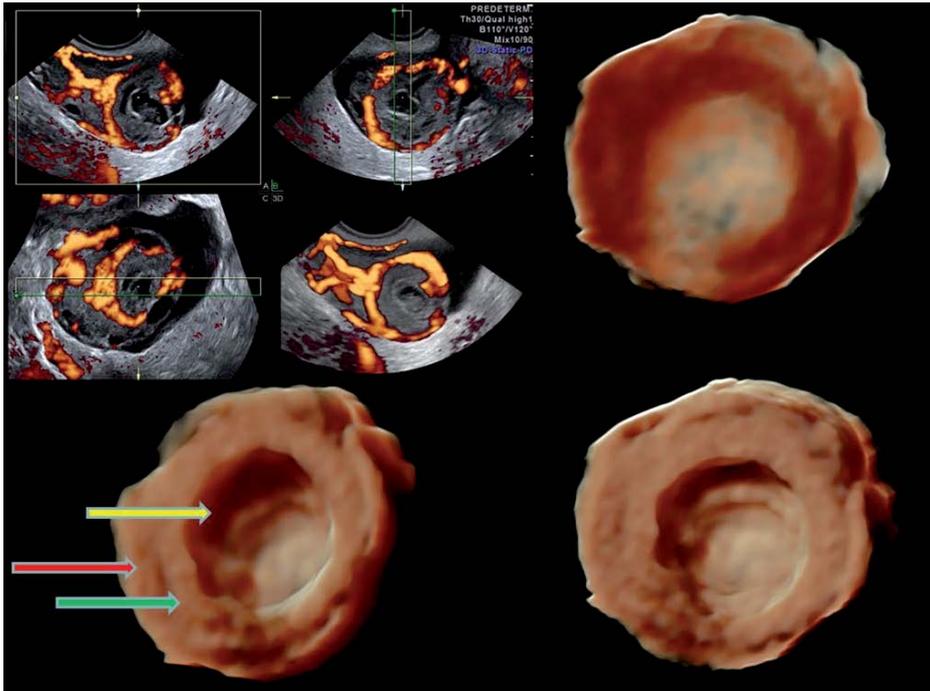


Ilustración 16: Cuerpo lúteo de tres capas HD Live. La flecha amarilla señala la cavidad, la verde la granulosa y la roja la teca. La parte superior de la imagen muestra “el anillo de fuego” Doppler – energía y HDLive con máxima luminosidad.

b) Cuerpo lúteo con imagen reticular:

Esta imagen, suele aparecer entre las primeras 48-72 horas de la ovulación y está producida por el coágulo fibras de reticulina, colágena y células luteínicas diseminadas que le confieren el aspecto de retícula. (ilustración 17).

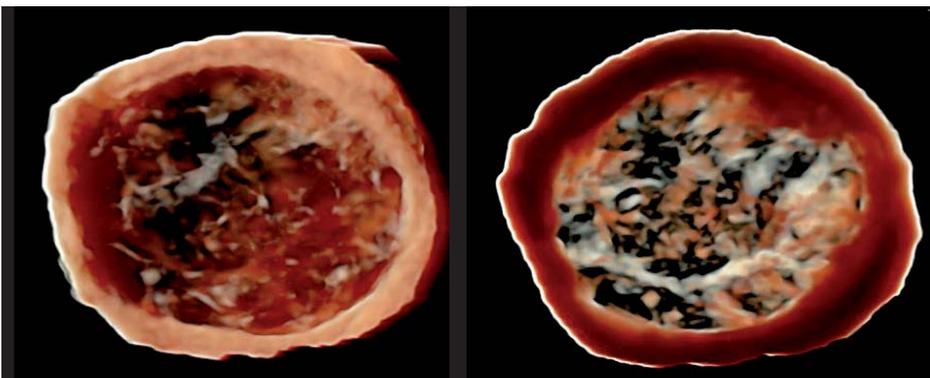


Ilustración 17: Cuerpo lúteo reticular. Obsérvese que bien se ve el retículo empleando HD Live y máxima luminosidad.

Puede también mostrar alguna área sólida o eco-grises, irregular, que corresponden a zonas de granulosa. Es una imagen "temporal", tras 48-72 horas siempre desaparece.

c) Cuerpo lúteo eco-gris:

Es difícil de diferenciar del estroma ovárico, pero sencillísimo si se emplea Doppler, ya que aparece la característica vascularización periférica intensa, de bajísima resistencia, denominada "anillo de fuego". Sin Doppler, puede pasar desapercibido al confundirse con el resto del estroma ovárico (ilustración 18).

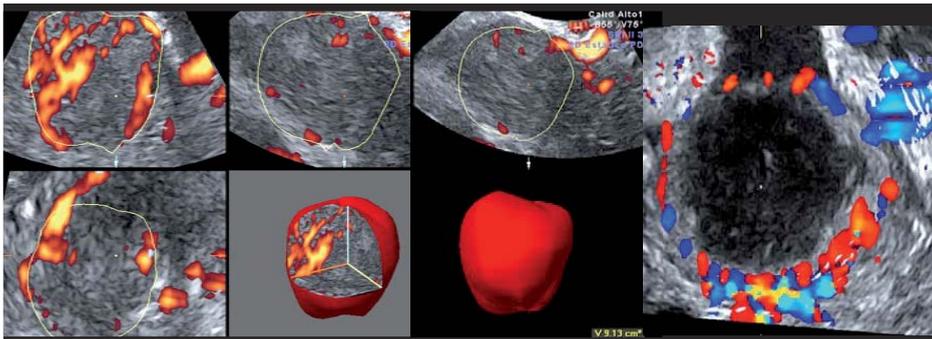


Ilustración 18: Cuerpo lúteo gris con el característico "anillo de fuego" producido por la enorme cantidad de vasos que rodean tanto al folículo pre-ovulatorio como al cuerpo lúteo. Mostramos el anillo con Doppler energía y color. En el centro, en rojo, se ha calculado mediante VOCAL el volumen del cuerpo lúteo.

Con Doppler 3D resulta sencillísimo su diagnóstico (ilustración 18). Esta imagen está producida por la granulosa-teca luteinizadas ocupando toda la cavidad folicular y sin presencia de sangre o coágulos. Es muy típica a partir del 21<sup>o</sup> día del ciclo (ilustración 18 y 19).



Ilustración 19: Cuerpo lúteo gris en HDlive. Puede resultar muy dificultoso de ver, como en el presente caso (flecha), pues se confunde con el estroma ovárico.

Dada la enorme vascularización que acontece por la invasión de los vasos desde la granulosa-teca luteinizada, el estudio Doppler representa una ayuda extraordinaria.

El cuerpo lúteo alcanza un tamaño de 2 a 3 cm, pero puede alcanzar fácilmente los 5-6 cm, por lo que se confunde con quistes u otras tumoraciones.

Es preciso recordar, que esta imagen sólo debe controlarse, pues desaparecerá con o tras la menstruación.

Todos estos cambios ováricos irán acompañados de los correspondientes en el endometrio, que mencionamos posteriormente.

Los folículos que persisten tras el día 14 de ciclo, sin presentar las imágenes de cuerpo lúteo y, naturalmente, sin cambios en el efecto Doppler, son "folículos luteinizados no rotos o LUF". Este hallazgo no es infrecuente (aprox. 6% de ciclos inducidos).

## DOPPLER

El Doppler adquiere mayor relevancia las 24 horas previas a la ovulación, cuando aparece una vascularización peri-folicular destacable. Tampoco, predice la hiperestimulación en ciclos inducidos.

Las 24 horas previas a la ovulación, el folículo dominante se rodea de una capa vascular de baja resistencia, siempre muy fina y que ocupa el 50-75% de la periferia del folículo (ilustración 20).

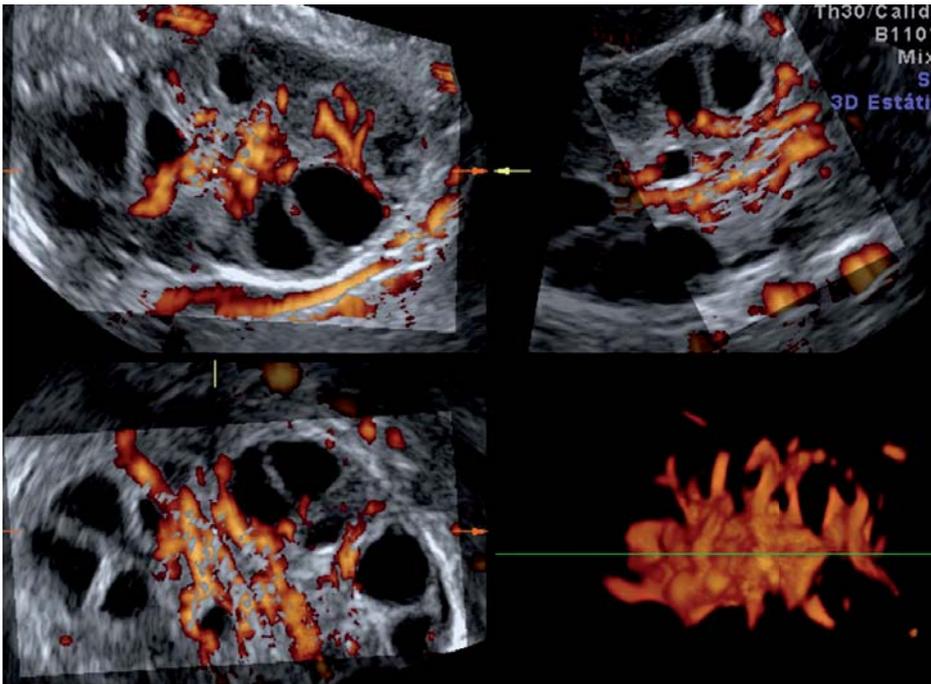


Ilustración 20: Hiperestimulación estudiada con Doppler energía. Se observan numerosos folículos con el "anillo de fuego" preovulatorio.

### Funcionalidad del cuerpo lúteo

El estudio Doppler valora la función del cuerpo lúteo, lo que supone una aplicación excepcional de la ecografía. La granulosa-teca luteinizada es muy rica en vasos, de gran grosor y de muy baja resistencia.

Aparece así la mencionada "corona de fuego", imagen formada por todos los vasos que rodean el cuerpo lúteo y patognomónica del folículo maduro y luego del cuerpo lúteo. Se presenta en todos los casos independientemente del tipo de imagen de cuerpo lúteo que aparezca (ilustración 15, 18 y 20).

La medición de sus índices de resistencia y pulsatilidad permite conocer su actividad funcional. Valoran también la existencia de una insuficiencia de cuerpo lúteo si éstos se mantienen altos o se elevan durante la fase secretora.

#### 1.3.1.2.2. Ecografía del ciclo inducido

Cualquier protocolo de inducción medicamentosa de la ovulación es "anti-fisiológico". Todos ellos (incluidos el clomifeno y letrozol) tienen como consecuencia una hiperestimulación al seleccionar mayor cantidad de folículos y producen un desarrollo folicular más rápido y corto.

Aun siendo todo lo anterior "teóricamente" contraproducente, no lo es, porque la especie humana dispone de millones de folículos primordiales y primarios desde los 7 meses de vida intrauterina para consumir.

Cuando se alcanza la pubertad, entre 11 y 13 años, los ovarios tienen 350.000 folículos que sólo producirán entre 400 y 450 ovulaciones a lo largo de toda la vida reproductiva.

Es decir, la reserva ovárica es muy elevada y la generación medicamentosa multifolicular y posterior ovulación no la agotará más precozmente.

Estos conocimientos resultan fundamentales a la hora del control ecográfico y también para conocer las diferencias con la foliculogénesis espontánea.

En el control de ciclos inducidos, deberá realizarse una ecografía basal para conocerse la reserva ovárica.

La siguiente ecografía se hará a los cinco/seis días de iniciada la estimulación con gonadotropinas o a los 3-4 días de acabar con el clomifeno o letrazol. No tiene sentido antes. Tampoco precisan realizarse determinaciones de estradiol durante estos días.

El crecimiento folicular, es casi siempre asincrónico. Inician el crecimiento los folículos antrales existentes, pero lo hacen probablemente en distintos momentos y a distintas velocidades.

Esta asincronía, es uno de los problemas básicos en la inducción de la ovulación. La velocidad del crecimiento, es mayor que en el ciclo espontáneo, los folículos crecen de forma exponencial y mucho más rápida. Una vez se administra la hCG para liberar la ovulación con un diámetro folicular de alrededor de 17 -18 mm; los folículos seguirán creciendo durante ~40 horas.

El crecimiento folicular, tampoco va parejo a la producción de 17- $\beta$  estradiol. La cifra global que se obtiene, representa el valor "total" de su producción por todos los folículos, pero dado que este crecimiento es asincrónico, es decir, de tamaños diferentes, crecen a velocidades distintas y por tanto producirán cantidades diferentes de estradiol. La cifra global, debería dividirse por el número total de folículos que se observan para estimar, de forma solo aproximada, cual es la producción de cada uno de ellos. Los hay que producen mucho y otros poco estrógeno. El valor de la división equivaldría a que todos los folículos fueran iguales y produjeran idénticas cantidades hormonales, lo que no es cierto.

El folículo mayor, no siempre contiene el ovocito más maduro, ni tampoco siempre es el que mayor producción hormonal tiene. Por ello, es recomendable puncionar todos los folículos que superen los 14 mm y todos aquéllos que muestren el complejo cumulus ovocitario.

Como vemos, la ecografía, resulta fundamental para una adecuada monitorización de un ciclo de estimulación ovárica.

## DOPPLER DEL CICLO INDUCIDO

Aunque se ha pretendido que, con esta técnica, se evitaría la (potencialmente) grave complicación del síndrome de hiperestimulación ovárica, creemos que la angiografía 3D no la pueden prevenir eficazmente (ilustración 20). Se puede presentar con independencia del tamaño y número de vasos perifoliculares o medulares existentes en los ovarios.

### 1.3.1.2.3. Modos actuales: modo inverso, vocal, sono AVC, HD Live y silueta

#### AVC y VOCAL

Entre las ventajas que aporta tenemos:

La valoración semi-automática del recuento de FA, sus diámetros y del volumen del líquido folicular de forma mucho más precisa a como se realizaba hasta la actualidad (ilustración 21 a 24). De importancia capital para una acertada predicción de la respuesta ovárica y elección del protocolo de estimulación.

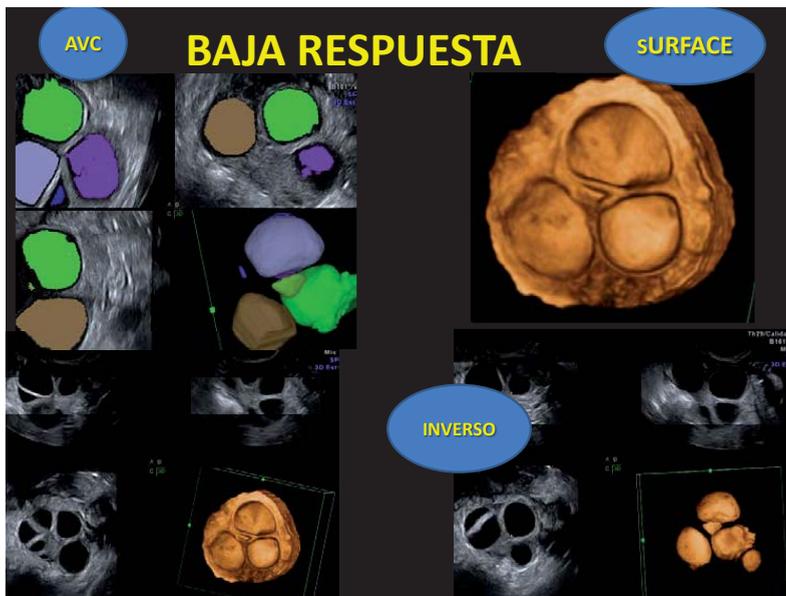


Ilustración 21: Imagen de baja reserva ovárica, pocos FA en el ovario, estudiada con modo AVC (arriba e izquierda), modo 3D de superficie (arriba derecha y abajo izquierda) y modo inverso (abajo derecha).

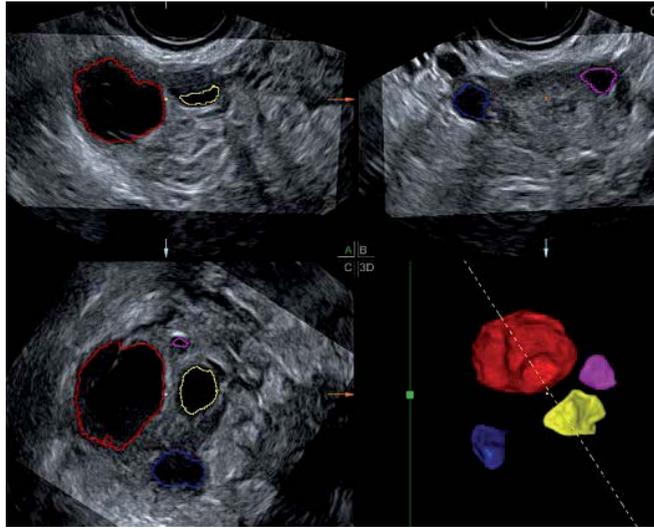


Ilustración 22: Imagen de baja respuesta ovárica, solo se ven 4 FA con 2D pero sobre todo con AVC.

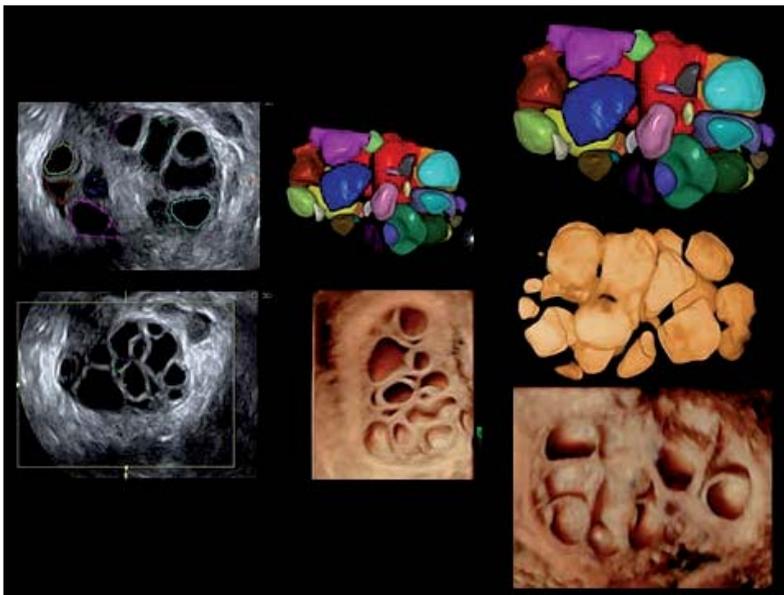


Ilustración 23: Excelente respuesta, muy buena reserva ovárica. 2D/3D, HD Live modo inverso y AVC, Cada FA existente, que se ven mucho mejor que en 2D, aparece de un color, numerados y con su volumen calculado de inmediato y automáticamente.

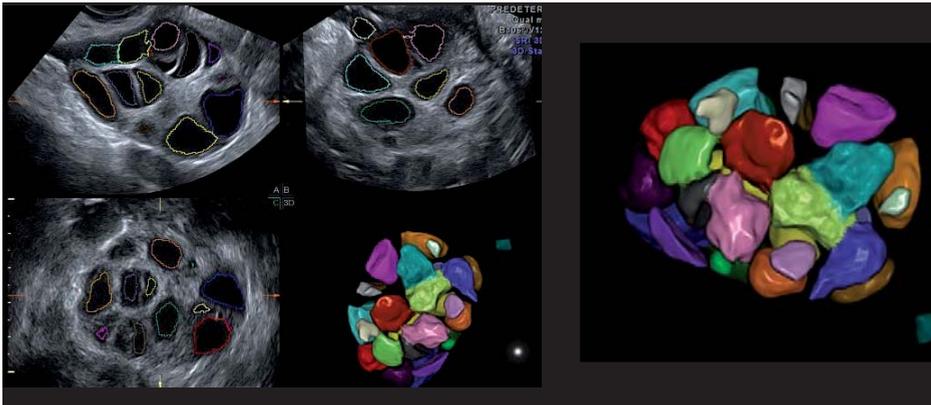


Ilustración 24: Modo AVC. Alta respuesta, riesgo de hiperestimulación. Nuevamente cada FA aparece con un color y el software nos medirá cada uno de ellos. De esta forma pueden seleccionarse los folículos que se deseen puncionar.

La valoración volumétrica de cada FA. Esta ha permitido conocer que:

- un volumen de 1 ml se corresponde a un diámetro > 12 mm
- un volumen de 4 ml se corresponde a un diámetro > 18-20 mm
- un volumen de 7ml se corresponde a un diámetro > 24 mm

El valor obtenido con esta tecnología se correlaciona mejor con el grado de maduración ovocitaria observado tras la punción.

De todo ello se ha deducido, importante para la clínica, que:

- El folículo dominante, no afectará a la fertilización de ovocitos de folículos antrales más pequeños, que también son puncionados en los procedimientos FIV.
- Que la aspiración de folículos que superan los 12-14 mm permite obtener ovocitos metafase II.
- Que tras la administración de la hCG, La mayor cantidad de ovocitos maduros se obtienen de folículos entre 18 y 20 mm.
- Que no hay que esperar a alcanzar tamaños foliculares mayores. Por ello pueden aspirarse más cantidad de FA que solo los de mayor tamaño y con posibilidades de lograr ovocitos.

El VOCAL es especialmente importante en la valoración volumétrica del ovario y de cada folículo (ilustración 5, 18 y 26), que hoy es un criterio diagnóstico, por ejemplo, en el síndrome de ovarios poliquísticos.

## MODO INVERSO

Es muy interesante en la valoración del número y volumetría de los folículos antrales (ilustración 25). Sirve así para el cálculo de la reserva ovárica.

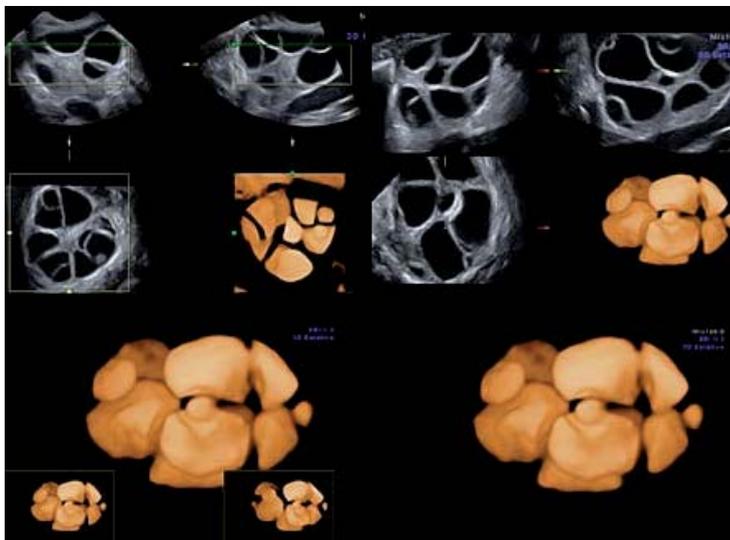


Ilustración 25: Valoración del número de FA existente mediante modo inverso en un caso de hiperestimulación

Al aplicarse la técnica, deja de visualizarse el parénquima ovárico y los folículos, econegativos, pasan a verse positivos. Recientemente ha sido cuestionada pues parece dejan de observarse FA de pequeño tamaño.

## ALTA DEFINICIÓN EN TIEMPO REAL (HD LIVE) Y SILUETA

Como hemos insistido repetidamente, la HD Live ha sido el primer modo ecográfico, tras la introducción de las altas frecuencias vía vaginal, que ha mejorado la calidad de imagen (ilustración 26).

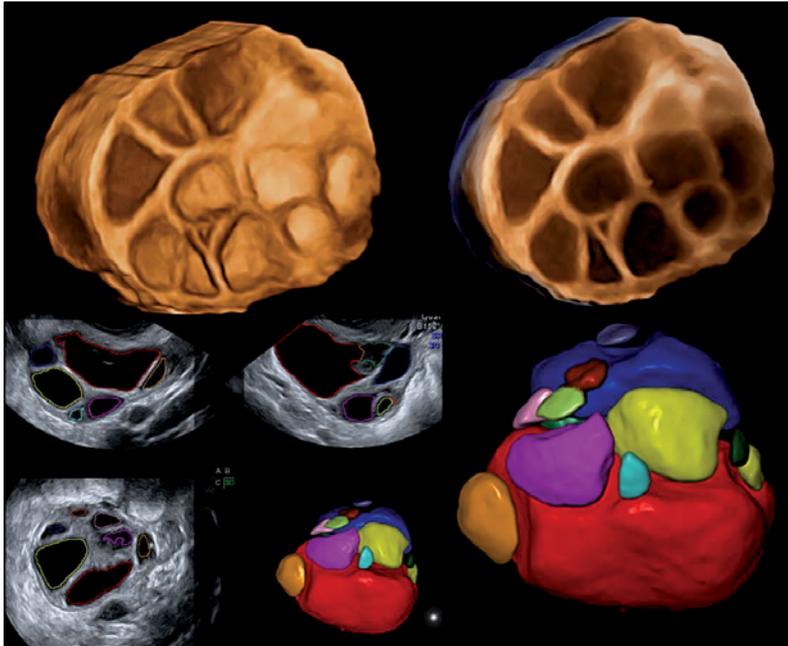


Ilustración 26: 3D, HD Live y AVC de un ovario hiperestimulado. Observese la calidad de las imágenes que se obtienen.

Solo recientemente se ha introducido el modo silueta que ayuda a definir mucho más nítidamente las imágenes (ilustración 27).



Ilustración 27: Modo 3D HDLive, Silueta ovario con folículos antrales.



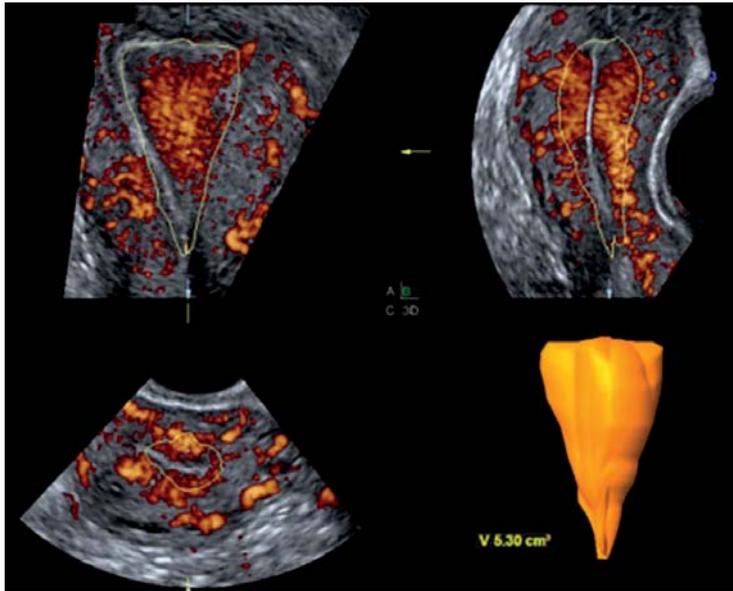


Ilustración 29: VOCAL de un útero normal acompañado de angiografía 3D Doppler. Vemos clarísimamente toda la vascularización endometrial, subendometrial y miometrial.



## **2. HIPÓTESIS DE TRABAJO**

Creemos que:

El tejido ovárico autólogo, trasplantado ortotópicamente, es capaz de comportarse como el ovario intacto tanto funcional como morfológicamente.

Si el ovario de la paciente era funcionalmente activo antes de la extracción, al reimplantarlo debería recuperar su función fisiológica, con los beneficios que eso aporta a la paciente de forma natural.

La ecografía 3D/4D, con los nuevos modos de que disponemos, serviría como método válido para confirmar la recuperación funcional ovárica tras el reimplante.



### 3. OBJETIVOS

Nuestros objetivos han sido:

- El estudio del trasplante ortotópico autólogo de tejido ovárico mediante las técnicas ecográficas HD Live, VOCAL, AVC, Modo inverso, Doppler Color, energía, TUI y Silueta, junto a las determinaciones serológicas hormonales.
- Analizar los resultados de recuperación de la función hormonal ovárica y morfológica.
- Confirmar que el estudio ecográfico es un método válido para evaluar la recuperación de la función ovárica después del reimplante.
- Conocer la evolución clínica de los casos analizados.



## 4. MATERIAL Y MÉTODOS

El presente trabajo se ha estructurado centrándonos en el análisis exhaustivo de pacientes a las que se preservó la corteza ovárica.

Consiste en un estudio descriptivo de una serie de casos de ocho casos. Se ha procedido a un completo seguimiento, análisis ecográfico y de la función ovárica endocrina de las pacientes.

La realización de este trabajo fue aprobada por el Comité Ético del Hospital Clínico Universitario de Valencia. Todas las pacientes fueron informadas de las características del estudio.

### PACIENTES

Criterios de inclusión:

- Pacientes a las que se les preservó la corteza ovárica tras un diagnóstico de cáncer.
- Pacientes que recibieron el reimplante de tejido ovárico ortotópicamente.
- Pacientes pendientes de ser reimplantadas con su tejido ovárico criopreservado.

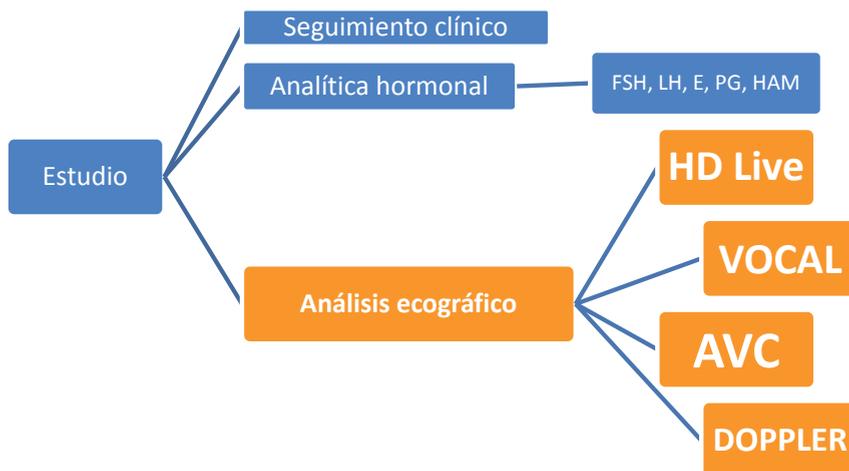
Como el objetivo, ha sido valorar cómo influye en la función ovárica tras reimplante del tejido ovárico, se ha estudiado a pacientes pendientes o a las que se les realizó un reimplante.

De las ocho pacientes, cuatro ya tenían realizado el reimplante en el momento de inclusión.

Hemos realizado estudios ecográficos completos en cuatro pre-trasplantadas y seis post-trasplantadas.

A dos se les pudo hacer un amplio estudio ecográfico antes y después del trasplante.

A otras dos se les realizó una monitorización del ciclo ovárico en los días 2-3 y 10-14.



## ANAMNESIS

Se realizó una anamnesis detallada de los antecedentes médicos, quirúrgico y gineco-obstétricos. También en los antecedentes familiares.

En la historia se recoge también el tipo de cáncer con sus características, que tratamiento han llevado y durante cuánto tiempo.

Se realizó una descripción detallada del tipo de quimioterapia, hormonoterapia y, si hubo, radioterapia.

Se describe el momento en el que se realizó la extracción de la corteza ovárica, si antes o después de la quimioterápica; de donde se realizó la extracción (ovario derecho o izquierdo); el tipo de cirugía que se realizó en la extracción.

También en el caso de reimplante de corteza ovárica, se detalla si se reimplantó todo el tejido criopreservado y sobre que ovario.

Se llevó a cabo, una recogida de analíticas de cada una de las pacientes de los últimos años de la paciente, así como monitorización hormonal durante le seguimiento.

También se realizó descripción detallada del tipo de quimioterapia (descripción de ciclos), hormonoterapia y si hubo radioterapia.

## MÉTODOS

**Determinaciones serológicas hormonales** para comprobar la función hormonal ovárica.

### **Evaluación ecográfica pre y post-trasplante:**

Ecografía 2D, 3D, 4D y otros modos.

Análisis ecográfico completo del ovario valorando:

- volumen.
- estructura
- medición del estroma.
- valoración del folículo dominante.
- recuento de folículos antrales.
- Vascularización:
  - Efecto Doppler: índice de resistencia, índice de pulsatilidad.
  - Angiopower Doppler volumétrico:
    - Índice de Vascularización (IV).
    - Índice de Flujo (IF).
    - Índice Vascularización Flujo.

A continuación, estudio del trasplante ortotópico autólogo de tejido ovárico basándonos en la técnica ecográfica modo inverso, HDlive AVC, VOCAL y Silueta.

## 4.1. Determinaciones hormonales

- **Hormona Foliculoestimulante (FSH)**
- **Hormona Luteotropa (LH)**
- **Estradiol**
- **Progesterona**
- **Hormona Antimulleriana (AMH)**

**Todas:** Muestra: Suero

Método: Electroquimioluminiscencia (= Inmunoanálisis quimioluminiscente)

Fabricante Reactivos: Roche Diagnostics

Plataforma analítica: Cobas 8000

### **FSH:**

Calibración: Segundo estándar de referencia IRP 78/549 de la OMS

Límite de detección < 0.100 mUI/mL

Valores de Referencia IC 90% (mUI/mL)

- Fase folicular: 3.5 -12.5
- Fase ovulatoria: 4.7 -21.5
- Fase lútea: 1.7 - 7.7

### **LH:**

Calibración: Segundo estándar de referencia NIBSC 80/552

Límite de detección: 0.100 mUI/mL

Valores de Referencia: IC 90% (mUI/mL)

- Fase folicular: 2.4 - 12.6
- Fase ovulatoria: 14.0 - 95.6
- Fase lútea: 1.0 - 11.4

### **Estradiol:**

Calibración: CRM 6400a por DI-CG/EM

Límite de Cuantificación: 25 pg/mL

Valores de Referencia: IC 90% (pg/mL)

- Fase folicular: 27 - 156
- Fase ovulatoria: 48 - 314
- Fase lútea: 33 - 298

**Progesterona:**

Calibración: BCR-348R y ERM-DA347

Límite de Cuantificación: 0.2 ng/mL

Valores de Referencia: IC 90% (ng/mL)

- Fase folicular: <0.2- 0.89
- Fase ovulatoria: <0.2 - 12.0
- Fase lútea: 1.83 - 23.9

**AMH:**

Calibración: Beckman Coulter AMH Gen II ELISA

Límite de Cuantificación = 0.030 ng/MI

Valores de Referencia: IC 90 % (ng/mL)

Edad (años)	20-24:	1.66 - 9.49
	25-29:	1.18 – 9.16
	30-34:	0.67 – 7.55

Valores de Referencia: IC 80 % (ng/mL)

Edad (años)	35-39:	0.78 – 5.24
	40-44:	0.10 – 2.96
	45-50:	0.05 – 2.06

## 4.2. Corteza ovárica

### 4.2.1. Extracción

La corteza ovárica, es la estructura funcionante del ovario. Tras la ooforectomía, la médula suele necrosarse y su eliminación del injerto ejerce un efecto antiinflamatorio y antinecrótico. (Byrne 1999). El ovario humano, por su tamaño, puede ser perfundido con crioprotectores, sin embargo, éstos no permean en todo el espesor del tejido, pudiendo producir necrosis y una baja supervivencia folicular. La decorticación ovárica, manteniendo in situ la médula, permite conservar «inalterada» la red neural simpática y sensitiva que acompaña a los vasos en el hilio ovárico. Esta red, libera el péptido intestinal vasoactivo que inhibe la apoptosis y evita la atresia folicular. La criopreservación de corteza ovárica, empleando los crioprotectores actuales, permite la supervivencia de folículos primordiales, siendo la población folicular superviviente, similar en el injerto de tejido ovárico fresco y en el de tejido sometido a congelación-descongelación.

Por todo lo anterior, el procedimiento quirúrgico elegido, consiste en extraer tejido cortical ovárico, mediante su disección de la médula con tijera fría, habitualmente mediante acceso laparoscópico. Con tijera fría, se puede producir un ligero sangrado medular, pero la corteza, al ser avascular no sufre el daño que se produciría si se utilizara electrocoagulación.

En la obtención del tejido ovárico para su congelación y posterior trasplante consideramos los siguientes aspectos:

**a) Tamaño:** Se podría trasplantar el ovario completo o bien sólo la corteza ovárica. La posibilidad de trasplantar un ovario completo, con su pedículo vascular, ha sido propuesta por algunos autores, aunque tanto la técnica quirúrgica como el modelo de criopreservación todavía representan retos importantes. El ovario humano entero podría ser perfundido con crioprotectores, pero, por su tamaño, éstos podrían no penetrar en todo el espesor del tejido, pudiendo producirse necrosis y baja supervivencia folicular; además, el posible trasplante de órgano, entraña un riesgo inaceptable de trombosis y otras complicaciones médicas y quirúrgicas (Bedaiwy 2003, Revel 2004, Martínez-Madrid 2004).

Por ello, la opción de la corteza es la elegida. Respecto a las dimensiones del tejido por implantar, si bien hay uniformidad en el espesor (entre 1 y 2 mm), hay diferentes experiencias con fragmentos que van desde unos 2 ó 3 mm<sup>2</sup> hasta aproximadamente 1 cm<sup>2</sup> (Oktay 2000, Schmidt 2005, Callejo 2001, Gook 2001, Oktay 2004).

En ocasiones, algunos autores han implantado hasta 80 pequeños fragmentos suturados sobre una membrana de celulosa (Oktay 2000), pero los mejores resultados sean obtenido cuando se han implantado fragmentos de mayor tamaño (Meirow 2005, Jeremias 2003).

Además, hay que tener en cuenta la distribución no homogénea de los folículos en la corteza ovárica (Schmidt 2003).

Así como a una variabilidad significativa en la densidad folicular entre muestras diferentes del mismo ovario. Implantando la corteza ovárica, en un único bloque se consiguieron ovulaciones y la restauración de la función ovárica. (Sánchez-Serrano 2007).

La corteza ovárica, está poblada por un número finito de folículos primordiales, cuya cantidad disminuye a lo largo de la vida, debido a la ovulación y a un fenómeno de atresia. Mientras, que en el momento del nacimiento cuenta con 2 millones, con la menarquia el número de folículos decrece hasta 500.000. Cuando el número alcanza los 25.000, que corresponde a una edad media de 37-38 años, la pérdida se acelera, y la dificultad de conseguir gestaciones tanto espontáneas como inducidas se ve incrementada. Aproximadamente a los 50-51 años, el número de folículos primordiales disminuye bruscamente y tiene lugar la menopausia (Schmidt 2003).

La radiación y la quimioterapia, aceleran la disminución natural del número de folículos e impiden su maduración. Esto, conduciría a una menopausia precoz. Poirot y cols. detallaron la densidad de folículos para diferentes grupos de edad: menores de 10 años, de 350 a 400/mm<sup>3</sup>; entre 10 y 15 años, de 70 a 80/mm<sup>3</sup>; y entre 15 y 34, de 30 a 35/mm<sup>3</sup> (Poirot 2002).

De acuerdo con todo ello, considerando además la complejidad funcional de la estructura folicular, cuyo proceso madurativo todavía presenta incógnitas por resolver (Te Velde 2002), parece razonable asumir como positiva, cualquier iniciativa dirigida a facilitar la presencia de un número “significativo” de folículos, manteniendo la integridad histológica cortical.

**b) Localización:** Según el lugar en el que se reimplanta el tejido ovárico, se pueden distinguir dos tipos de trasplante:

- Ortotópico (en su localización anatómica): Sobre la médula ovárica. Su principal ventaja, es que ofrece la posibilidad de alcanzar una maternidad natural.
- Heterotópico: en cualquier otra localización. Como es lógico, en ésta segunda localización para conseguir una gestación se debe recurrir a técnicas de fecundación in vitro (FIV).

Existen diversas evidencias que condicionan optar por el trasplante ortotópico:

1. Es en la corteza donde se encuentran los folículos primordiales; por tanto, es la estructura funcionante del ovario. Tras la ooforectomía, la médula suele necrosarse, de manera que su no inclusión en el tejido que se va a reimplantar ejerce un efecto antiinflamatorio y antinecrótico.
2. La decorticación ovárica, manteniendo in situ la médula, permite conservar inalterada la red neuronal simpática y sensitiva que acompaña a los vasos del hilio ovárico y que tiene un efecto antiapoptótico a nivel folicular (Lara 1990).
3. El lugar de implante es una variable que condiciona la maduración folicular (Oktay 2004). El implante en la propia médula se justifica por el papel que parece

desempeñar ésta en el desarrollo folicular y la esteroidogénesis (Aguado 1984). Demeestere trasplantó tejido ovárico criopreservado tanto en localización ortotópica como heterotópica. En el fragmento reimplantado de manera ortotópica, se consiguieron mayor número de folículos dominantes que en el tejido reimplantado de manera heterotópica. Por tanto, el lugar en el que se reimplanta el tejido ovárico influye en el posterior desarrollo folicular. Además, el reimplante sobre la propia médula puede minimizar (Demeestere 2006).

Ya en 2002, Poirot recomendaba que a las niñas y adolescentes jóvenes con riesgo de perder su función ovárica por los tratamientos antineoplásicos, se les ofreciera la opción de criopreservar su corteza ovárica (Poirot 2002).

El protocolo utilizado en las pacientes sujeto de esta tesis, se diseñó especialmente para minimizar la isquemia (Sánchez-Serrano 2007). Dos factores principales, se han relacionado con la pérdida folicular que se produce en el trasplante de tejido ovárico tras congelación/descongelación: los propios procesos asociados a la criopreservación y la isquemia/reperusión asociada al trasplante. Parece, sin embargo, que es la isquemia el factor principal, ya que la pérdida folicular atribuible al daño por la criopreservación no es estadísticamente significativa si se compara con la producida en el tejido trasplantado en fresco (Candy 2000, Callejo 2001, Liu 2002, Schorr 2002, Hreinsson 2003).

Respecto al lugar de reimplante, nuestra elección es la propia médula ovárica, por diferentes razones relacionadas con la disminución de la isquemia o el daño producido por ella. El mantenimiento del flujo vascular, está asegurado por la arteria ovárica; siempre que no exista contraindicación técnica, se criopreservará la corteza del ovario derecho por su aporte vascular más directo que el izquierdo desde los grandes vasos.

Puesto que la conservación de tejido ovárico, es independiente de la edad o del estado del ciclo menstrual, la criopreservación de tejido ovárico se aproxima al método ideal para preservar un gran número de ovocitos. La congelación, mantiene la integridad morfológica de prácticamente todos los folículos primordiales, incluso de los antrales o preovulatorios contenidos en la corteza (Escribá 2012).

#### **4.2.2. Reimplante**

La paciente, se programa para cirugía, tras realizar un estudio preoperatorio completo con hemograma, coagulación, bioquímica, ECG y Rx de tórax y tras confirmar negatividad para el VIH y las hepatitis B y C.

Una vez que la paciente está preparada en el antequirófano se avisa al Centro de Trasfusión de la Comunidad Valenciana, para que procedan a la descongelación y envío del tejido ovárico (todo o la mitad según la edad, antecedentes concretos y preferencia de la paciente).

El acceso, se realiza mediante mini-laparotomía supra-púbica de 3,5 cm o laparoscopia.

Para el reimplante, se realiza una ventana en la corteza ovárica del ovario, al que no se extrae la corteza ovárica, exponiendo la médula y dejando un lecho vascular sobre el que se deposita el tejido de corteza ovárica preservada. De esta manera, conseguimos, que el tejido reimplantado disponga de una correcta vascularización.

Si por algún motivo, la irradiación pélvica directa, produce ovarios tan atróficos que no permiten el trasplante sobre ellos; se crea una ventana en el área útero-ovárica y se procede al trasplante en dicha ubicación.

La hemostasia, se controla con bisturí bipolar, y se mantiene una irrigación continua con solución salina heparinizada, para evitar la formación de un hematoma entre los tejidos. La ventana, se crea en el momento de la intervención, de forma que el tejido a trasplantar se ajusta a la misma. La mejor forma de realizar el implante, es suturando con 4-0 de forma que ambos dos tejidos, cortical y medular, queden completamente aproximados.

La estancia hospitalaria completa es de dos días, y el objetivo es una recuperación rápida y sin complicaciones.

#### **4.2.3. Procesamiento**

Después del procedimiento quirúrgico de extracción de la corteza ovárica, y en condiciones de asepsia quirúrgica, se procede al procesamiento de la misma.

Los folículos se encuentran en la capa más externa de la corteza ovárica; por ello el objetivo principal del procesamiento es conseguir una pieza cortical lo más delgada posible. Además, cualquier resto de sangre, detritus o de la propia médula se elimina de la muestra; cumpliendo de este modo el que sería el objetivo secundario, este es, sólo congelar corteza. Por seguridad, y por proveer de dos oportunidades de implante a cada paciente, se divide la pieza en dos fragmentos.

#### **4.2.4. Transporte, congelación, crio-almacenaje, descongelación y transporte**

Una vez procesada la muestra, ésta se introduce en un frasco estéril embebido en medio de cultivo M199 y se remite al banco de tejidos. Para mantener unas condiciones adecuadas durante el transporte, el frasco se coloca en un recipiente isoterma, junto con el impreso de consentimiento informado de la paciente autorizando la realización de los procedimientos y dos tubos secos con sangre de la misma, para la realización de los controles analíticos establecidos en el banco de tejidos para las donaciones autólogas. Durante el transporte desde el quirófano hasta el banco el tejido se mantiene a una temperatura entre 18 y 22°C. En estas condiciones, no se han descrito cambios significativos (Jeremias 2003).

Una vez en el banco, la manipulación del tejido se realiza en cabina de flujo, utilizando medidas de protección tanto para el producto, evitando la contaminación por agentes externos al mismo, como del operador, frente al potencial riesgo de transmisión de

enfermedades infecciosas, por tratarse de material biológico de origen humano. Se inicia el procesamiento inmediatamente, ya que no hay que olvidar que la pérdida folicular por isquemia es un importante factor a minimizar. Los pasos que comprende son los siguientes:

- La primera operación, es el control microbiológico de la solución de transporte. Con este fin, se inoculan sendas muestras de 2ml en un frasco con tioglicolato y otro con Sabraud dextrosa. En caso de crecimiento positivo, se procede a la identificación del microorganismo.
- El paso siguiente es la distribución de los fragmentos en dos bolsas de kapton-teflon. Una vez el tejido en su interior, la abertura de la bolsa se cierra mediante un sellado térmico. Seguidamente, se identifica inequívocamente el recipiente con los registros codificados para el paciente y cada uno de los tejidos, así como la fecha de manipulación y la descripción del tejido. Sin duda, el tipo de recipiente que utilizamos representa una novedad en el campo de la conservación de este tejido. Aunque encarece el procedimiento en comparación con el empleo de criotubos, lo cierto es que el tamaño de los tejidos que manipulamos exigiría tener que enrollar las láminas de cortical para poder introducir las en aquéllos y, aun así, no resultaría un procedimiento sencillo. Este formato enrollado dificultaría la uniformidad en el intercambio de calor de la muestra con el entorno durante el proceso de congelación (como consecuencia del espesor), generándose diferencias entre las zonas más externas y las internas, que podría repercutir en la viabilidad celular. Por otro lado, el almacenamiento de criotubos en nitrógeno líquido se verifica utilizando torres distribuidas en pisos que contienen soportes para el archivo de cientos de criotubos en cada torre. Consecuentemente, cada vez que hay que incorporar nuevas muestras o extraer otras, se hace necesario sacar la torre correspondiente del nitrógeno líquido. Aunque ésta es una acción, que ejecutada por personal experimentado, apenas si supone cambios significativos de temperatura, lo cierto, es que su reiteración (recordemos que en cada torre se pueden almacenar cientos de criotubos) puede suponer un factor de riesgo para el tejido.
- La adición de la solución de almacenamiento se realiza utilizando las vías de acceso que dispone la bolsa (permitiendo la inserción de tubulares o dispositivos para facilitar el uso de jeringuillas) y se verifica en cuatro fases: 1) se embebe el tejido en medio M199 con albúmina humana al 5%; 2) se añade un volumen igual al de la solución anterior, pero esta vez incorporando dimetilsulfóxido (DMSO, que se añade para minimizar el riesgo de lesión criogénica sobre las células) al 10%, además de la albúmina al 5%; 3) después de 5 minutos de reposo, se retira la mitad del líquido de la bolsa y se añade M199 con albúmina humana al 5% y DMSO al 10% ; 4) después de 15 minutos, se retira de nuevo la mitad del volumen de líquido y se añade inmediatamente la misma cantidad de M199 con albúmina humana al 5% y DMSO al 12,5%. Después de 15 minutos, el tejido está listo para iniciar el proceso de congelación. Estas operaciones se realizan en frío, entre 4 y 6°C, y la adición de soluciones se efectúa lentamente, con agitación suave y continua. La elección del crioprotector no ha resultado complicada, ya que el DMSO es un agente bien conocido, de uso habitual y que no ha aportado diferencias significativas con otros crioprotectores para el fin propuesto (Demirci 2001).

- Toma de muestras para control microbiológico previo a la congelación, del mismo modo que se ha descrito para la solución de transporte, pero ahora con la solución de congelación.
- Con la ayuda de una jeringuilla, se retira el aire que pueda quedar en la bolsa y seguidamente se procede al sellado térmico de la vía utilizada.
- A continuación, cada bolsa se coloca cuidadosamente entre dos láminas de aluminio que actúan, por un lado, uniformizando el espesor del producto y, por otro, como difusores de calor, homogenizando el proceso de intercambio de temperatura durante la congelación.
- Para alcanzar una temperatura próxima a la de almacenamiento final, se introduce la bolsa con sus soportes de aluminio en un controlador de temperatura que está programado efectuar el descenso térmico de acuerdo con la velocidad óptima de enfriamiento para este tipo de tejido. De acuerdo con ello, la congelación se verifica en 7 etapas: 1) desde la temperatura de inicio hasta  $-12^{\circ}\text{C}$  a  $1,5^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ; 2) desde  $-12^{\circ}\text{C}$  hasta  $-30^{\circ}\text{C}$  a  $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ; 3) desde  $-30^{\circ}\text{C}$  hasta  $-20^{\circ}\text{C}$  a  $5^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ; 4) estable a  $-20^{\circ}\text{C}$  durante 5 minutos; 5) desde  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta  $-50^{\circ}\text{C}$  a  $0,5^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ; 6) desde  $-50^{\circ}\text{C}$  hasta  $-80^{\circ}\text{C}$  a  $5^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ; 7) desde  $-80^{\circ}\text{C}$  hasta  $-120^{\circ}\text{C}$  a  $8^{\circ}\text{C}/\text{min}$ . Estas condiciones de temperatura hacen referencia a la cámara de congelación, es decir, al medio ambiente en el que se encuentra el producto. En la etapa 2 se induce la nucleación del hielo. El conjunto de las etapas 2, 3 y 4 se ha configurado para contrarrestar el calor de fusión y preparar el tejido para iniciar la fase de enfriamiento lento. Actualmente, nuestro grupo estudia la incorporación de un programa de enfriamiento "rápido" ( $2^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ) que, como ya se ha comentado, ha sido empleado satisfactoriamente por algunos autores (Demirci 2001). y que acortaría sustancialmente la duración del procedimiento. Los resultados preliminares de este estudio no han aportado diferencias significativas en la estructura histológica ni en la viabilidad folicular de los fragmentos congelados por los dos sistemas (lento y rápido).
- Una vez alcanzada la temperatura final del proceso de congelación, las bolsas se almacenan en su ubicación definitiva. Considerando que el tejido permanecerá congelado durante varios años (hasta que la paciente supere satisfactoriamente su patología), el uso de nitrógeno ya sea en la fase vapor (entre  $-140^{\circ}\text{C}$  y  $-170^{\circ}\text{C}$ ) o líquida ( $-196^{\circ}\text{C}$ ) garantiza unas condiciones adecuadas. En nuestro caso, hemos optado por la fase vapor, ya que así se evita el riesgo potencial de transmisión cruzada de material infeccioso que ya se ha descrito con el nitrógeno líquido y, por otro lado, también se evita el riesgo de penetración de nitrógeno líquido a través de algún poro de la bolsa y su expansión al pasar a la fase vapor, que puede conducir a la rotura de la bolsa.

Es importante remarcar que Todas las gestaciones conseguidas tras el trasplante de corteza ovárica, el tejido había sido congelado mediante la técnica de congelación lenta (Oktay 2017).

- Llegado el momento del trasplante, la descongelación se realiza por inmersión en baño a  $42^{\circ}\text{C}$  con agitación continua.

- Luego, en frío, se añade lentamente y con agitación suave un volumen de solución de M199 con albúmina humana igual al que hay en el interior de la bolsa, es decir, se diluye a la mitad la concentración de crioprotector. Se incuba durante 10 minutos y luego se retira la mitad del líquido, añadiendo a continuación el mismo volumen de solución de M199 con albúmina humana. Después de una incubación de 5 minutos, se retira la totalidad del líquido y se embebe el tejido en M199 con albúmina humana. Nuestro grupo estudia actualmente el empleo de suero humano en la solución de conservación posterior a la descongelación, ya que este factor añadido al medio de cultivo se ha mostrado más eficaz que el uso de medio de cultivo con albúmina en la preservación de la función endocrina en fragmentos de glándula paratiroides.
- En este momento, se extrae una nueva muestra para control microbiológico (bacterias y hongos) siguiendo el mismo procedimiento que se ha citado anteriormente para otras soluciones.
- Se elimina el aire, que pueda quedar en el interior de la bolsa para asegurar que el tejido se encuentra permanentemente embebido durante el transporte y se sella la vía utilizada para la introducción y extracción de fluidos.
- Finalmente, se envía el tejido en un contenedor isoterma que garantiza una temperatura entre 2 y 6°C durante todo el tiempo de transporte.

### 4.3. Técnica ecográfica

Se han utilizado ecógrafos de altísima resolución dotados de todos los modos más actuales que describiremos:

- Voluson E8
- Voluson E10

De General Electric. Hemos utilizado sondas volumétricas vaginales.

El ecógrafo Voluson E8 y E10 nos ha permitido desde el inicio del estudio disponer de la tecnología más pionera para poder analizar con exactitud y realismo los ovarios. Aprovechando la arquitectura del sistema *Radiance* nos ha permitido la excelencia en la obtención de imágenes. Posteriormente con el ecógrafo Voluson E10 hemos sobrepasado los límites de la extraordinaria calidad de imagen para obtener información fiable con claridad, velocidad y flexibilidad.

#### 4.3.1. DOPPLER COLOR

Describe el cambio de frecuencia que se producen en las ondas de velocidad de flujo.

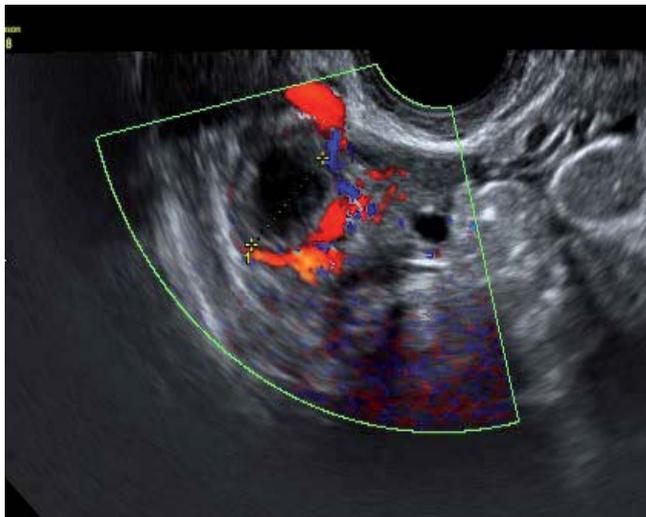


Ilustración 30: Doppler color alrededor de cuerpo lúteo. Se puede visualizar cómo el flujo que se dirige al transductor se representa de color rojo (obtenida del caso 2).

Arbitrariamente, cuando el flujo se dirige hacia el transductor la frecuencia recibida es mayor por lo que la frecuencia Doppler es positiva y se representa como el color rojo. Al contrario, se representa con el color azul.

Con estos análisis podemos caracterizar el vaso, detectar flujo, valorar el sentido y la velocidad del flujo, y comparar los resultados con índices.

#### 4.3.2. VOCAL

La ecografía tridimensional, presenta un software informático, que permite medir los volúmenes que generan las sondas de las diferentes estructuras estudiadas.

Este programa, se denomina VOCAL (*Virtual Organ Computer–Aided anaLysis*).

Este programa se fundamenta en el método rotacional, que permite delimitar volúmenes de una región de interés, rotando los planos ortogonales que obtiene la sonda tridimensional. Los tres planos son: longitudinal, sagital o plano A, transverso, axial o plano B y horizontal, coronal o plano C.

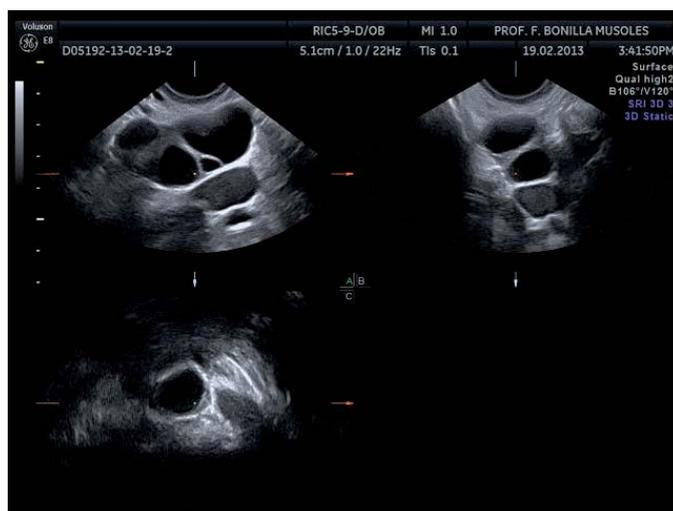


Ilustración 31: Ovario izquierdo después del reimplante de corteza ovárica.

Se visualizan los planos ortogonales A, B y C (obtenida del caso 1).

Las rotaciones, pueden realizarse desde cualquier plano, no obstante, los giros sólo se realizan en el eje vertical u horizontal de la región de interés. Al escoger el plano A o B se realizan las rotaciones sobre un eje vertical de un semicírculo de 180°. Si se elige el plano C, las rotaciones se realizan sobre un eje horizontal que afecta a los planos C y A.

Se puede escoger diferentes pasos de cada rotación, lo que permite seleccionar diferentes cortes sobre la imagen bidimensional, del plano seleccionado. A partir del trazado del contorno de estos cortes bidimensionales el programa es capaz de recomponer los cortes intermedios y generar el volumen de la región de interés sobre la que se está trabajando.

El volumen en superficie se define por triangulación tridimensional de los contornos bidimensionales, lo que significa que cada punto del contorno del corte bidimensional o plano N es conectado por medio de un triángulo en forma de malla con los correspondientes puntos en el plano N+1 y N-1.

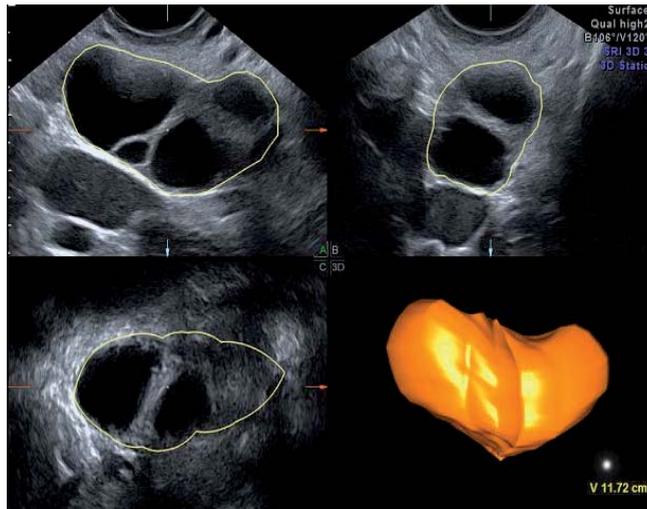


Ilustración 32: Ovario izquierdo después del reimplante de corteza ovárica. Se visualizan los planos ortogonales A, B y C y la reconstrucción tridimensional (obtenida del caso1).

La captura de imágenes tridimensionales puede realizarse de dos maneras: **manual** o **automática**.

El **modo manual**, requiere el movimiento manual, como su propio nombre indica, del transductor a través de todo el área o región de interés (RDI), área de la cual se pretende estimar el volumen. El **modo automático**, adquiere las imágenes a través de un transductor específico de 3D.

En el cálculo del volumen de las pacientes analizadas se ha utilizado el **modo manual**.

Una vez seleccionados el programa VOCAL del software de ecografía 3D del ecógrafo para la obtención de volúmenes, se selecciona el área de la cual se quiere conocer el volumen. En el caso del presente estudio, se obtuvo un plano medio del ovario.

Una vez obtenido el volumen con el vocal, el cálculo del volumen en milímetros es automático

### Captura y procesado de las imágenes del ovario

El área o región de interés, también denominada ROI (*Region Of Interest*) o *Volume box*, se seleccionó de forma manual abarcando la totalidad del ovario. Estas imágenes fueron almacenadas y trabajadas con posterioridad al momento de la realización de la ecografía.

Para el procesado de las imágenes y cálculo de volumen se utilizó la aplicación multiplanar *display*. En ella quedan reflejadas en la pantalla imágenes de la región de interés en los tres planos perpendiculares del espacio, axial, sagital y coronal. En el presente estudio se seleccionó el plano sagital o plano A. Situando el eje de rotación vertical en el punto medio del ovario se generan rotaciones sobre él de 30°. En cada corte presentado se dibuja manualmente el contorno de la porción de ovario visualizado. Una vez obtenidos todos los contornos en la totalidad de los planos se obtiene automáticamente el volumen total.

### Modo de representación del volumen del ovario

Una vez creado el volumen, éste se puede representar como cualquier otra imagen tridimensional.

La representación de la superficie puede realizarse en forma de piel o malla que nos permitirá recrear el interior del volumen.

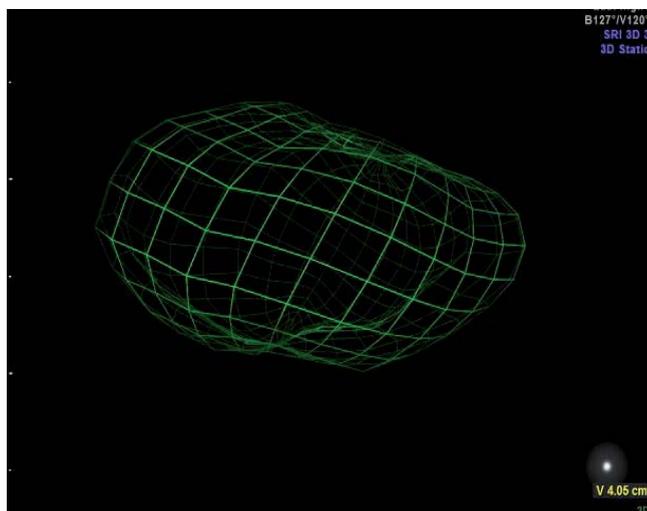


Ilustración 33: VOCAL modo malla: Volumen ovario izquierdo.

También se puede accionar la representación de sólo el volumen de grises, el mapa de la angiografía power doppler tridimensional y el modo transparencia que permite ver los vasos a través de volumen de grises.

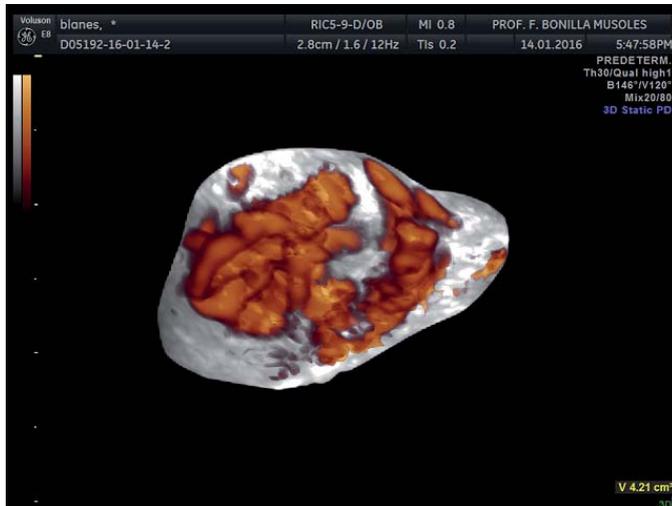


Ilustración 34: Vascularización volumétrica del ovario izquierdo (obtenida caso 7).

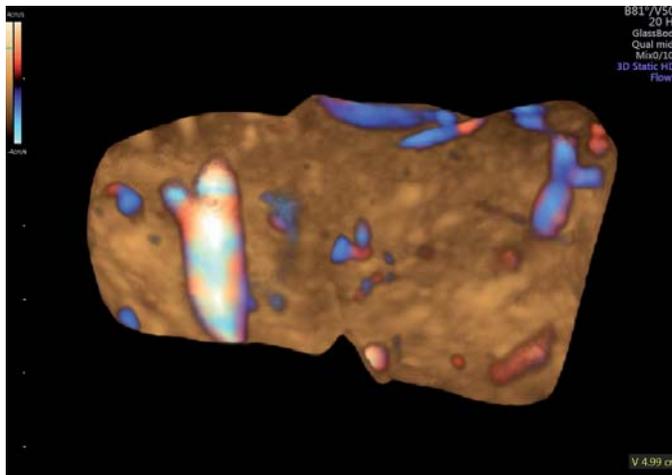


Ilustración 35: Glass Body Power Doppler: Vascularización del ovario izquierdo (obtenida del caso 7).

Además de estas modalidades básicas, se puede cambiar la imagen tanto el mapa de grises como el mapa color. El resultado, produce mediciones enormemente exactas e

imágenes tremendamente plásticas y diferentes del ovario o estructura que se investigue.

#### 4.3.3. ANGIO-POWER DOPPLER

Este modo realiza una medición automática de la vascularización de una región de interés.

El programa vocal cuenta con la posibilidad de calcular automáticamente el histograma del volumen o de los diferentes contornos. Desde el histograma vamos a determinar el valor medio de los voxels de gris y los índices de color angio o power doppler.

El programa vocal cuenta con la posibilidad de calcular automáticamente el histograma del volumen o de los diferentes contornos. Desde el histograma vamos a determinar el valor medio de los voxels (volumen del conjunto de pixel de cada plano de corte) de gris y los índices de color angio o power Doppler. Presentamos la arquitectura vascular de un órgano desde la interpretación tridimensional del mapa de color de los vasos sanguíneos.

La imagen power Doppler se caracteriza esencialmente por su elevada sensibilidad para representar cualquier vaso, tanto de los grandes como de la microvascularización. Esto se explica porque la imagen se configura por la amplitud de los ultrasonidos en vez de por la frecuencia Doppler a diferencia del Doppler color. El mapa de color es independiente del ángulo de insoniación y no presenta zonas oscuras ni de aliasing.

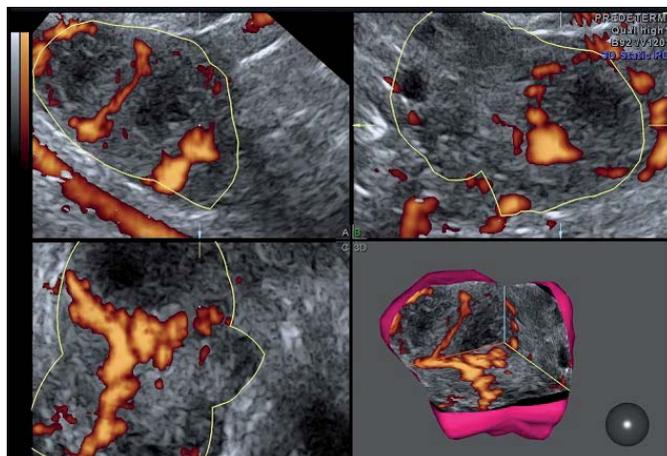


Ilustración 36: Vocal + Power Doppler: Análisis de la vascularización del ovario izquierdo mediante reconstrucción volumétrica. Modo nicho para ver la superficie ovárica en rosa, el estroma en gris y mediante angio-doppler los vasos en la medular (obtenida del caso 6).

El volumen tridimensional está constituido por unidades "voxels" que almacenan toda la información de la escala de grises y del color mediante una escala de intensidad desde el cero a 100.

El histograma del vocal utiliza unos algoritmos que calculan automáticamente la escala de grises y los valores del color del volumen adquirido. Se calcula un índice de grises y tres índices color para estudiar cuantitativamente la vascularización.

El gris medio representa el valor promedio de grises entre todos los "Voxels" grises del volumen adquirido o la región interés.

El **índice de vascularización (IV)** mide el número de "voxels" color en el volumen estudiado, representando el número de vasos sanguíneos que los expresa como un porcentaje. De esta forma intentaría calcular la densidad vascular.

El **índice de flujo (IF)** es el valor color promedio de todos los "voxels" color de la región interés. Representa la intensidad promedio del flujo sanguíneo.

El **índice vascularización flujo (IVF)** es el valor color promedio de todos los "voxels" color y grises.

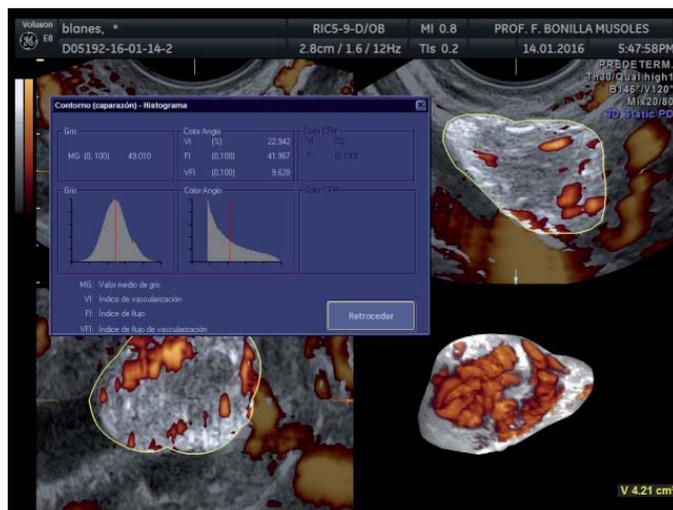


Ilustración 37: Vocal + Angio Power Doppler: Análisis de la vascularización del ovario izquierdo mediante reconstrucción volumétrica. Histograma de volumen donde se muestran diversos parámetros de vascularización (IV, IF, IVF) (imagen obtenida del caso 7).

Estos índices sirven para evaluar de forma semicuantitativa la vascularización de la región de interés o estructura evaluada.

Se ha comprobado una buena reproductibilidad interobservador de los índices.

#### 4.3.4. SonoAVC general (Recuento de volumen automatizado general con sonografía)

Es una herramienta que ayuda en la visualización y cálculo de estructuras hipoecóicas. Aplicado al estudio del ovario nos permite realizar un estudio completo de los folículos ováricos.

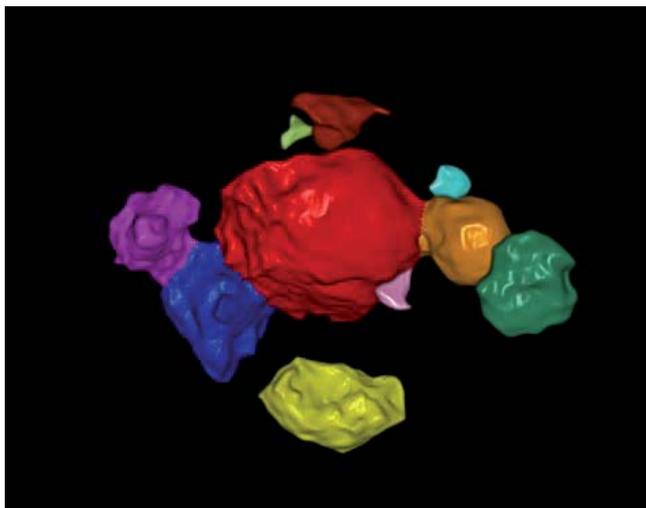


Ilustración 38: Modo SonoAVC: Recuento de 9 folículos antrales en el ovario izquierdo (obtenida del caso 6).

El recuento de folículos antrales (RFA) es el marcador de reserva funcional ovárica de primera elección, por su bajo coste, fácil realización y elevado rendimiento. La finalidad del mismo es predecir la respuesta ovárica a las gonadotropinas en los tratamientos de Reproducción.

Consiste en el recuento del número de folículos de entre 2 y 10 mm en fase folicular precoz (2º a 5º de ciclo). Se considera como baja respondedora una paciente con un RFA menor de 5-7 sumando ambos ovarios (criterio ESHRE); las pacientes con recuentos superiores a 30 tienen un elevado riesgo de hiperestimulación.

#### 4.3.5. HD Live

Sistema de ecografía en 4 dimensiones (4D) cuyo sistema utiliza una fuente de luz virtual dando al ecografista la oportunidad de crear efecto de luces y sombras y con ello una percepción más en profundidad.

Debe traducirse por alta definición en tiempo real.

El ecógrafo dispone de una sonda matricial de casi 1000 elementos, potencia mayor de los procesadores y software específico. Se consigue así una Alta Definición de información de voxels del que posteriormente, igual que en el TAC o en la RM se obtienen con el procesado o con los algoritmos adecuados la visualización de las imágenes o volúmenes más adecuados. La calidad de la señal, la cantidad de información y el complejo y potente procesado permiten el realismo de las imágenes.

De esta manera se obtiene información precisa a través de la imagen de la morfología de los ovarios, así como del análisis específico del momento de la fase del ciclo.

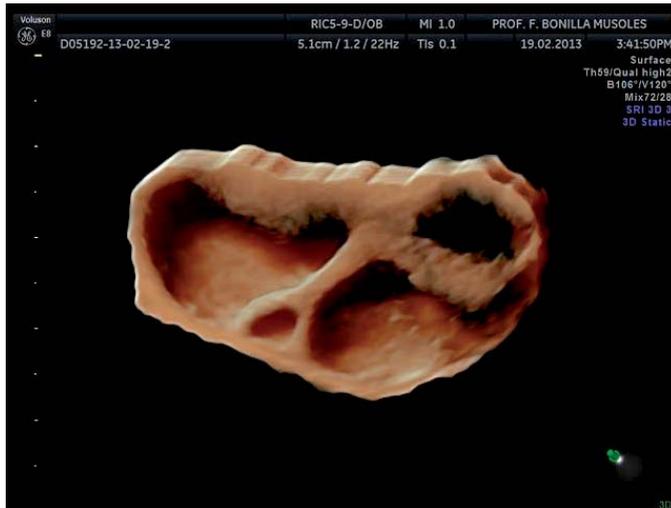


Ilustración 39: Modo HD Live: Reconstrucción del volumen del ovario izquierdo (obtenida del caso 1).

Cuando la luz virtual entra en el cuerpo y llega a la superficie, una porción de esta se refleja mientras que la luz restante entra en el área de interés y pasa a través de los tejidos.

El usuario puede libremente posicionar la fuente de luz virtual en cualquier ángulo en relación con el volumen de ultrasonido para mejorar los detalles, incluso la colocación de la fuente de luz virtual detrás de la escena. La imagen mostrará entonces el efecto de translucencia máxima.



Ilustración 40: Hdlive máxima iluminación. Esta ecografía es del caso 7 que quedó gestante 3 meses después del reimplante.

La fuente puede emplearse bien en imagen aislada 3D, bien con planos ortogonales, bien con modo AVC o VOCAL incluso tras emplear el corte “mágico” de la imagen.

La combinación de las luces y sombras da como resultado unas imágenes espectaculares mucho más naturales que con la simple 3D.

Otra gran ventaja es que el software puede ser empleado con posterioridad, tras la realización de la exploración, con el material almacenado.

#### 4.3.5.1. *HD Live Silueta*

Es la técnica más novedosa, de la que apenas existe experiencia mundial. Se aplica transparencias de forma dinámica a las imágenes generadas de las estructuras para tener una vista superficial más completa de la anatomía, desde una estructura de superficie sólida hasta la anatomía interna.



Ilustración 41: HD Live Silueta (obtenida caso 7).

#### 4.3.5.2. *HD Live Flujo*

Visualiza con claridad las estructuras vasculares, desde los vasos sanguíneos pequeños hasta las grandes arterias.

#### 4.3.5.3. *HDlive Silueta Flujo*

Se consigue visualizar los vasos sanguíneos desde una superficie o vista transparente para proporcionar una mayor percepción de la anatomía vascular y las estructuras circundantes.

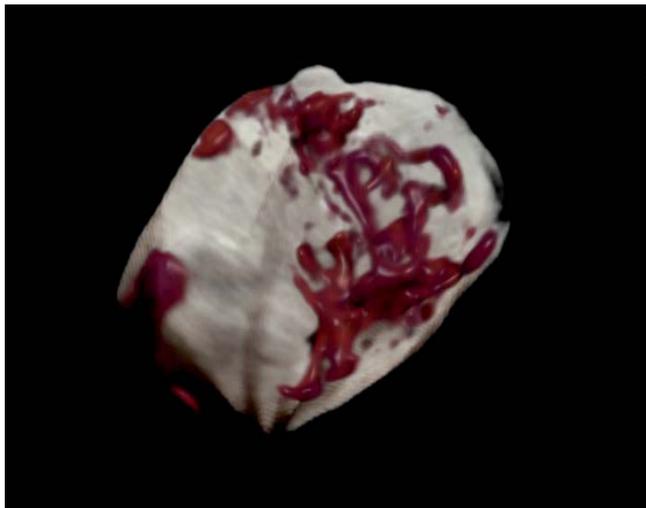


Ilustración 42: HD Live Silueta flujo: se consigue percibir de una manera realista la vascularización del ovario izquierdo (obtenida del caso 7).

#### 4.3.6. TUI (imagen tomográfica ultrasónica)

Esta tecnología permite elegir la distancia a la que se quiere realizar los cortes ecográficos (entre 1 y 15mm). La representación de las imágenes muestra los diferentes barridos.

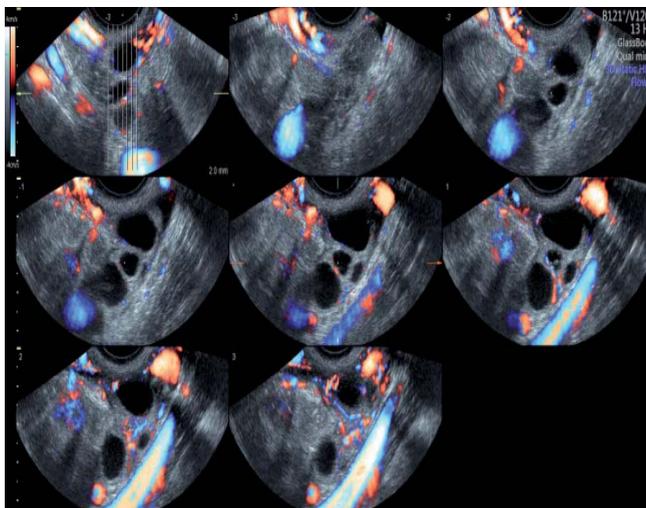


Ilustración 43: 3D TUI (Imagen tomográfica ultrasónica): Vascularización volumétrica del ovario izquierdo (obtenida del caso 7).

## 5. RESULTADOS

Procedemos a la exposición de las 8 pacientes a las que se les realizó extracción de la corteza ovárica derecha tras el diagnóstico del cáncer.

La edad del momento de la preservación abarca desde los 26 a los 36 años.

De las ocho pacientes estudiadas, a siete se le realizó la extracción de la corteza ovárica derecha antes del inicio de tratamiento del cáncer. Sólo una de las pacientes recibió quimioterapia previa a la extracción.

De las ocho pacientes, a seis se les reimplantó el tejido ovárico preservado una vez finalizado el tratamiento de forma ortotópica sobre la corteza ovárica. La forma de reimplante de la corteza ovárica fue principalmente sobre el ovario izquierdo. Aunque a la paciente del caso dos se le reimplantó sobre el ovario izquierdo y sobre el ovario derecho.

Caso	Edad al diagnóstico	Edad extracción	Re-implante	Edad reimplante	Edad estudio	Estudio	Años post reimplante al estudio
1	36	36	Si	38	43 y 45	Post-trasplante	5
2	34	34	Si	42	43 y 46	Post-trasplante	1 y 4
3	26	26	Si	35	35	Post-trasplante	QT antes de la extracción
4	32	32	No	-	39	Pre-trasplante	-
5	33	33	Si	40	39 y 40	Pre y post	<1
6	36	36	Si	42	41 y 41	Pre y post	<1
7	36	36	Si	41	42 y 43	Post	<1
8	32	32	No	-	37	Pre-trasplante	-

Tabla 1

Caso	Quimioterapia Previa a la extracción	Reimplante	Estudio Pre-trasplante	Estudio Post-trasplante
1	No	Si	-	X
2	No	Si	-	X
3	<b>Si</b>	Si	-	X
4	No	No	X	-
5	No	Si	X	X
6	No	Si	X	X
7	No	Si	-	X
8	No	No	X	-

Tabla 2

Caso	Patología	Quimioterapia	RT	Hormono-terapia
1	Cáncer de mama	FEC x 3 + T x 3	Sí	No
2	Cáncer de mama	TAC x 4	Sí	No
3	Linfoma de Hodgkin	BEACOPP	Sí	No
4	Cáncer de mama	AC x 4 + T x 12	Sí	No Trastuzumab 1 año
5	Cáncer de mama	FEC x 6	Sí	TMX 5a aGnRH 2a
6	Cáncer de mama	No	Sí	TMX 5a
7	Cáncer de mama	TAC x 6	No	TMX 10a
8	Cáncer de mama	TAC x 6	Sí	TMX 5a aGnRH 5a

Tabla 3:

**FEC:** Fluorouracil +Epirubicina +Ciclofosfamida. **T:** Plaquitaxel

**TAC:** Plaquitaxel + Adriamicina + Ciclofosfamida. **AC:** Adriamicina + Ciclofosfamida

**TMX:** Tamoxifeno. **aGnRH:** Análogo de la hormona liberadora de gonadotropinas **BEACOPP:** Bleomicina + Etopósido + Doxorubicina + Ciclofosfamida + Vincristina + Procarbina + Prednisona

## CASO 1

Paciente diagnosticada a los 36 años de carcinoma de mama medular atípico en mama derecha (abril 2006).

Se practicó cuadrantectomía con vaciamiento ganglionar (1 ganglio afecto de 11).

Estadaje: pT1N1/11, M0.

Características de tumor:

- Carcinoma medular atípico con áreas de infiltración tubular multinodular (1.2 x 1 cm), grado histológico III, bordes libres.
- Receptores hormonales negativos (RP y RE). Her2 negativo. Triple negativo.
- Estudio de extensión negativo.
- BRCA 1 y 2 negativo.
- Se realizó **extracción de la corteza ovárica derecha previo** al inicio del tratamiento oncológico.

### A) Antecedentes ginecológicos previos:

- Menarquia: 12 años. Fórmula menstrual: 2-3/28-30.
- Tratamiento con anticonceptivos durante 19 años (18-36).
- Fumadora.
- G1A1 (2006 inseminación) previo a trasplante de tejido ovárico
- Antecedentes familiares: tía materna cáncer mama BRCA 1 y 2 negativo.

### B) Antecedentes quirúrgicos: No

### C) Tratamiento oncológico:

Quimioterapia tras preservación de la corteza ovárica: 3 ciclos de Fluorouracil, epirrubicina y ciclofosfamida (FEC-100) y Docetaxel (taxotere-100) 3 ciclos (del 23/5/2006 al 6/9/2006) + 25 sesiones de Radioterapia local.

Durante el tratamiento con quimioterapia cese de función ovárica al 3º ciclo. No menstruación. FSH 36.4 mU/ml, AMH 0.8 ng/ml (agosto 2006)

#### D) Preservación de la corteza ovárica:

Extracción	Mayo 2006
Reimplante	Enero 2008

Se realizó la **extracción de corteza ovárica derecha** en mayo de 2006 por laparoscopia cuando la paciente tenía 36 años antes del inicio del tratamiento gonadotóxico.

**El reimplante** se produjo en 2008, mediante laparotomía, cuando la paciente tenía 38 años, **sobre la corteza ovárica izquierda**. Se realizó en un solo tiempo.

#### E) Evolución hormonal

Post reimplante:				
FECHA	1/8/2006	06/08/2007	27/11/2007	15/3/2008
FASE DEL CICLO	Durante la quimioterapia	Post-quimioterapia	Post-quimioterapia	Post-trasplante
FSH mUI/ml	36.4	6.1	14.4	7,8
LH Mui/ml		3.4	4.1	
ESTROGENOS pg/ml		225	33	
HAM ng/ml	0.8ng/ml		0,18	

#### E) Variación de los ciclos menstruales:

La paciente presentaba menstruaciones regulares de duración 2-3 días cada 28 días. Al inicio de la quimioterapia dejó de menstruar y entró en amenorrea. Cuando terminó el tratamiento oncológico recuperó la función hormonal de una manera irregular a los 6 meses, on sequedad vaginal y dispareunia leve.

Tras el reimplante desaparece la sequedad vaginal y la dispareunia recuperando su función hormonal y desapareciendo toda la sintomatología relacionada con la privación hormonal.

#### F) Evaluación ecográfica de la función ovárica:

Se realiza análisis ecográfico 5 años y 7 años después del reimplante del tejido criopreservado del ovario derecho sobre la superficie de la corteza ovárica izquierda.

En el momento de la ecografía la paciente tenía 43 años y 45 años.

Se realizan ambos estudios ecográficos en fase folicular.

Reimplante	si	Edad
Estudio 1	5 años post-reimplante	43
Estudio 2	7 años post-reimplante	45

### Estudio a los 5 años post-reimplante

#### Ovario derecho caso 1:

OVARIO DERECHO	
Volumen cm3	2,55
Tamaño cm	2.65x1,4
Número de folículos	1
DOPPLER IP IR	0,95-0,57
Flujo sistólico cm/s	8,54
Flujo Diastólico cm/s	3,71
Cuerpo Luteo	no
Cortical mm	0,53

#### Estudio 1º del tamaño del ovario derecho caso 1:



Ilustración 44: Espesor de la cortical derecha 5.3 mm

Este es el ovario derecho, en el caso de esta paciente de donde se extrajo la corteza ovárica para criopreservar. Posteriormente los fragmentos de tejido ovárico derecho

fueron reimplantados sobre la médula y la corteza del ovario izquierdo. Esto demuestra las grandes diferencias entre ambos ovarios. El derecho al que se le realizó la extracción y el izquierdo al que se le implantó el tejido ovárico criopreservado.

### Estudio 1º de la vascularización ovario derecho caso 1:

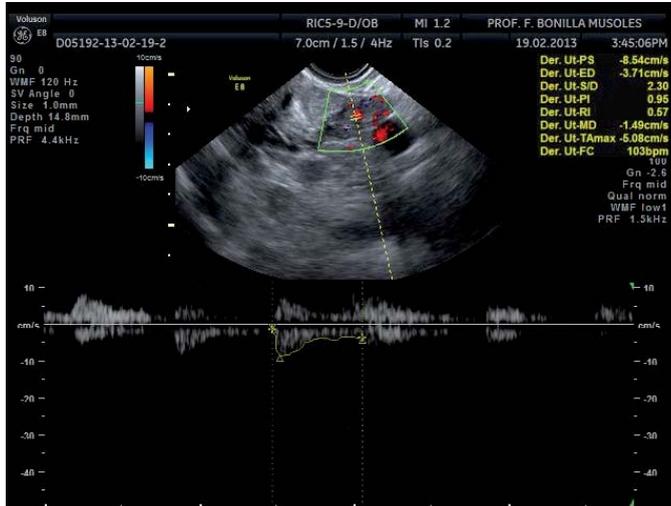


Ilustración 45: Vascularización doppler ovario derecho. IP: 0,95. IR: 0,57

### Estudio 1º Valoración volumétrica ovario derecho caso 1:

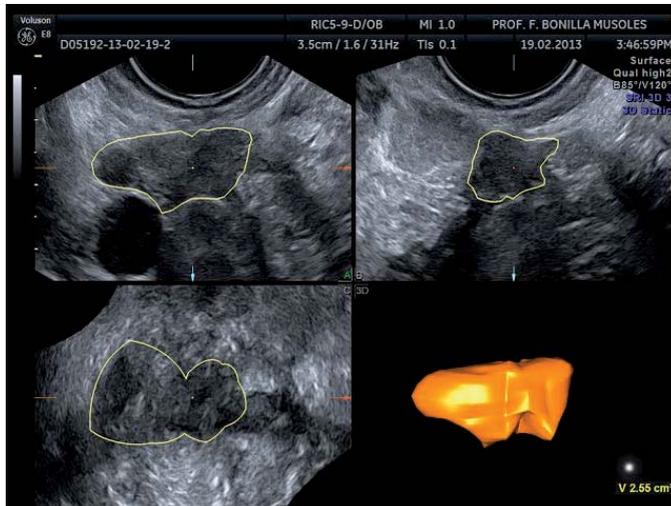


Ilustración 46: Volumen ovario derecho 2,55 cm³.

El modo VOCAL permite, a partir de los planos ortogonales, la reconstrucción del volumen, en este caso del ovario derecho remanente con un volumen de 2,55 cm<sup>3</sup>.

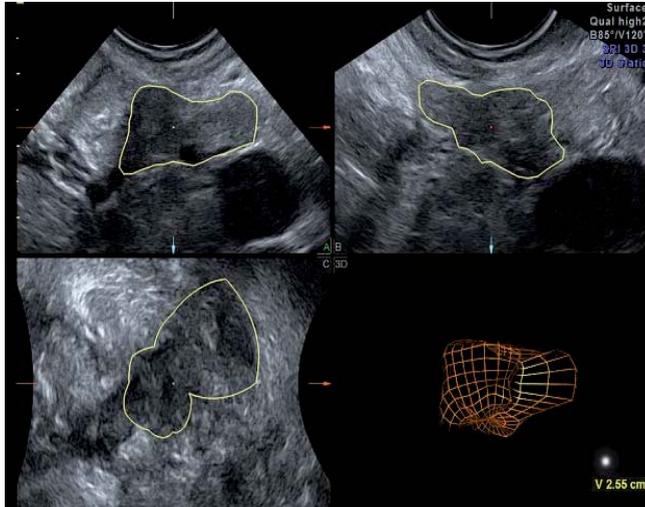


Ilustración 47: Volumen ovario derecho Modo malla.

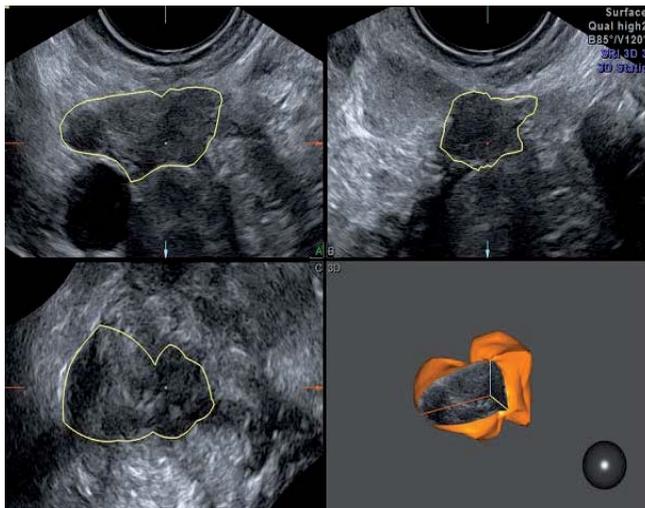


Ilustración 48: Volumen ovario derecho Modo nicho.

Con el modo nicho somos capaces de introducirnos en el ovario derecho para poder comprobar que sólo observamos un folículo próximo a la corteza ovárica.

### Ovario izquierdo: 5 años tras el reimplante

Ovario Izquierdo	
Volumen	11,72
Tamaño	4,45 x2,3
Número de folículos	5
DOPPLER IP IR	IP:0,86 IR:0,56
Folículo dominante 21 mm	21

Sobre su corteza y su médula se reimplantó todo el tejido criopreservado. Podemos comprobar como se objetivan folículos con una muy buena vascularización.

### Estudio 1º del tamaño del ovario izquierdo caso 1:



Ilustración 49: Tamaño ovario izquierdo 4,45 x 2,30 mm.

**Estudio 1º de la vascularización ovario izquierdo caso 1:**

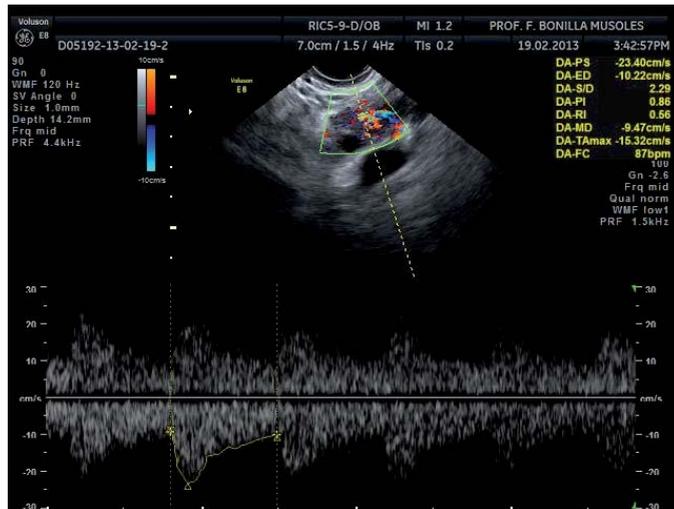


Ilustración 50: Vascularización Doppler izquierdo. IP: 0,86 IR: 0,5

**Estudio 1º valoración volumétrica ovario izquierdo caso 1:**

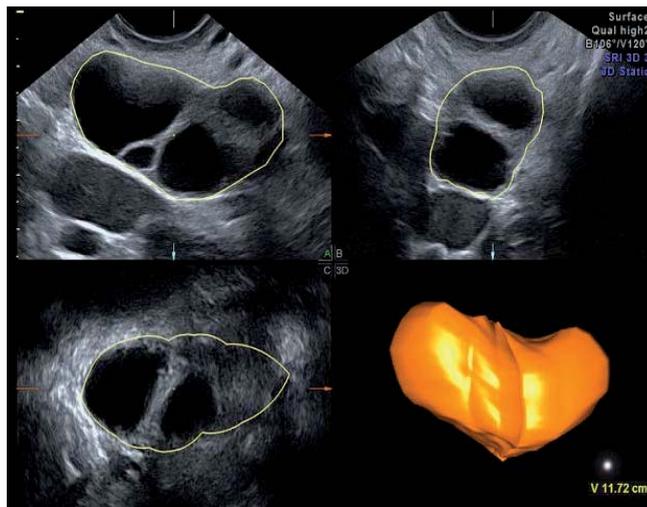


Ilustración 51: Modo AVC: Volumen ovario derecho 2,55 cm3.

Con en modo VOCAL somos capaces de comprender la riqueza funcional de este ovario. Apreciamos un volumen ovárico de 11,72 cm3.

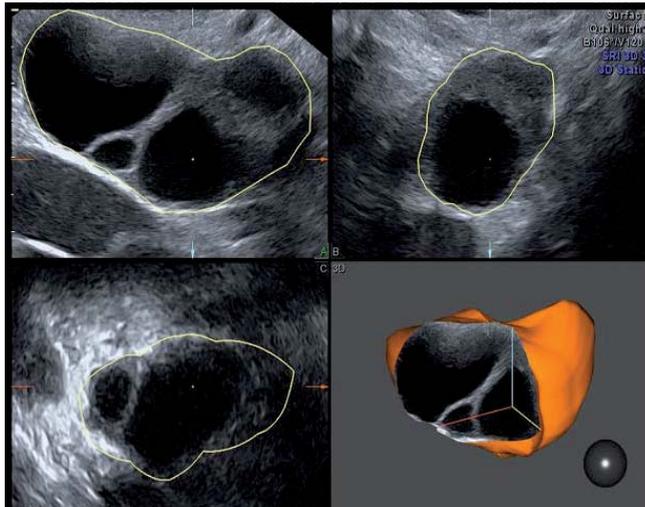


Ilustración 52: Volumen ovario izquierdo Modo nicho.

Utilizando el modo nicho, podemos introducirnos dentro del ovario izquierdo y comprobar la riqueza folicular en la cortical.



Ilustración 53: Modo HdLive: Reconstrucción del volumen del ovario izquierdo.

Utilizando la última tecnología ecográfica con el modo HdLive somos capaces de comprender que el ovario izquierdo que recibió los implantes presenta normalidad morfológica.

### Estudio 1º Recuento de Folículos antrales del ovario izquierdo caso 1:



Ilustración 54: Modo inverso: Recuento de 5 folículos antrales de ovario izquierdo.

Este modo transforma los componentes econegativos (líquidos) en ecopositivos, algo semejante a lo que hacían las técnicas ecográficas a comienzos del siglo pasado. Además, posee una ventaja, elimina el componente eco-positivo, en el presente caso el estroma ovárico. De esta forma, y como vemos sólo queda resaltados todos los folículos existentes. Puede verse su número exacto, forma y tamaño.

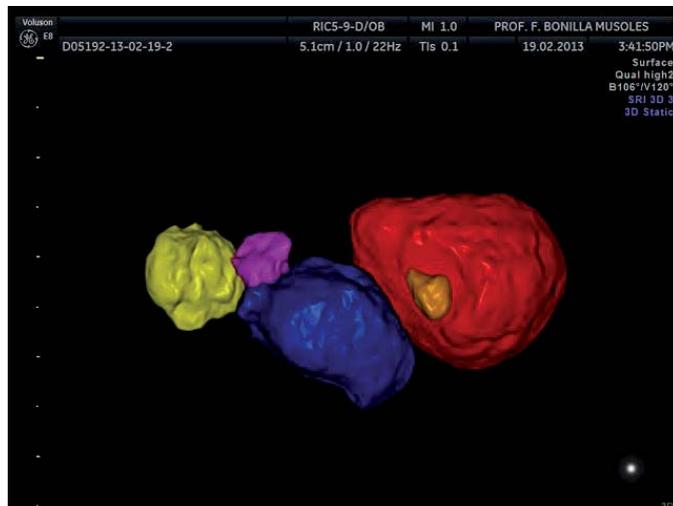


Ilustración 55: modo SonoAVC: Recuento de 5 folículos antrales de ovario izquierdo.

El modo SonoAVC, permite realizar un preciso recuento de folículos antrales. Clasificando cada folículo por el tamaño de su volumen y asignándole un color.

### Estudio morfología uterina y Endometrio caso 1:

Espesor endometrial mm	engrosada
Características	folicular
Art UTERINA DERECHA IP / IR	1,79-0,78
Art UTERINA IZQUIERDA IP / IR	1,91-0,81



Ilustración 56: Estudio morfología uterina Planos ortogonales vaginales 3D. Reconstrucción uterina 3D con corte mágico.

El corte mágico consiste en un modo ecográfico que permite “cortar” los límites de la estructura que se desea observar. En el presente caso vemos el útero íntegro al que hemos recortado al nivel de la serosa. De esta forma vemos el miometrio y el endometrio por separado.

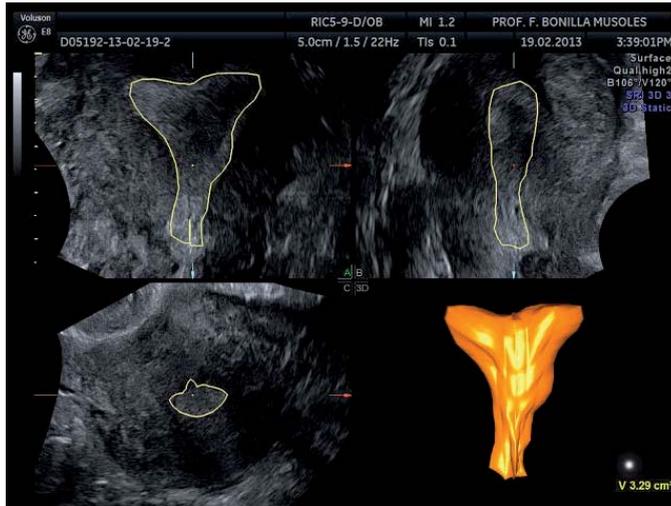


Ilustración 57: Cálculo del Volumen endometrial VOCAL.

Este modo delimita primeramente el volumen inmediatamente el software lo calcula. El valor aparece en la parte inferior derecha en cifras amarillas.

### Estudio 1º vascular de la morfología uterina y Endometrio caso 1:

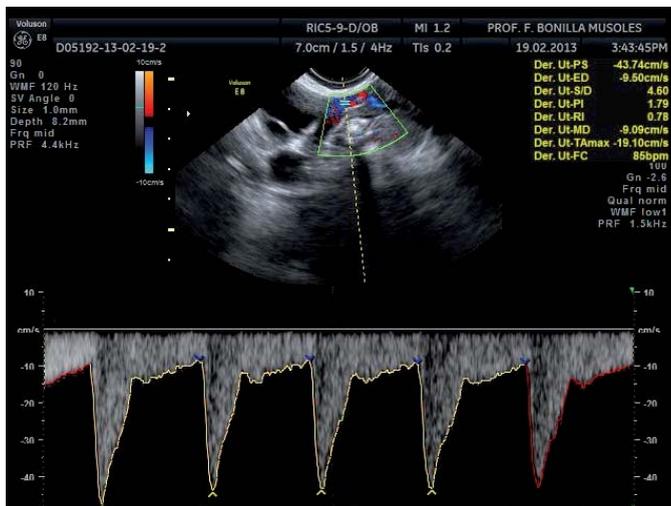


Ilustración 58: Doppler Arteria Uterina Izquierda. IP: 1,79. IR: 0,78

### Caso 1: estudio 7 años después del reimplante

Nuevo estudio ecográfico dos años, siete años tras el reimplante. La paciente todavía continuaba menstruando.

Ovario Izquierdo	
Volumen	5,36
Tamaño	2,3 x 1,8
Número de folículos	1

### Estudio 2º valoración volumétrica ovario izquierdo caso 1:

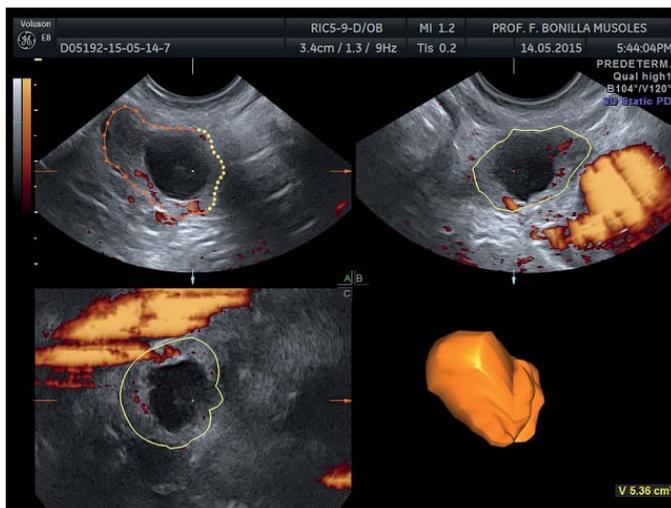


Ilustración 59: Modo Vocal: Volumen ovario derecho 5,36 cm<sup>3</sup>.

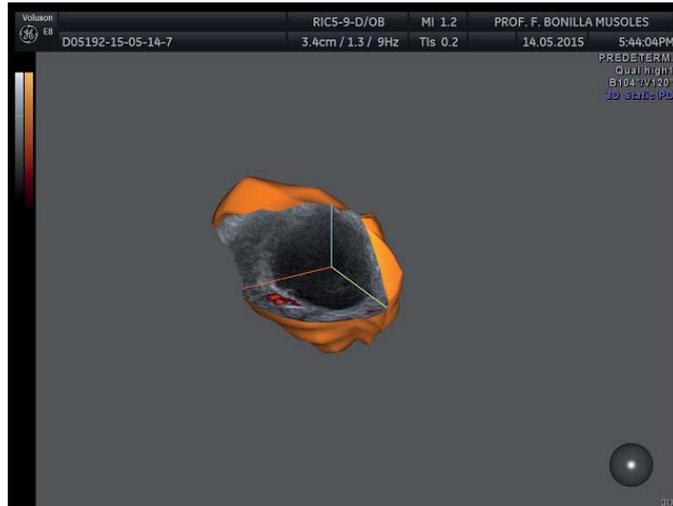


Ilustración 60: Volumen ovario izquierdo modo nicho.

### Análisis del caso 1

En el primer estudio realizado 5 años después del reimplante de tejido ovárico (extraído del ovario derecho antes de iniciar la quimioterapia) se contempla un ovario izquierdo (donde se realizó el reimplante) con una funcionalidad ovárica normal.

Ovario de 4,45 x 2,3 cm con un volumen de 11,72 cm<sup>3</sup>. Recuento de folículos antrales de 5.

El análisis ecográfico del endometrio, se correlaciona con el momento del ciclo ovárico, objetivándose un volumen endometrial de 3,29 cm<sup>3</sup>.

En el segundo estudio ecográfico, 7 años después del reimplante del tejido ovárico, continuamos viendo actividad ovárica con un folículo de 15 mm y una línea endometrial adecuada al momento del ciclo.

Trasplante enero 2008.

La paciente quedó gestante 335 días después del reimplante. Se vitrificaron ovocitos y se implantaron dos embriones. Se realizó cesárea en semana 34 con dos recién nacidos sanos.



## CASO 2

Paciente diagnosticada a los 34 años de carcinoma de mama in situ multifocal con micrometástasis ganglionares.

Se realizó mastectomía radical con vaciamiento ganglionar 8-9. Centinela negativo. Micrometástasis en un ganglio.

Se realizó extracción de parte de la corteza ovárica derecha previo al inicio del tratamiento oncológico.

### A) Antecedentes ginecológicos previos:

- Menarquia: 13 años. Fórmula menstrual: 2-3/28-30.
- Tratamiento con anticonceptivos durante 6 años (29-34).
- G1A1 (FIV previo a reimplante). Quiste endometriósico de 2 cm.

### B) Antecedentes quirúrgicos: Amigdalectomía.

### C) Tratamiento oncológico:

Quimioterapia de alta dosis, cada 15 días 8 ciclos de ciclofosfamida, adriamicina y paclitaxel. Sin tratamiento hormonal (no se pudieron realizar receptores hormonales).

La paciente se quedó sin menstruación a mitad de la quimioterapia, reapareciendo a los 6 meses después del fin de la quimioterapia.

### D) Reimplante de corteza ovárica:

Extracción	Septiembre 2004	34 años
Reimplante	Julio 2012	42 años

Se realizó la extracción de la corteza ovárica derecha en septiembre de 2004 cuando la paciente tenía 34 años antes del inicio del tratamiento gonadotóxico.

El reimplante de los fragmentos de corteza ovárica derecha criopreservada se realizó en 2012, cuando la paciente tenía 42 años, sobre la corteza ovárica derecha y también sobre la izquierda.

### E) Evolución hormonal

Post reimplante:							
FECHA	13/11/2012	24/1/2013	6/6/2013	27/2/14	7/5/14	2/5/2014	24/11/2014
FASE DEL CICLO	Post-reimplante						
FSH mUI/ml	2.8	13	12.3	15,8		10.1	14
LH Mui/ml	3.7	7.7	5.8		6,39	6.3	6.3
ESTROGENOS pg/ml	300	41	53.4	134,15	134,15	48	104
HAM ng/ml	0.07	0.2	<0.1				

### E) Variación de los ciclos menstruales:

La paciente presentaba menstruaciones regulares de duración 2-3 días cada 28 días. Al inicio de la quimioterapia dejó de menstruar y entró en amenorrea. Cuando terminó el tratamiento oncológico recuperó la función hormonal de una manera irregular. Con sequedad vaginal y dispareunia leve.

Tras el reimplante le desaparece la sequedad vaginal y la dispareunia recuperando su función hormonal normal como antes del inicio del tratamiento del cáncer de mama y desapareciendo toda la sintomatología relacionada con la alteración hormonal.

### F) Evaluación ecográfica:

Se realiza análisis ecográfico al primer año y a los cuatro años después del reimplante de la corteza ovárica derecha criopreservada sobre la superficie del ovario derecho remanente y sobre la corteza ovárica izquierda. En el primer estudio ecográfico la paciente tenía 43 años y en el segundo estudio ecográfico 46 años.

Reimplante	si	42 años
Estudio 1	6 meses post-reimplante	43 años
Estudio 2	4 años post-trasplante	46 años

**Ovario derecho caso 2:**

OVARIO DERECHO	
Volumen cm3	18,44
Tamaño	4,6 x 3,48
Número de folículos	1
Cuerpo Luteo	18,44 cm3
Cortical mm	3,4-4,1

**Estudio 1º de la vascularización del ovario derecho caso 2:**

Ilustración 61: Power Doppler ovario derecho. Se visualiza cuerpo lúteo.

Se realiza ecografía en fase secretora. Se objetiva la presencia de cuerpo lúteo.

Se puede observar el cuerpo lúteo en tres capas. Se ve claramente el centro eco negativo reticulado, a su alrededor una capa gris, la granulosa luteinizada y por fuera y con numerosos vasos formando el “anillo de fuego”.

Estudio 1º valoración volumétrica ovario derecho cuerpo lúteo caso 2:

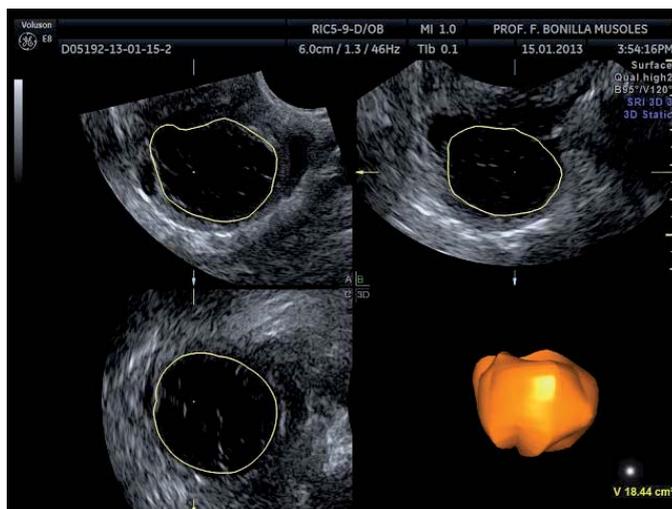


Ilustración 62: Calculo de volumen del cuerpo Luteo 18.44 cm3

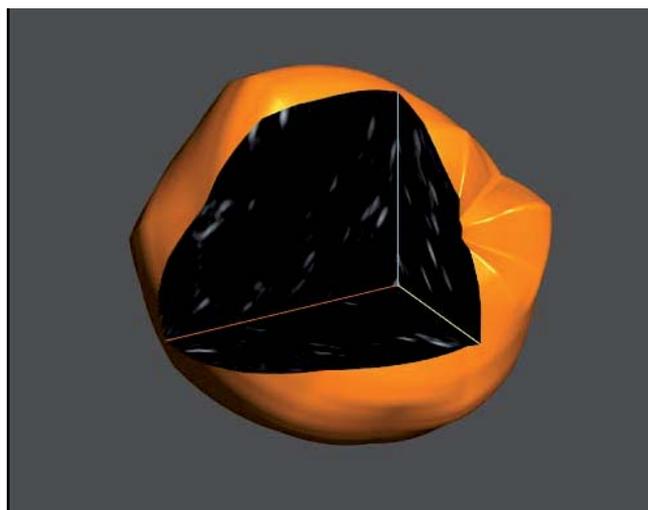


Ilustración 63: Modo nicho. Cuerpo lúteo en ovario derecho.

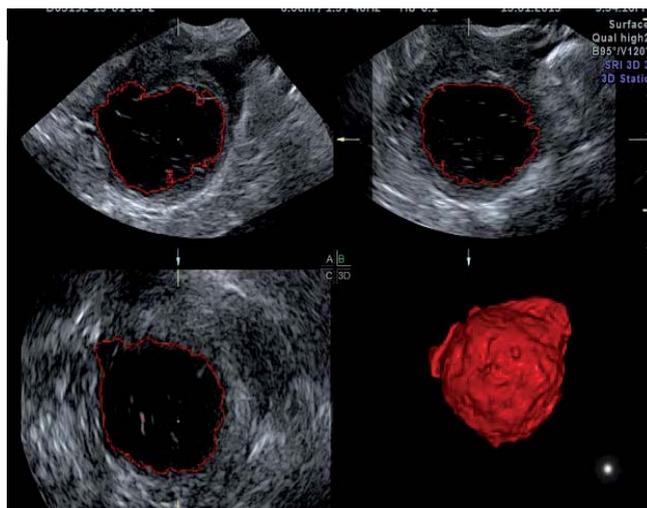


Ilustración 64: AVC: Cálculo automático del volumen del cuerpo lúteo.

#### Ovario izquierdo caso 2:

Ovario Izquierdo	
Volumen cm3	10,84
Tamaño cm	3,2 x1,2
Número de folículos	3
Cortical mm	3,9

**Estudio 1º de la vascularización ovario izquierdo caso 2:**

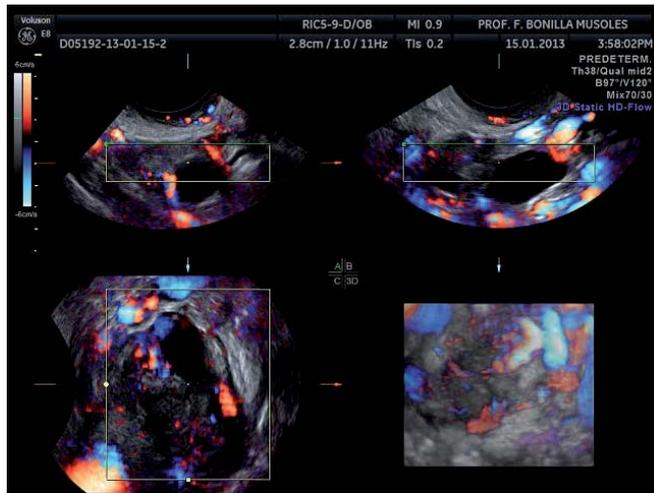


Ilustración 65: Vascularización volumétrica del ovario izquierdo.

**Estudio 1º valoración volumétrica ovario izquierdo caso 2:**

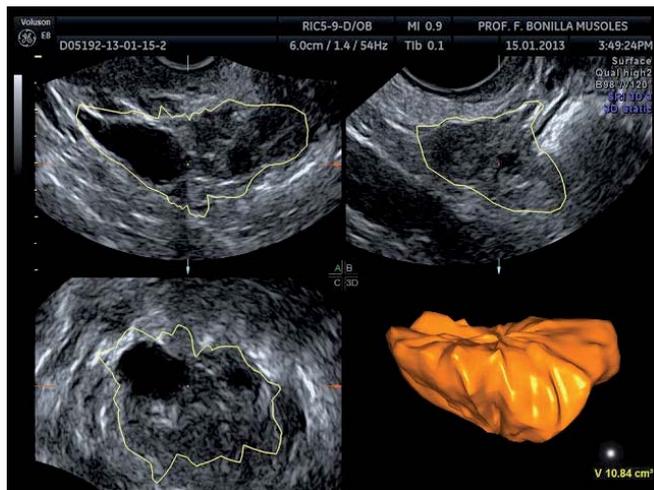


Ilustración 66: Modo Vocal: Volumen ovario izquierdo 10,84 cm<sup>3</sup>.

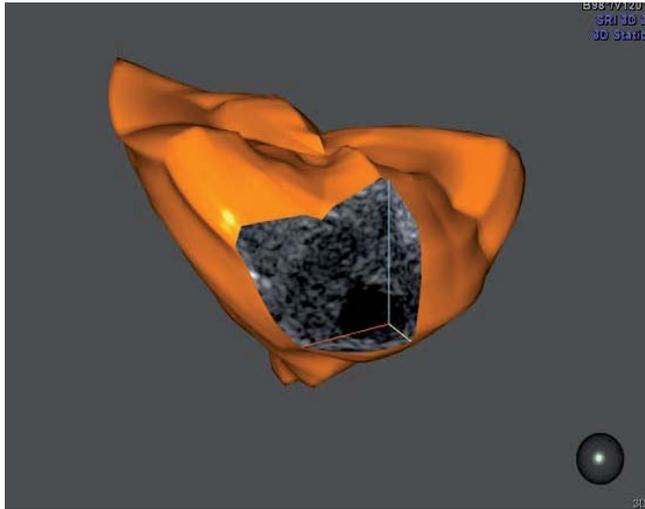


Ilustración 67: Vocal modo niche: Volumen ovario izquierdo.

### Estudio 1º Recuento de Folículos antrales del ovario izquierdo caso 2:

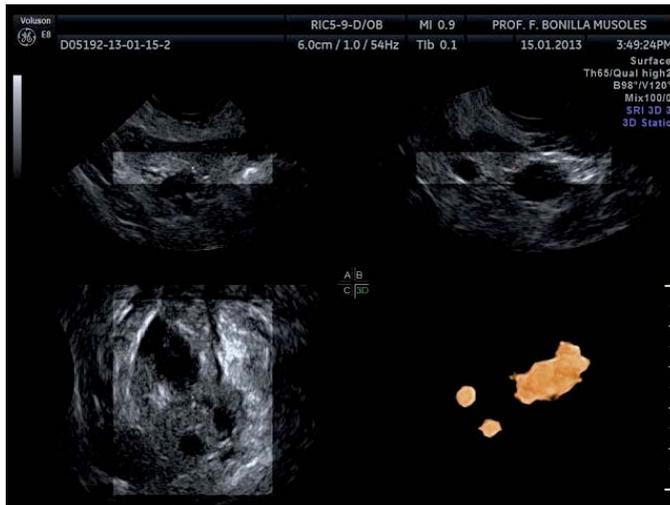


Ilustración 68: Modo inverso: Recuento de tres folículos antrales en el ovario izquierdo.

Con el modo inverso deja de visualizarse el parénquima ovárico y los folículos, ecogenegativos, pasan a verse positivos. Observamos 3 folículos antrales. Es muy interesante en la valoración del número y volumetría.

**Endometrio caso 2:**

Espesor endometrial mm	11,4
Características	Fase secretora



Ilustración 69: Espesor endometrial 11mm. Fase secretora.

El grosor endometrial de 11mm muestra una correlación correcta entre el desarrollo folicular y el grosor endometrial.

**Segundo estudio del caso 2:**

Se procede a monitorización ecográfica del ciclo ovárico con estudios en día 3 y 10 del ciclo.

Ovario Izquierdo	Día 3	Día 10
Volumen cm <sup>3</sup>	6,22	11,77
Tamaño cm	3,2 x 1,7	3,6 x 1,7
Número de folículos	3	3
Volumen folículos ováricos	0,33-0,18-0,03	0,75-0,34-0,01
DOPPLER IP IR	IP: 0,55-IR:0,42	
Indice de vascularización % (IV)	7,912	13,146
IF INDICE DE FLUJO (IF)	40,640	39,148
Indice Vascularización flujo (IVF)	3,215	5,146
Folículo dominante cm <sup>3</sup>	0,33 cm <sup>3</sup>	0,75 cm <sup>3</sup>

Endometrio	Día 3	Día 10
Espesor endometrial mm	4,4	7,1
Fase del ciclo	proliferativa	proliferativa

## Estudio 2º de la vascularización ovario izquierdo caso 2:

Día 3 del Ciclo

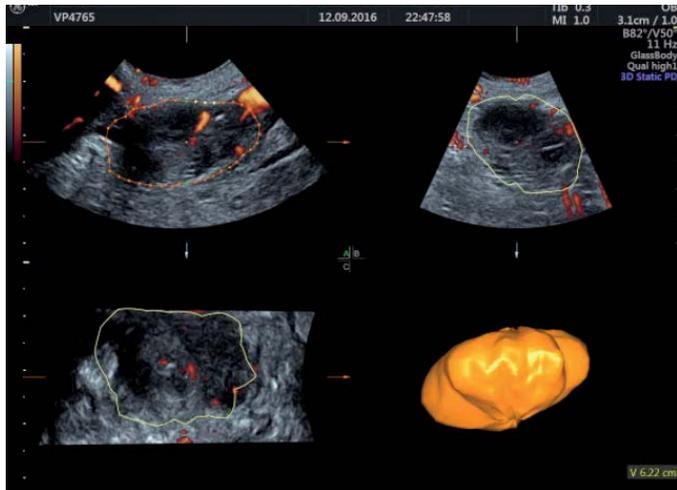


Ilustración 70: Angio Power Doppler 3D: Vascularización volumétrica del ovario izquierdo.

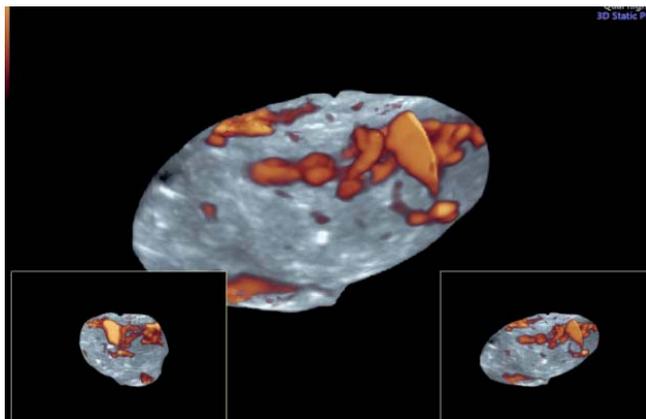


Ilustración 71: Vascularización volumétrica del ovario izquierdo. Modo Glass Body Angio power Doppler.

Indice de Vascularización (IV)	7,912
Indice de Flujo (IF)	40,640
Indice vascularización flujo (IVF)	3,215

**Estudio 2º Valoración volumétrica ovario izquierdo caso 2: día 3 del ciclo**

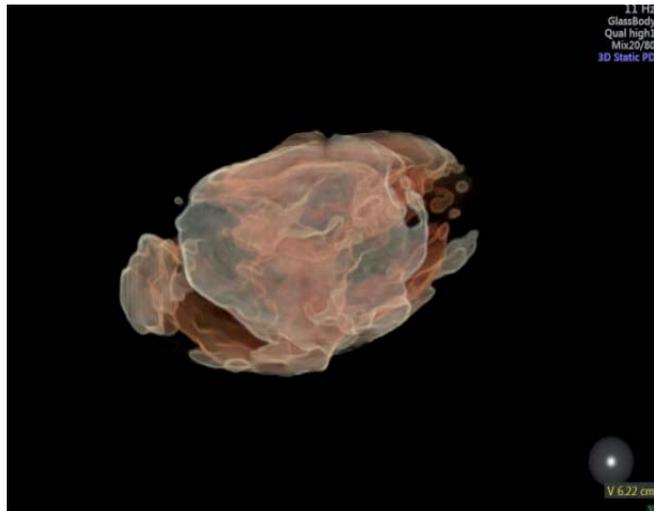


Ilustración 72: HDlive Silueta: Volumen ovario izquierdo.

**Estudio 2º Recuento de Folículos antrales del ovario izquierdo caso 2: día 3 del ciclo**

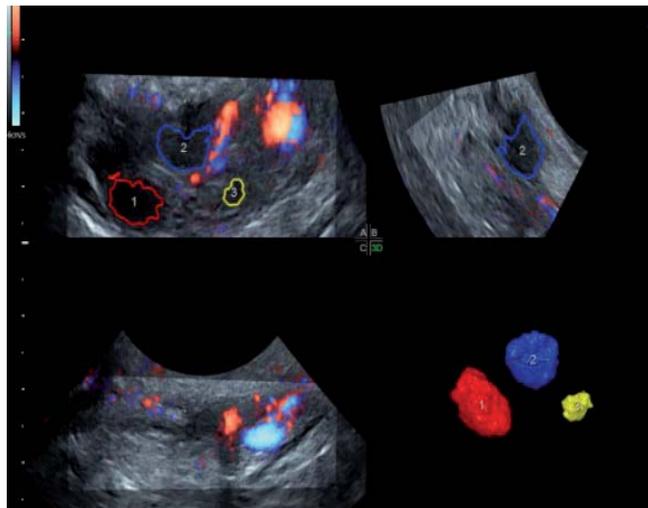


Ilustración 73: Modo SonoAVC: Recuento de 3 folículos antrales en el ovario izquierdo.

**Análisis volumétrico de los folículos antrales del ovario izquierdo:**

Nº folículo	d(V)	dx	dy	dz	Mean d	Volumen
1	8,6	11,7	10	5,9	9,2	0,33
2	6,9	8,5	7,6	5,8	7,3	0,18
3	3,9	5,6	4,0	2,9	4,2	0,03



Ilustración 74: HD Live Silueta: Folículo de mayor tamaño del ovario izquierdo.

**Estudio de la vascularización ovario izquierdo caso 2: Día 10 del Ciclo**

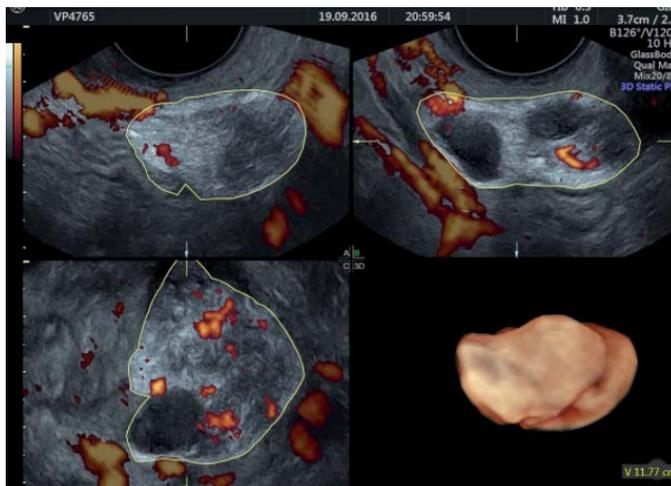


Ilustración 75: Angio Power Doppler 3D: Vascularización volumétrica del ovario izquierdo.

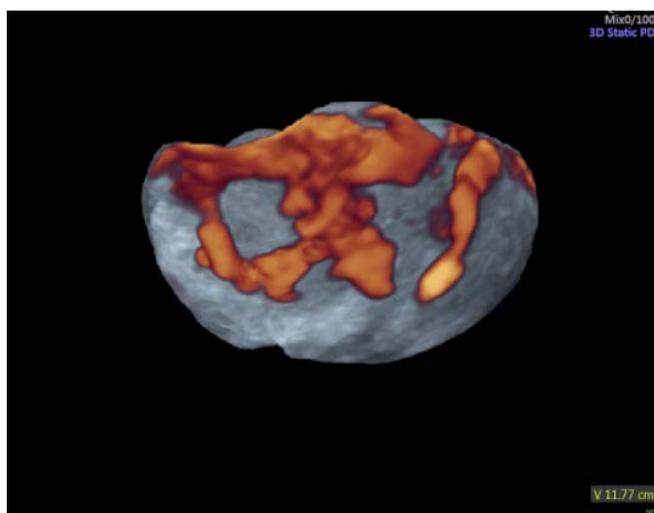


Ilustración 76: Vascularización volumétrica del ovario izquierdo. Modo Glass Body Angio power Doppler.

Indice de Vascularización (IV)	13,146
Indice de Flujo (IF)	39,148
Indice vascularización flujo (IVF)	5,146

**Valoración volumétrica ovario izquierdo caso 2: día 10 del ciclo**

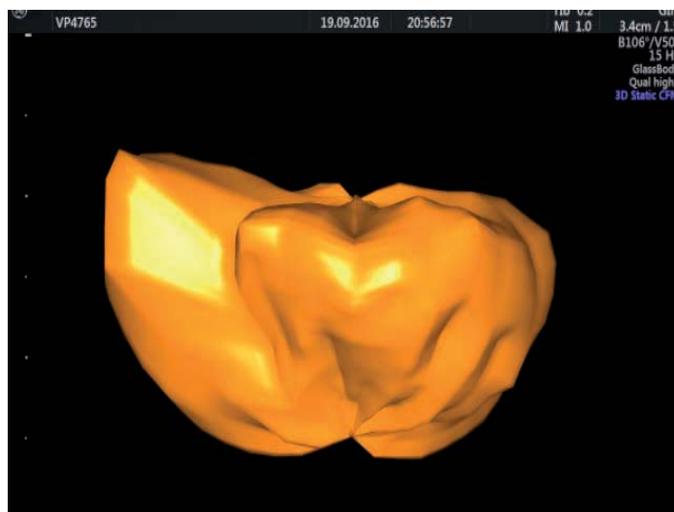


Ilustración 77: Modo Hdlive: Volumen ovario izquierdo 11,77 cm3.

## Recuento de Folículos antrales del ovario izquierdo caso 2: día 10 del ciclo

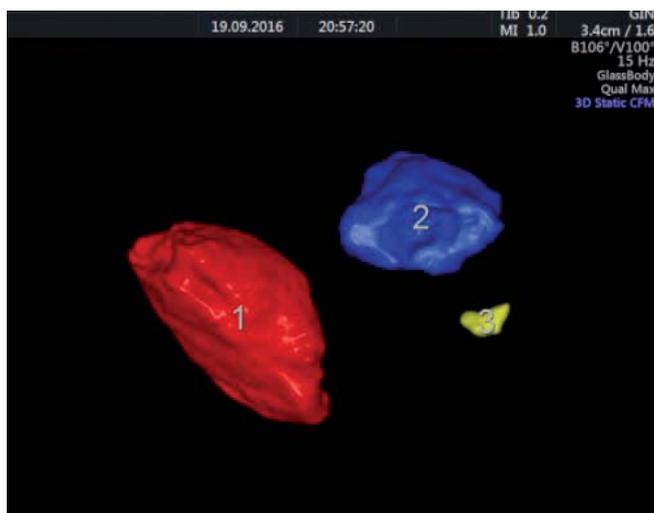


Ilustración 78: Modo SonoAVC: Recuento de 3 folículos antrales en el ovario izquierdo.

### Análisis volumétrico de los folículos antrales del ovario izquierdo:

Nº folículo	d(V)	dx	dy	dz	Mean d	Volumen
1	11,3	16,6	11,3	8,1	12	0,75
2	8,6	11,1	10,7	5,8	9,2	0,43
3	2,6	3,9	2,7	2,0	2,9	0,01

### Conclusiones del caso 2

En el primer estudio, 6 meses después del reimplante se contempla actividad en ambos ovarios. En el ovario derecho observamos un cuerpo lúteo funcional y en el izquierdo 3 folículos. A la paciente se le realizó reimplante de tejido sobre los dos ovarios.

En el segundo estudio ecográfico, cuando la paciente tiene 46 años, se le monitoriza un ciclo ovárico hallándose en día tres un RFA de tres folículos, siendo el mayor de 0,33 cm<sup>3</sup>. Se observa siete días después como el folículo dominante crece a 0,75 cm<sup>3</sup> como un ciclo funcional normal.

Los índices de vascularización incrementan conforme avanza el ciclo ovárico.

Indices	Día 3	Día 10
Indice de Vascularización (IV)	7,912	13,146
Indice de Flujo (IF)	40,640	39,148
Indice vascularización flujo (IVF)	3,215	5,146

El volumen ovárico en el segundo estudio incrementa de 6,22 cm<sup>3</sup> a 11,77 cm<sup>3</sup>.



## CASO 3

Paciente diagnosticada a los 26 años de linfoma de Hodgkin (octubre 2005). Recibió quimioterapia a altas dosis seguido de radioterapia.

Estudio de extensión negativo.

Se realizó extracción de la corteza ovárica derecha posterior al inicio del tratamiento oncológico.

### A) Antecedentes ginecológicos previos:

- Menarquia: 11 años. Fórmula menstrual: 4/30 G0
- No antecedentes familiares de cáncer.

### B) Antecedentes quirúrgicos: No

### C) Tratamiento oncológico:

Quimioterapia con altas dosis previa a la preservación de la corteza ovárica. **Recibió Bleomicina + Etopósido + Doxorrubicina + Ciclofosfamida + Vincristina + Procarbina + Prednisona (BEACOPP).**

### D) Preservación de la corteza ovárica:

Extracción	Noviembre 2005
Reimplante	Febrero 2012

Se realizó la extracción en octubre de 2005 por laparoscopia cuando la paciente tenía 26 años **después del inicio del tratamiento gonadotóxico.**

El **reimplante** de los fragmentos de corteza ovárica derecha criopreservada se produjo en 2012, mediante laparotomía, cuando la paciente tenía 32 años, **sobre la corteza ovárica izquierda.**

### E) Evolución hormonal

Post reimplante:			
FECHA	25/11/2005	14/2/2014	21/3/2014
FASE	Momento de la extracción	Pre-reimplante	Post-reimplante
FSH mUI/ml	8,1	199,9	172,8
LH Mui/ml	16,3	76,5	69,2
ESTROGENOS pg/ml	10	<10	35
HAM ng/ml	0,3	0,14	-

### E) Variación de los ciclos menstruales:

La paciente presentaba menstruaciones regulares antes del inicio de la quimioterapia. Al inicio de la quimioterapia la paciente dejó de menstruar y entró en amenorrea. Cuando terminó el tratamiento oncológico continuó con sintomatología menopáusica y con analítica hormonal menopáusica.

Tras el reimplante continua con la clínica de sequedad vaginal y dispareunia.

### F) Evaluación ecográfica de la función ovárica:

Se realiza análisis ecográfico después del reimplante. La corteza fue preservada después del inicio de la quimioterapia. Se describen los ovarios después del reimplante.

Se realiza ecografía en fase folicular.

Reimplante	Si	Edad
Estudio 1	9 meses post-reimplante	32

**Ovario derecho caso 3:**

OVARIO DERECHO	
Volumen cm3	1,46
Tamaño cm	2,3 x 0,98
Número de folículos	0
Volumen folículos ováricos	0
DOPPLER IP IR	2,02-0,96
DOPPLER PATRÓN	Diástole 0
Cuerpo Luteo	no
Cortical mm	0,21

**Valoración volumétrica ovario derecho caso 3:**

Ilustración 79: Volumen ovario derecho 1,46 cm3.

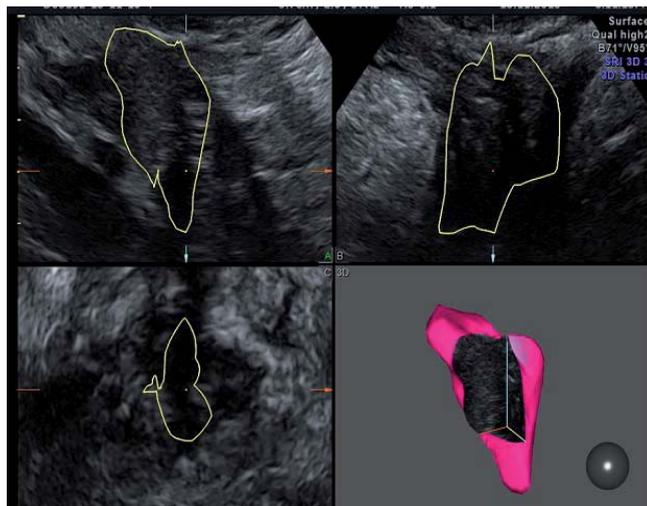


Ilustración 80: Volumen ovario derecho Modo nicho.

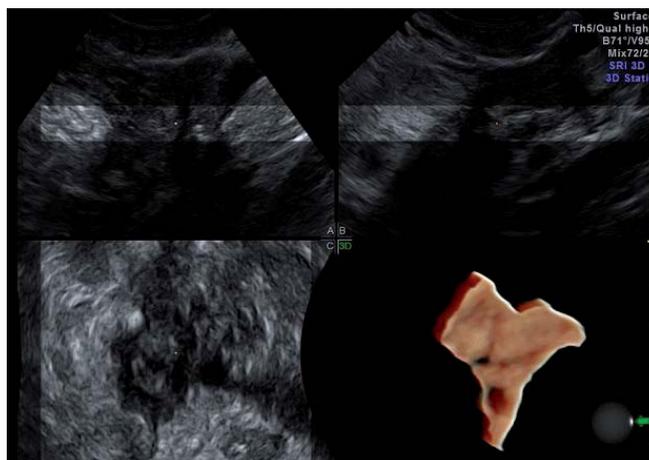


Ilustración 81: Hd Live: Reconstrucción volumétrica del ovario derecho.

**Ovario izquierdo: después del reimplante de corteza ovárica:**

La preservación de la corteza se realizó después del inicio de tratamiento quimioterápico lo que podría explicar la baja funcionalidad del ovario izquierdo post-reimplante.

Ovario Izquierdo	
Volumen cm3	1,22
Tamaño cm	1,63 x 0,93
Número de folículos	1
Volumen folículos ováricos cm3	0,26
DOPPLER IP IR	IP:1,71 IR:1
DOPPLER PATRÓN	Diástole cero
Cuerpo Luteo	no
Cortical mm	3,2

**Estudio del tamaño del ovario izquierdo caso 3:**

Ilustración 82: Tamaño ovario izquierdo 1,96 x 1,28mm.

### Estudio de la vascularización ovario derecho caso 3:

#### Valoración volumétrica ovario izquierdo caso 3:

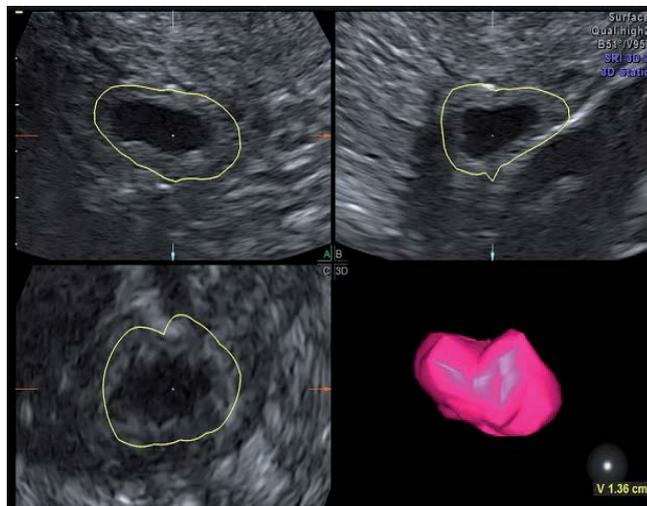


Ilustración 83: Modo SonoAVC: Volumen ovario derecho 1,36 cm3.

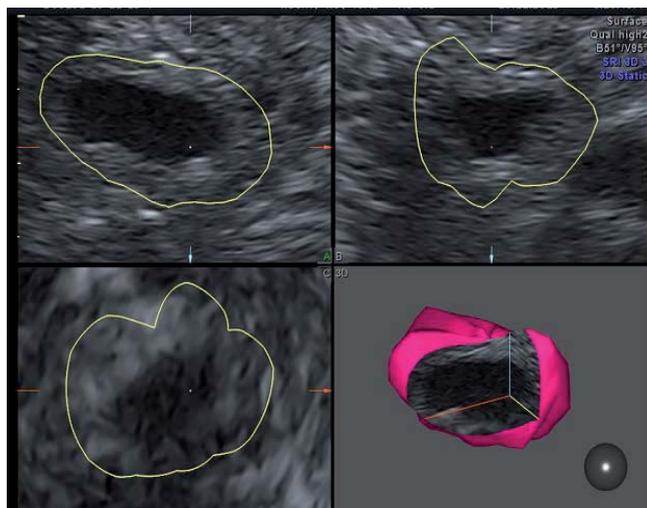


Ilustración 84: Volumen ovario izquierdo Modo nicho.



Ilustración 85: Modo HdLive: Reconstrucción del volumen del ovario izquierdo.

**Recuento de Folículos antrales del ovario izquierdo:**

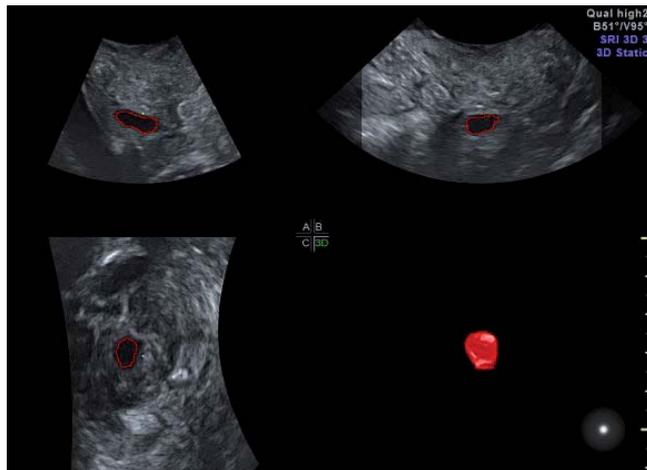


Ilustración 86: Recuento de folículos antrales de ovario izquierdo 1 de 0,26 cm3.

**Estudio morfología uterina y Endometrio:**

Espesor endometrial mm	Fina homogénea 2,3 mm
características	homogénea

### **Análisis del estudio del caso 3**

Sólo se observa un folículo en el ovario izquierdo que recibió el reimplante.

El ovario izquierdo tiene un volumen de 1,36 cm<sup>3</sup> y se puede observar un folículo con un volumen de 0,26 cm<sup>3</sup>

Mientras que en el derecho el volumen es de 1,46 cm<sup>3</sup> y no se visualiza ningún folículo.

## CASO 4

Paciente diagnosticada a los 32 años de carcinoma de mama ductal infiltrante en mama izquierda (mayo 2006).

Se realizó cuadrantectomía con vaciamiento ganglionar (3 ganglio afecto de 8), seguido de 25 sesiones de radioterapia.

Estadaje: pT1N3/8 M0.

Características de tumor:

- Receptores hormonales negativos (RP y RE).
- Her2 positivo (Score 3+). Sobreexpresión inmunohistoquímica positiva.
- Estudio de extensión negativo.
- **Extracción de la corteza ovárica derecha previo** al inicio del tratamiento oncológico.

***Recaída en mayo 2014 con metástasis en adenopatía supraclavicular. Por este motivo la paciente no recibió el reimplante.***

### **A) Antecedentes ginecológicos previos:**

- Menarquia: 12 años. Fórmula menstrual: 4/24. G0
- Si antecedentes familiares de cáncer: Padre neoplasia de pulmón. Abuelo materno neoplasia de próstata. Abuelo paterno: neoplasia de estómago.

### **B) Antecedentes quirúrgicos: No**

### **C) Tratamiento oncológico:**

La paciente recibió Adriamicina y Ciclofosfamida 4 ciclos seguida de plaquitaxel junto con trastuzumab. Después continuó con el trastuzumab hasta completar el año.

Durante el tratamiento con quimioterapia cesó la función ovárica.

La paciente estaba en estudio para reimplante de corteza ovárica cuando se detectó adenopatía supraclavicular.

Tras la recaída se inició línea de tratamiento con taxotere-pertuzumab-herceptin.

#### D) Preservación de la corteza ovárica:

Extracción	mayo 2006
Reimplante	no

Se realizó la extracción de corteza ovárica en mayo de 2006 por laparoscopia cuando la paciente tenía 31 años antes del inicio del tratamiento gonadotóxico.

#### E) Evolución hormonal

- **FSH 0,3 mU/ml, AMH 0.3 ng/ml (junio 2006)**
- **FUR: 2/6/2006**

Post reimplante:						
<b>FECHA</b>	8/6/2006	15/2/2011	31/1/2013	22/10/2014	29/4/2015	13/7/2016
<b>FASE DEL CICLO</b>	3º día	Post-QT	Post-QT	Post-recidiva	Post-recidiva	Post-recidiva
<b>FSH mUI/ml</b>	0,3	29,8	52,6	172,4	177,4	81,8
<b>LH mUI/ml</b>	3,2	14,3	55,9	51,5	60,8	54,6
<b>Estradiol pg/ml</b>	17		154,6	<12	<25	135,2
<b>HAM ng/ml</b>	0,3					

#### E) Variación de los ciclos menstruales:

La paciente presentaba menstruaciones regulares de duración 2-3 días cada 24 días. Al inicio de la quimioterapia la paciente dejó de menstruar y entró en amenorrea. Cuando terminó el tratamiento oncológico la paciente recuperó la función hormonal de una manera irregular. Con sequedad vaginal y dispareunia leve.

#### F) Evaluación ecográfica de la función ovárica:

Se realiza análisis ecográfico antes del reimplante de la corteza ovárica. En el momento de la ecografía la paciente tenía 39 años, es decir, 8 años después del diagnóstico del cáncer de mama. En el momento del estudio todavía no había recidivado el tumor y estaba esperando a la realización del reimplante de corteza ovárica.

Se realiza ecografía en fase folicular.

Reimplante	No
Estudio 1	Pre-trasplante

**Ovario derecho:**

OVARIO DERECHO	
Volumen cm3	0,31
Tamaño cm	1,63 x 1,3
Número de folículos	0
DOPPLER IP IR	1,24-0,91
DOPPLER PATRÓN	Diástole 0
Cuerpo Luteo	no
Cortical mm	2

**Estudio de la vascularización ovario derecho caso 4:**

Ilustración 87: Vascularización Doppler ovario derecho. IP: 1,24. IR: 0,91

Valoración volumétrica ovario derecho caso 4:

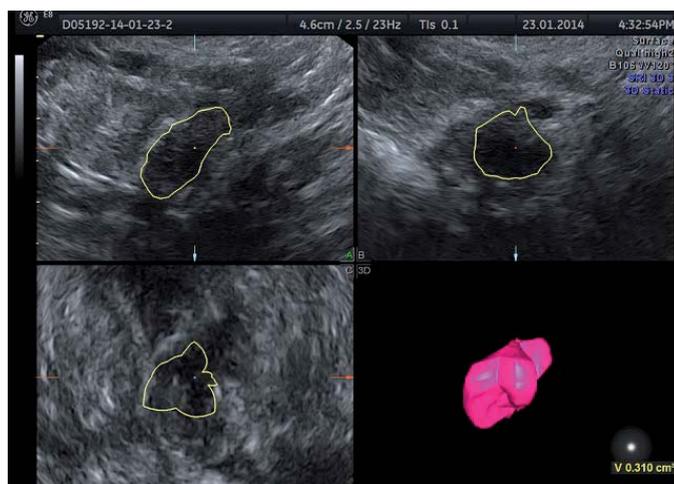


Ilustración 88: Volumen ovario derecho 0,31 cm3.

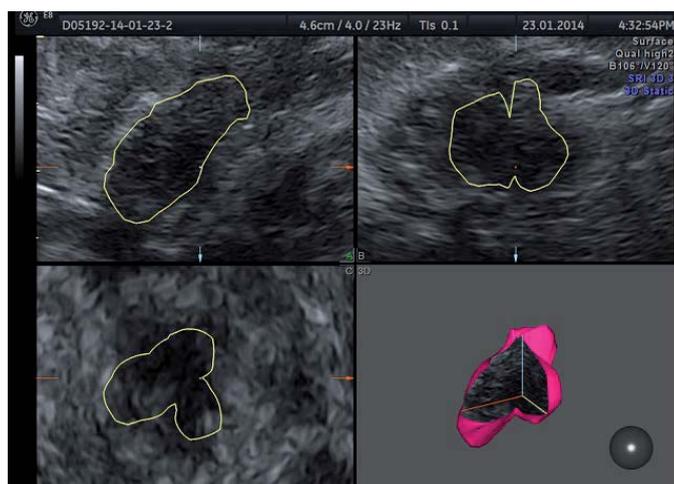


Ilustración 89: Volumen ovario derecho Modo nicho.

## Ovario izquierdo caso 4: Estudio antes del reimplante de corteza ovárica

Ovario Izquierdo	
Volumen cm3	2,2
Tamaño cm	2,4 x 1,7
Número de folículos	2
Volumen folículos ováricos	0,01-0,01
DOPPLER IP IR	1,04-0,61
Cuerpo Luteo	No
Cortical mm	3,2

## Estudio de la vascularización ovario izquierdo caso 4:



Ilustración 90: Vascularización Doppler izquierdo. IP: 1,04 IR: 0,61

Valoración volumétrica ovario izquierdo caso 4:



Ilustración 91: Modo SonoAVC: Volumen ovario derecho 2,20 cm3.



Ilustración 92: Reconstrucción del volumen del ovario izquierdo modo nicho

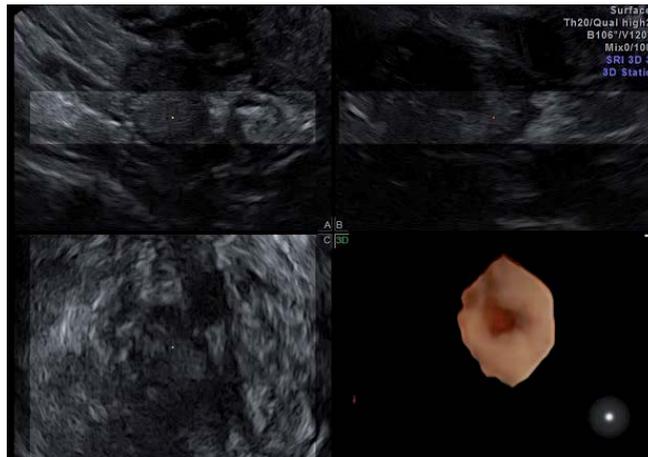


Ilustración 93: Modo HdLive: Reconstrucción del volumen del ovario izquierdo.

#### Recuento de Folículos antrales del ovario izquierdo caso 4:

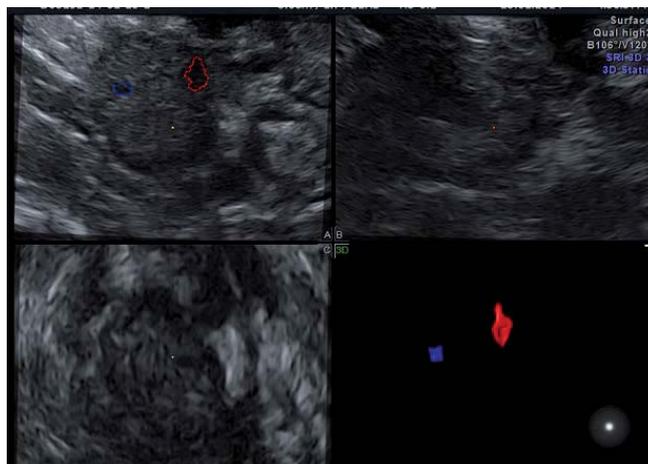


Ilustración 94: Recuento de 2 folículos antrales en el ovario izquierdo.

#### Estudio morfología uterina y Endometrio:

Espesor endometrial mm	3,7
Medidas uterinas	8 x 3,6 x 0,3 cm
Art UTERINA DERECHA IP / IR	1,79-0,78
Art UTERINA IZQUIERDA IP / IR	1,91-0,81

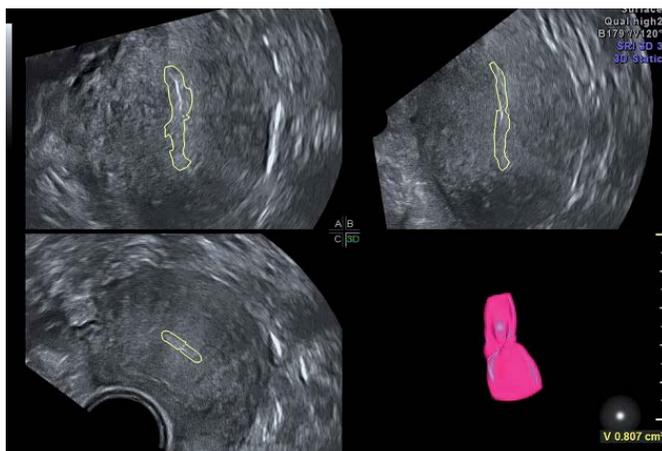


Ilustración 95: Cálculo del Volumen endometrial 0,80 cm3.

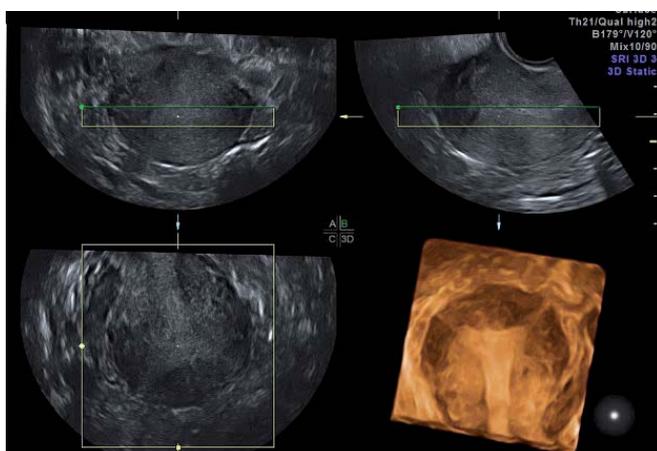


Ilustración 96: Reconstrucción uterina.

#### Análisis del estudio del caso 4

Se le preservó la corteza ovárica antes del tratamiento oncológico. Se realizó un estudio completo de la función ovárica antes del trasplante.

Antes del trasplante se diagnosticó una recidiva con metástasis supraclavicular izquierda por lo que no se realizó el reimplante. Finaliza el estudio.

En el estudio ecográfico se puede observar ambos ovarios con escasa función ovárica. El ovario izquierdo tiene un volumen de 2,2 cm<sup>3</sup> con sólo dos folículos. Mientras que en el derecho el volumen es de 0,310 cm<sup>3</sup> y no se visualiza ninguno.

## CASO 5

Paciente diagnosticada a los 32 años de carcinoma ductal infiltrante de mama derecha grado I (diciembre 2007).

Se realizó cuadrantectomía con vaciamiento ganglionar, seguido de radioterapia.

Estadaje: pT1bN0M0.

Características de tumor:

- Carcinoma ductal infiltrante de mama grado I (1.2 x 1 cm) bordes libres.
- Receptores hormonales positivos (RP y RE). Her2 negativo. Ki-67: 14%.
- Estudio de extensión negativo.
- Se realizó **extracción de la corteza ovárica derecha previo** al inicio del tratamiento oncológico.

### A) Antecedentes ginecológicos previos:

- Menarquia: 10 años. Fórmula menstrual: 4/28. Fumadora.
- G1A1 (FIV pre-trasplante).
- No antecedentes familiares de cáncer.

### B) Antecedentes quirúrgicos: No

### C) Tratamiento oncológico:

Quimioterapia tras preservación de la corteza ovárica: 6 ciclos de Fluorouracil 500 mg/m<sup>2</sup>, epirubicina 90 mg/m<sup>2</sup> y ciclofosfamida 500mg.

Posteriormente recibió radioterapia adyuvante 25 sesiones.

Tratamiento hormonal con zoladex (goserelina) junto con tamoxifeno dos años y posteriormente tamoxifeno durante 3 años.

Durante el tratamiento con quimioterapia cese de función ovárica al 3º ciclo. No menstruación hasta el fin del tratamiento del zoladex.

#### D) Preservación de la corteza ovárica:

Extracción	Enero 2008
Reimplante	Noviembre 2014

Se realizó la extracción de corteza ovárica en enero de 2008 por laparoscopia cuando la paciente tenía 33 años antes del inicio del tratamiento gonadotóxico.

El reimplante (fragmentos de corteza ovárica derecha) se produjo en 2014, mediante laparoscopia, cuando la paciente tenía 38 años, sobre la corteza ovárica izquierda. Reimplante en un solo tiempo.

#### E) Evolución hormonal

##### Pretratamiento:

- **FSH 7,6 mU/ml, AMH 3.5 ng/ml (enero 2008)**

Post reimplante:				
FECHA	15/1/2008	6/5/2014	23/6/2014	18/1/2015
FASE DEL CICLO	Pre-quimioterapia	Pre-trasplante	Pre-trasplante	Post-trasplante
FSH mUI/ml	7,6	2,9	13	6
LH Mui/ml	3,4	11,8	7,2	4
ESTROGENOS pg/ml	254	365,7	44	65
HAM ng/ml	3,5	0,5		

#### E) Variación de los ciclos menstruales:

Presentaba menstruaciones regulares de duración 4 días cada 28 días.

Al inicio de la quimioterapia la paciente dejó de menstruar y entró en amenorrea. Posteriormente se reiniciaron las menstruaciones y se administró zoladex. Nueva amenorrea. Cuando dejó el zoladex se reiniciaron las menstruaciones.

#### F) Evaluación ecográfica de la función ovárica:

Se realiza análisis ecográfico **antes y después** del reimplante de la corteza ovárica derecha sobre la superficie de la corteza ovárica izquierda.

En el momento del primer estudio ecográfico la paciente tenía 39 años, es decir, 6 años después del diagnóstico del cáncer.

El segundo análisis ecográfico se realiza después del reimplante de la corteza ovárica.

Reimplante	Si	Edad
Estudio 1	6 meses Pre-trasplante	39
Estudio 2	3 mes Post-trasplante	40

#### Ovario derecho: estudio antes del reimplante

OVARIO DERECHO	
Volumen cm <sup>3</sup>	1,94
Tamaño cm	24,5 x 12,6
Número de folículos	1
DOPPLER IP IR	0,8-0,58
Índice de vascularización (IV)	0,21
Índice de flujo (IF)	25,048
Índice de Vascularización flujo (IVF)	0,053
Cuerpo Luteo	No
Cortical mm	3,3

### Estudio de la vascularización ovario derecho caso 5: antes del reimplante

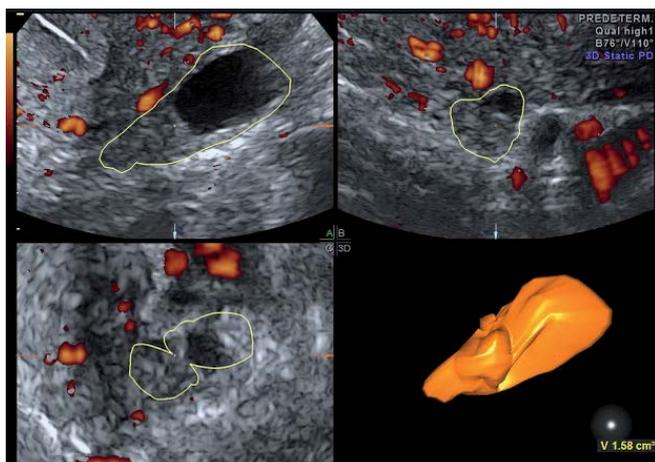
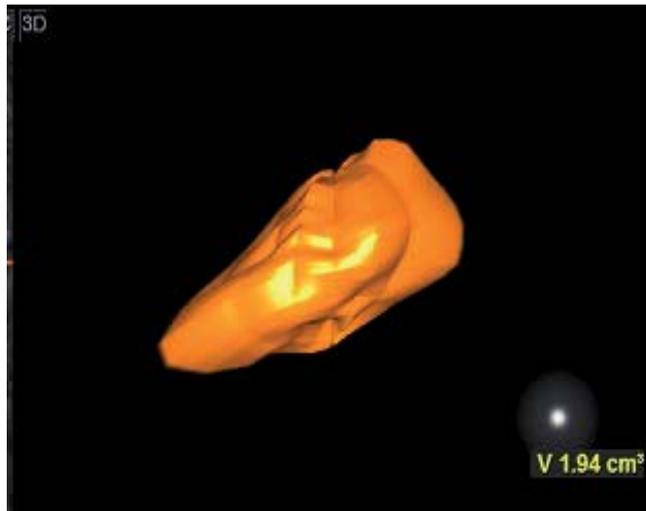


Ilustración 97: Vocal + Power Doppler: Análisis vascularización ovario derecho. Índice de vascularización:

Índice de Vascularización (IV)	0,210
Índice de Flujo (IF)	25,048
Índice vascularización flujo (IVF)	0,053

**Valoración volumétrica ovario derecho caso 5:**Ilustración 98: Modo Vocal: Volumen ovario derecho de 1,94cm<sup>3</sup>.**Ovario izquierdo: 6 meses antes del reimplante de corteza ovárica.**

Ovario Izquierdo	
Volumen	15,02
Tamaño	33,9 x 25,6
Número de folículos	4
DOPPLER IP IR	0,98-0,58
Indice de vascularización % (IV)	14,445
IF INDICE DE FLUJO (IF)	33,777
Indice Vascularización flujo (IVF)	4,882
Cuerpo Luteo	no
Cortical mm	6,3

### Estudio del tamaño del ovario izquierdo caso 5: antes del reimplante



Ilustración 99: Tamaño ovario izquierdo 3,39 X 2,56 mm.

### Estudio de la vascularización ovario izquierdo caso 6: antes del reimplante

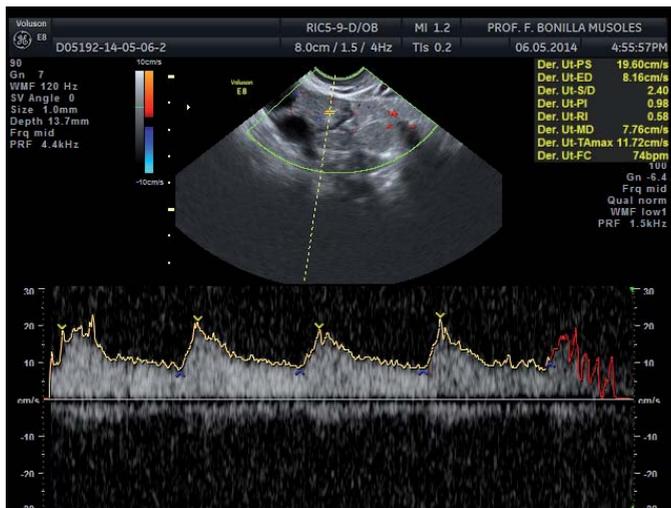


Ilustración 100: Vascularización Doppler izquierdo. IP: 0,98 IR: 58.

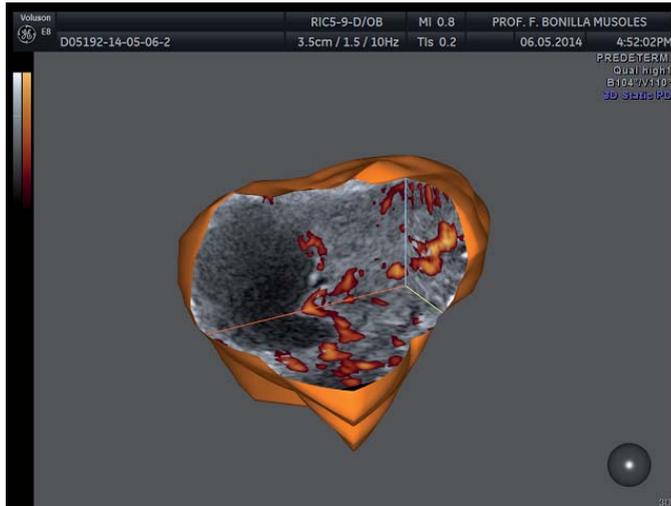


Ilustración 101: Vocal + Power Doppler: Análisis de la vascularización del ovario izquierdo mediante reconstrucción volumétrica. Modo nicho.

Indice de Vascularización (IV)	14,445
Indice de Flujo (IF)	33,777
Indice vascularización flujo (IVF)	4,882

#### Valoración volumétrica ovario izquierdo caso 5: antes del reimplante

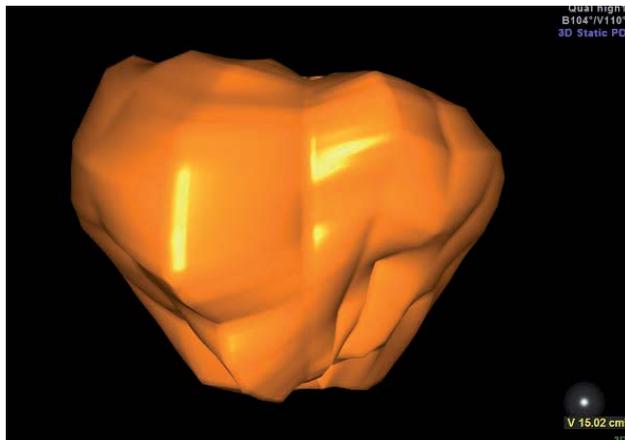


Ilustración 102: Modo Vocal: Volumen ovario izquierdo 15,02 cm<sup>3</sup>.

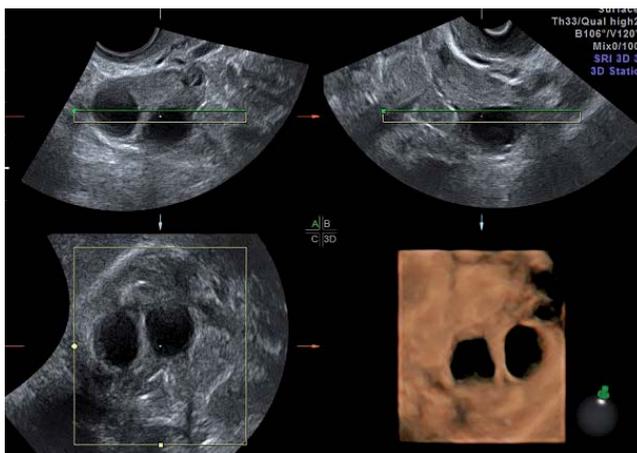


Ilustración 103: Modo HdLive: Ovario izquierdo.

### Recuento de Folículos antrales del ovario izquierdo caso 5: antes del reimplante

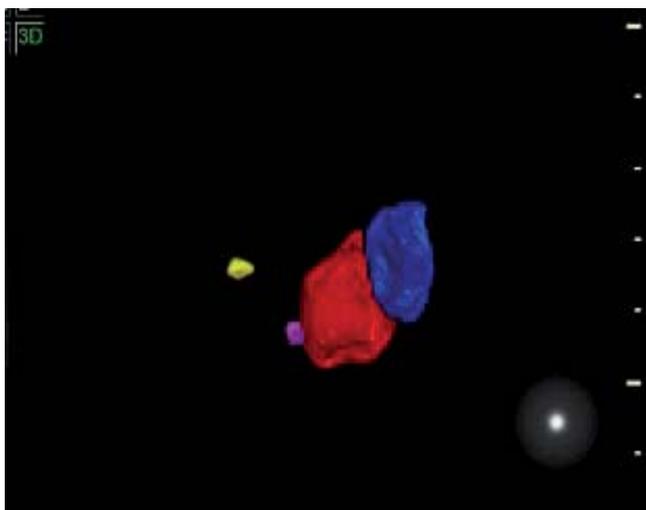


Ilustración 104: Modo SonoAVC: Recuento de 4 folículos antrales en el ovario izquierdo.

**Estudio morfología uterina y Endometrio: antes del reimplante**

Espesor endometrial mm	10,3
características	trilaminar
Medidas	6,3 x 5 x 3,6
Volumen endometrial cm3	4,16

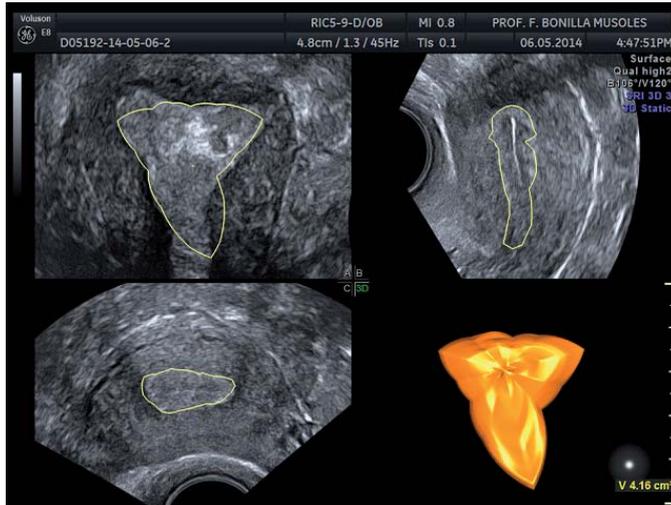


Ilustración 105: Cálculo del Volumen endometrial 4,16 cm3.

### Caso 5: estudio post-reimplante

Se realizó un estudio ecográfico 3 meses después del reimplante cuando la paciente tenía 40 años.

#### Ovario derecho:

OVARIO DERECHO	
Volumen cm3	0,57
Tamaño cm	1,7 x 0,77
Número de folículos	0
Cuerpo Luteo	No

#### Valoración volumétrica ovario derecho caso 5:



Ilustración 106: Modo Vocal: Volumen ovario derecho de 0,565 cm3.

**Ovario izquierdo: 3 meses después del reimplante de corteza ovárica**

Ovario Izquierdo	
Volumen cm3	16,03
Tamaño cm	4 x 2,49
Número de folículos	8
Volumen folículos ováricos	0,04-0,03-0,02-0,02 0,02-0,01-0,01-0,01
DOPPLER IP IR	0,91 – 0,57
Indice de vascularización % (IV)	17,258
IF INDICE DE FLUJO (IF)	49,280
Indice Vascularización flujo (IVF)	8,505
Cuerpo Luteo	si
Cortical mm	6,3

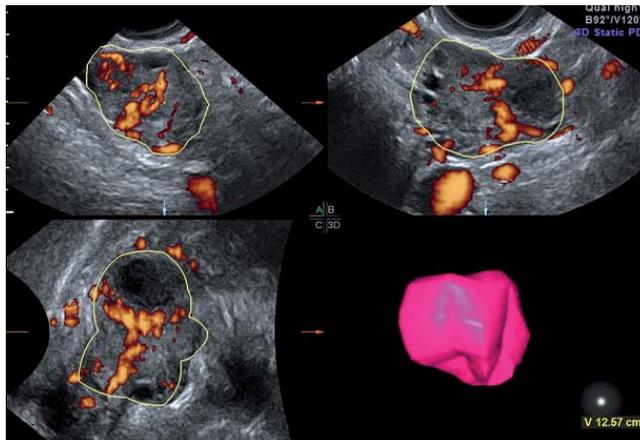
**Estudio de la vascularización ovario izquierdo caso 5: después del reimplante**

Ilustración 107: Angio Power Doppler: Vascularización volumétrica del ovario izquierdo. Mostrando los vasos ováricos maravillosamente. Bajo a la derecha VOCAL del volumen ovárico.

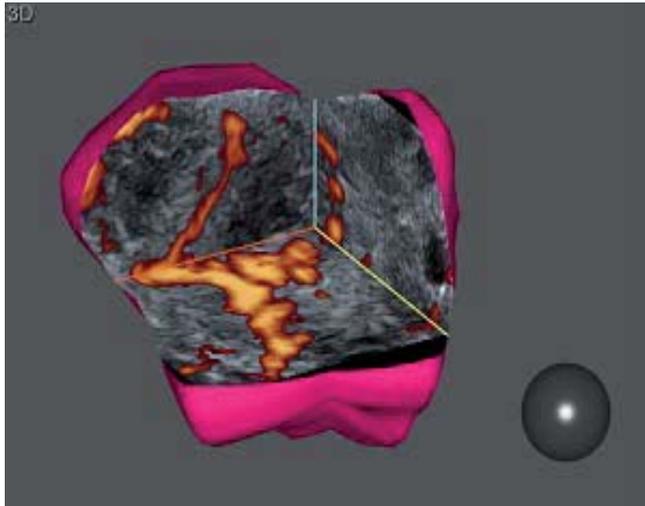


Ilustración 108: Vocal + Power Doppler: Análisis de la vascularización del ovario izquierdo mediante reconstrucción volumétrica. Modo nicho para ver la superficie ovárica en rosa, el estroma en gris y mediante angio-doppler los vasos en la medular.

Indice de Vascularización (IV)	17,258
Indice de Flujo (IF)	49,280
Indice vascularización flujo (IVF)	8,505

#### Valoración volumétrica ovario izquierdo caso 5: después del reimplante



Ilustración 109: VOCAL: Volumen ovario izquierdo 16,03 cm<sup>3</sup>.

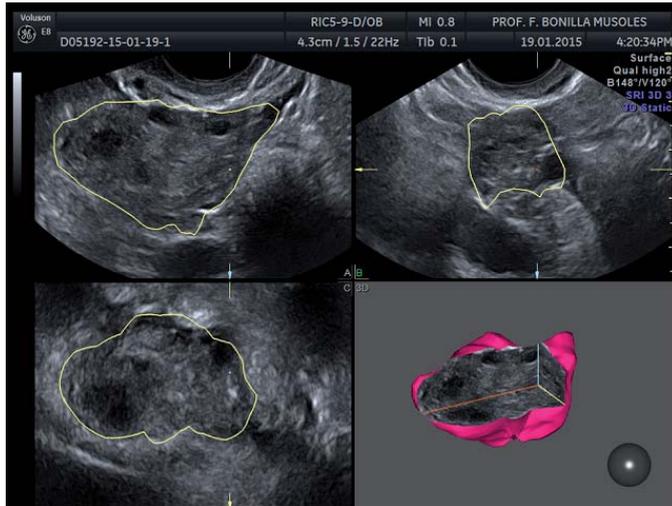


Ilustración 110: AVC modo nicho: Volumen ovario izquierdo.

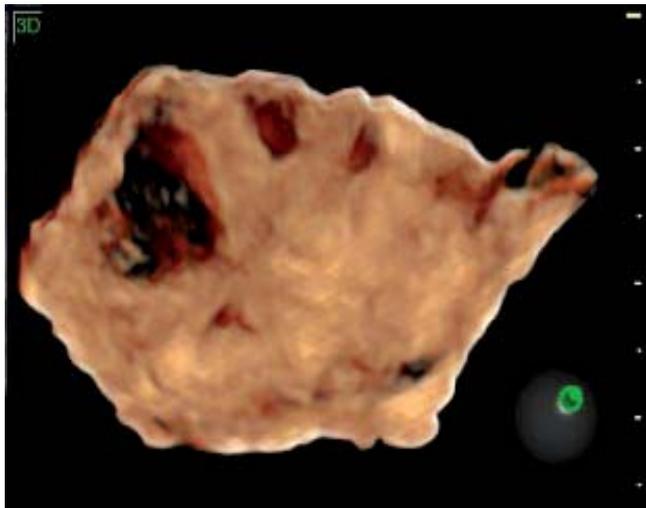


Ilustración 111: Modo HdLive: Se visualiza el ovario izquierdo y los folículos en la corteza ovárica.

### Recuento de Folículos antrales del ovario izquierdo caso 5: después del reimplante



Ilustración 112: Modo SonoAVC: Recuento de 8 folículos antrales en el ovario izquierdo.

### Análisis volumétrico de los folículos antrales del ovario izquierdo:

Nº folículo	d(V)	dx	dy	dz	Mean d	Volumen
1	4,4	4,9	4,3	4,2	4,5	0,04
2	4,1	5,9	4,6	2,7	4,4	0,03
3	3,4	4,6	3,6	2,5	3,6	0,02
4	3,4	5,1	4,0	2,1	3,7	0,02
5	3,3	4,9	4,0	2,6	3,8	0,02
6	3,0	3,8	2,7	2,6	3,0	0,01
7	2,9	6,1	2,6	1,7	3,4	0,01
8	2,8	3,5	2,9	2,2	2,9	0,01

### Estudio morfología uterina y Endometrio:

Espesor endometrial mm	10
características	secretora
Medidas	6,3 x 5 x 3,6
Volumen endometrial cm3	4,16

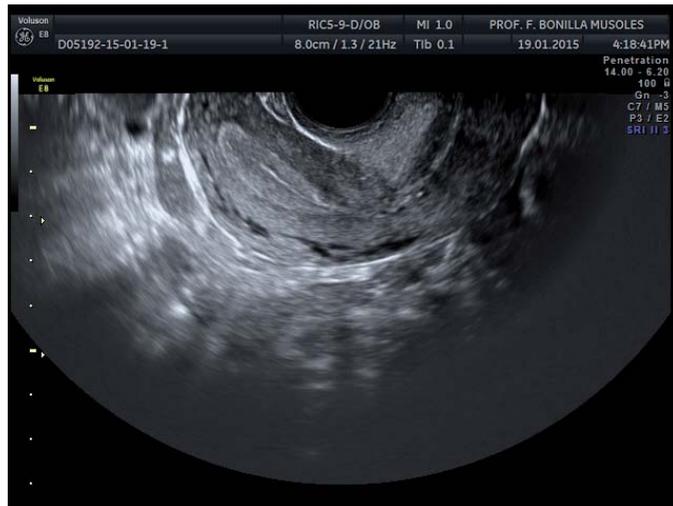


Ilustración 113: Estudio morfología uterina.

### Análisis del estudio del caso 5

Se ha realizado un estudio 6 meses antes del trasplante y otro estudio 3 meses después del trasplante.

Previo al trasplante la paciente presentaba en el ovario izquierdo un recuento folicular de 4 y un volumen ovárico de 15,02 cm<sup>3</sup>. Después de este el recuento es de 8 folículos y el volumen de 16,03 cm<sup>3</sup>.

La vascularización antes y después del trasplante:

Indices:	Pre-	Post-
Indice de Vascularización (IV)	14,445	17,258
Indice de Flujo (IF)	33,777	49,280
Indice vascularización flujo (IVF)	4,882	8,505

Se puede observar como después del reimplante, el análisis de la vascularización de ovario izquierdo incrementó, el RFA aumentó y el volumen también.



## CASO 6

Paciente diagnosticada a los 37 años de carcinoma ductal infiltrante de mama derecha grado I (septiembre 2009).

Se realizó cuadrantectomía con ganglio centinela negativo.

Estadaje: pT1N0/2cM0.

Características de tumor:

- Carcinoma ductal infiltrante de 12 mm de mama izquierda. Grado I. Bordes libres. Scarf-Bloom 5/9 (diferenciación 2, pleomorfismo 2, mitosis 1).
- Receptores hormonales positivos: Receptores de Estrogenos: +95%, Receptores de progesterona +90%. Her2 negativo -/+++ . Ki-67: 7%.
- Resultado Oncotype de bajo riesgo (RS6).
- Estudio de extensión negativo.
- **Extracción de la corteza ovárica derecha previo** al inicio del tratamiento oncológico.

### A) Antecedentes ginecológicos previos:

- Menarquia: 12 años. Fórmula menstrual: 4/28. G0
- Antecedentes familiares de cáncer: tía materna cáncer de endometrio.

### B) Antecedentes quirúrgicos: Hernia discal L3-L4.

### C) Tratamiento oncológico:

La paciente no recibió quimioterapia.

Posteriormente a la cirugía recibió radioterapia adyuvante. El tratamiento se continuó con tamoxifeno durante 5 años (dentro del ensayo Clínico SOFT).

### D) Preservación de la corteza ovárica:

Extracción	Septiembre 2009
Reimplante	Abril 2015

Extracción de la corteza ovárica en septiembre de 2009 por laparoscopia cuando la paciente tenía 37 años antes del inicio del tratamiento oncológico.

El reimplante (tejido de corteza ovárica derecha) se produjo en abril de 2015, mediante laparoscopia, cuando la paciente tenía 42 años, sobre la corteza ovárica izquierda. Reimplante en un solo tiempo.

## E) Evolución hormonal

### Pretratamiento: FSH 4,5 mU/ml, AMH 1,4 ng/ml (septiembre 2009)

FECHA	25/9/09	16/12/2014	9/4/2015	27/5/2015
FASE DEL CICLO	Pre-tratamiento	Pre-trasplante	Mes del reimplante	Post-trasplante
FSH mUI/ml	4,5	17,5	8,1	6,6
LH Mui/ml	3,6	3,9	10,8	29
ESTROGENOS pg/ml	56	15,8	101,8	343
PROGESTERONA ng/ml		0,15		1,7
HAM ng/ml	1,4 ng/ml	<0,1 ng/ml		0,12

FECHA	25/9/09	19/4/10	4/10/10	6/4/11	18/4/12	22/10/12	22/4/13
FASE DEL CICLO	Pre-tratamiento	TMX	TMX	TMX	TMX	TMX	TMX
FSH mUI/ml	4,5	6,6	6,1	21	18,8	6	11,9
LH Mui/ml	3,6	2,9	5,3	10	8,2	4,6	4,2
E2 pg/ml	56	295,8	395	51	49	737	36,6

	18/10/13	11/4/14	2/10/14	16/12/14	9/4/15	14/10/15	10/10/16
FASE DEL CICLO	Hormono-terapia	Hormono-terapia	Hormono-terapia	Pre-trasplante	Mes del reimplante	Post-trasplante	Post-trasplante
FSH mUI/ml	2,6	14,3	3,4	17,5	8,1	9	3,4
LH Mui/ml	0,6	13,6	3	3,99	10,8	5,8	3,2
E2 pg/ml	651	738	680	15,8	101	39	185

**E) Variación de los ciclos menstruales:**

La paciente presentaba menstruaciones regulares de duración 4 días cada 28 días. Tras el reimplante de corteza ovárica la paciente presenta menstruaciones regulares.

**F) Evaluación ecográfica de la función ovárica:**

Se realiza análisis ecográfico **antes y después** del reimplante de la corteza ovárica derecha sobre la superficie de la corteza ovárica izquierda. En el momento del primer estudio ecográfico la paciente tenía 42 años, 5 años después del diagnóstico del cáncer.

El segundo análisis ecográfico se realiza 3 meses después del reimplante

Reimplante	Si	edad
Estudio 1	4 meses Pre-trasplante	41 años
Estudio 2	3 mes Post-trasplante	41 años

**Ovario derecho: caso 6**

OVARIO DERECHO	
Volumen cm3	0,260
Tamaño cm	1,1 x 0,7
Número de folículos	0
Cuerpo Luteo	No

**Estudio 1º Valoración volumétrica ovario derecho caso 6: antes del reimplante**

Ilustración 114: Modo Vocal: Volumen ovario derecho de 0,260 cm3.

**Ovario izquierdo: 3 meses antes del reimplante de corteza ovárica caso 6**

Ovario Izquierdo	
Volumen	6,12
Tamaño	2,4 x 1,69
Número de folículos	4
Volumen folículos ováricos	0,47-0,12-0,09-0,01
DOPPLER IP IR	0,74-0,51
Indice de vascularización % (IV)	4,754
IF INDICE DE FLUJO (IF)	28,452
Indice Vascularización flujo (IVF)	1,352
Cuerpo Luteo	De la ovulación anterior
Cortical mm	6

**Estudio de la vascularización ovario izquierdo caso 6: antes del reimplante**

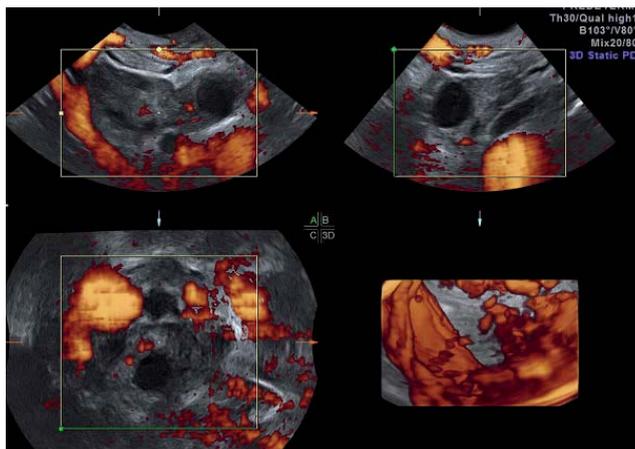


Ilustración 115: Vocal + Power Doppler: Análisis de la vascularización del ovario izquierdo mediante reconstrucción volumétrica.

Indice de Vascularización (IV)	4,754
Indice de Flujo (IF)	28,452
Indice vascularización flujo (IVF)	1,352

### Valoración volumétrica ovario izquierdo caso 6: antes del reimplante

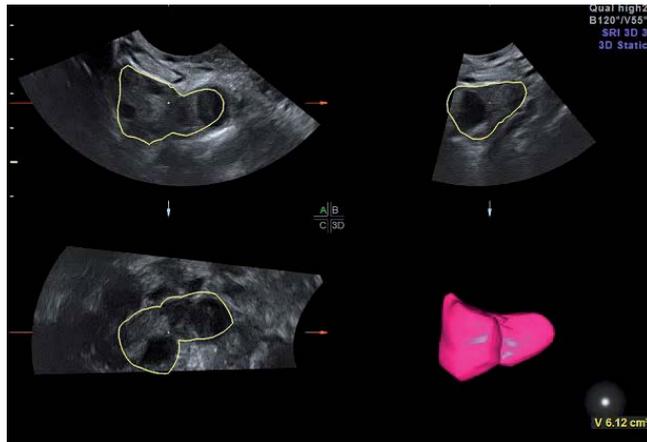


Ilustración 116: Modo Vocal: Volumen ovario derecho 6,12 cm<sup>3</sup>.

### Recuento de Fóliculos antrales del ovario izquierdo caso 6: antes del reimplante



Ilustración 117: Modo SonoAVC: Recuento de 4 foliculos antrales en el ovario izquierdo y cuerpo lúteo de ciclo anterior.

**Análisis volumétrico de los folículos antrales del ovario izquierdo:**

Nº folículo	Volumen
1	0,12
2	0,09
3	0,01
4	<0,01

**Estudio morfología uterina y Endometrio:**

Espesor endometrial mm	7,7
características	Fase folicular
Medidas	7 x 4,2 x 4,9
Doppler arteria Uterina:	IP: 1,91 IR: 0,78. IP: 1,71. IR: 0,77

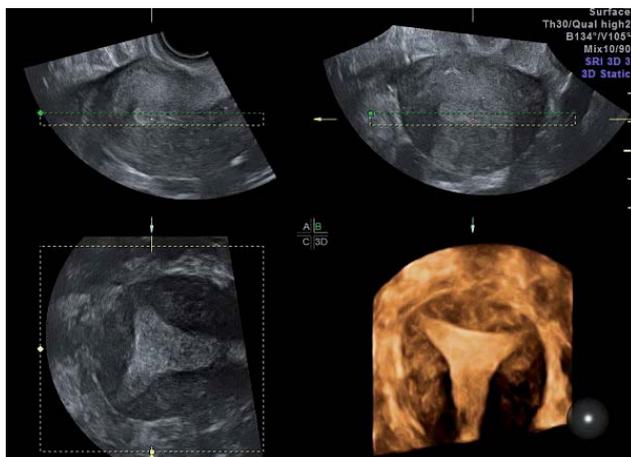


Ilustración 118: Reconstrucción uterina 2D/3D.

### Caso 6: estudio post-reimplante

Se realizó un estudio ecográfico 3 meses después del reimplante cuando la paciente tenía 42 años. Podemos observar la variación del volumen en el ovario izquierdo.

#### Ovario derecho:

OVARIO DERECHO	
Volumen cm3	1,40
Tamaño cm	1,82 x 1,09
Número de folículos	2
DOPPLER IP IR	1,31-0,7
Indice de vascularización (IV)	1,997
Indice de flujo (IF)	30,900
Indice de Vascularización flujo (IVF)	0,647
Cuerpo Luteo	No

#### Estudio 2º del tamaño del ovario derecho caso 6:



Ilustración 119: Tamaño ovario derecho 1,82 x 1,09 mm.

**Valoración volumétrica ovario derecho caso 6:**

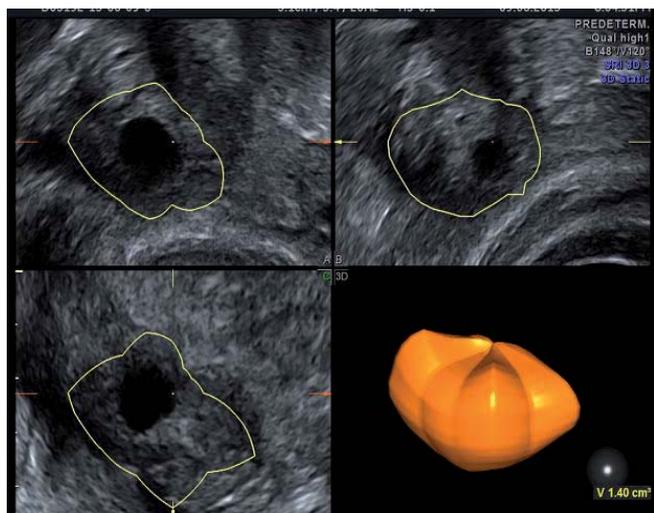


Ilustración 120: Modo Vocal: Volumen ovario derecho de 1,40 cm3.

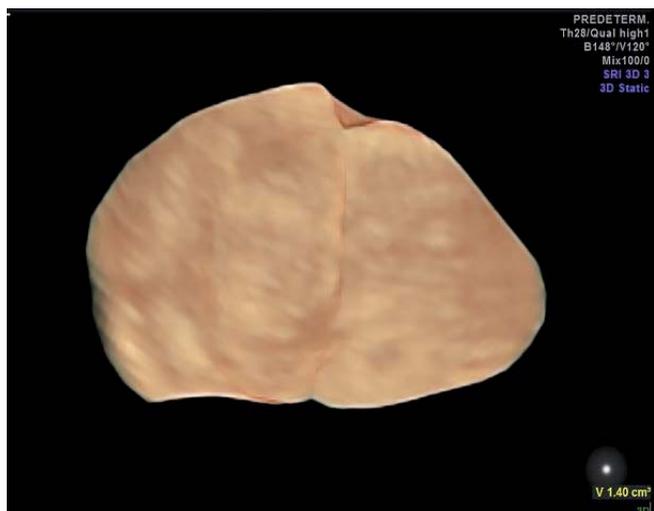


Ilustración 121: Modo HdLive: Volumen ovario derecho de 1,40 cm3.

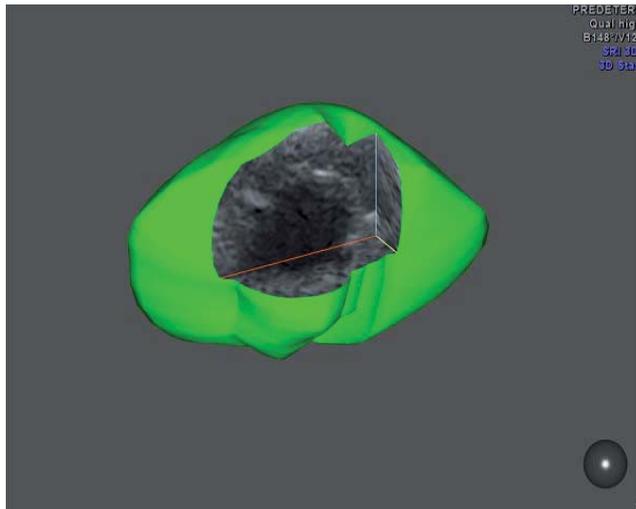


Ilustración 122: VOCAL Modo nicho: Reconstrucción Volumétrica del ovario derecho.

#### Ovario izquierdo: 3 mes después del reimplante de corteza ovárica

Ovario Izquierdo	
Volumen cm3	6,86
Tamaño cm	2,72 x 1,93
Número de folículos	9
DOPPLER IP IR	0,61-0,44
Indice de vascularización % (IV)	3,888
IF INDICE DE FLUJO (IF)	40,125
Indice Vascularización flujo (IVF)	0,832
Cuerpo Luteo	No
Cortical mm	6,3

## Estudio 2º del tamaño del ovario izquierdo caso 6: después del reimplante



Ilustración 123: Tamaño ovario izquierdo 27,2 x 19,3 mm.

## Estudio 2º de la vascularización ovario izquierdo caso 6: después del reimplante

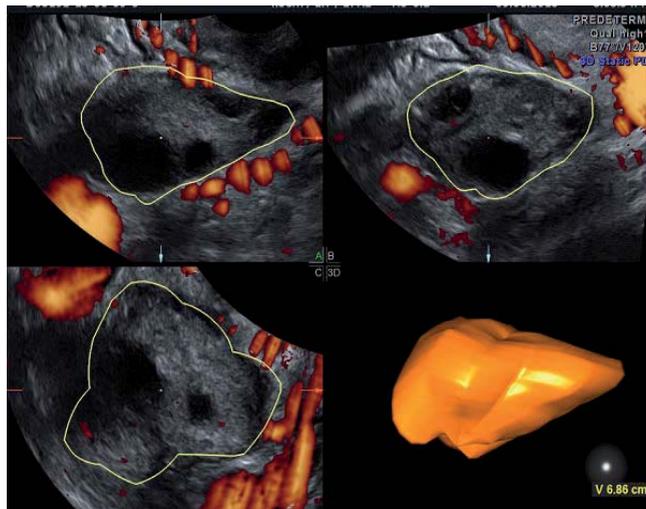


Ilustración 124: Angio Power Doppler 3D: Análisis de la vascularización del ovario izquierdo mediante reconstrucción volumétrica.

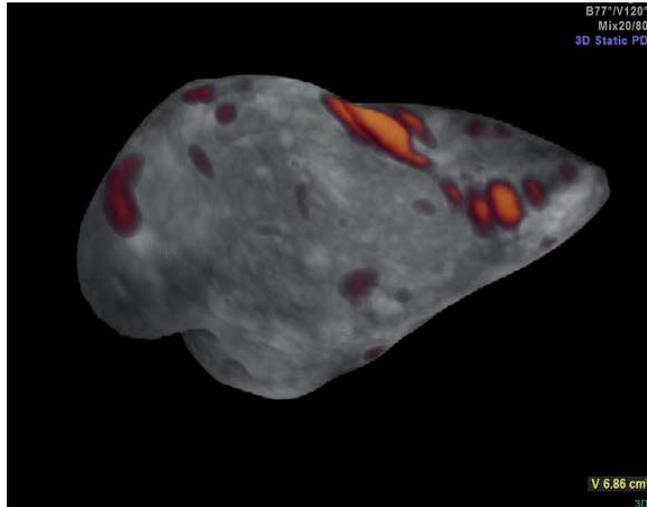


Ilustración 125: Glass Body-Angio Power Doppler: Ovario izquierdo.

Indice de Vascularización (IV)	3,889
Indice de Flujo (IF)	40,125
Indice vascularización flujo (IVF)	0,832

## Estudio 2º Valoración volumétrica ovario izquierdo caso 6



Ilustración 126: Modo HD Live: Volumen del ovario izquierdo de 6,86cm3.

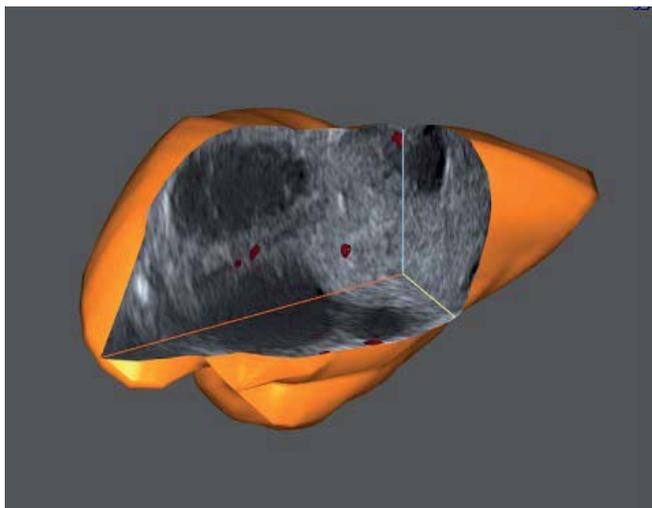


Ilustración 127: Vocal modo nicho: Se visualiza el ovario izquierdo repleto de folículos en la cortical.

### Estudio 2º Recuento de Folículos antrales del ovario izquierdo caso 6: después del reimplante

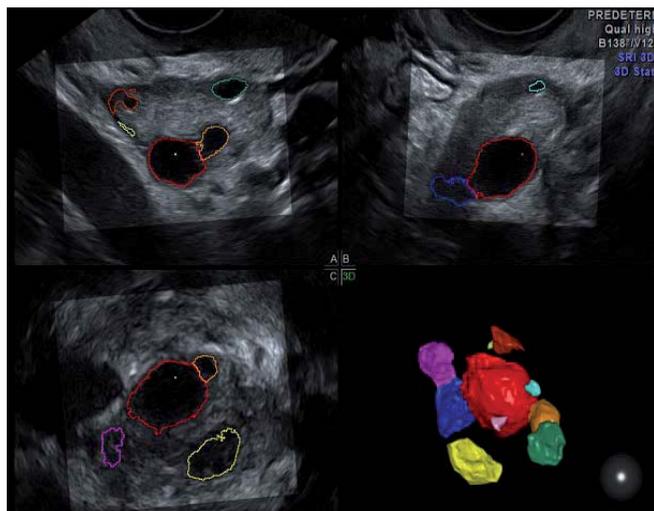


Ilustración 128: Modo SonoAVC: Recuento de 9 folículos antrales en el ovario izquierdo.

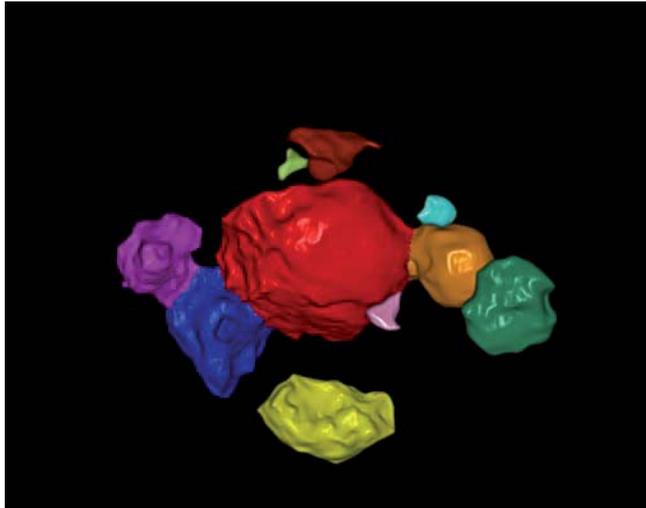


Ilustración 129: Modo SonoAVC: Recuento de 9 folículos antrales en el ovario izquierdo.

**Estudio morfología uterina y Endometrio:**

Espesor endometrial mm	3,3
características	Fase proliferativa
Medidas	7,1 x 3,5 x 4,94

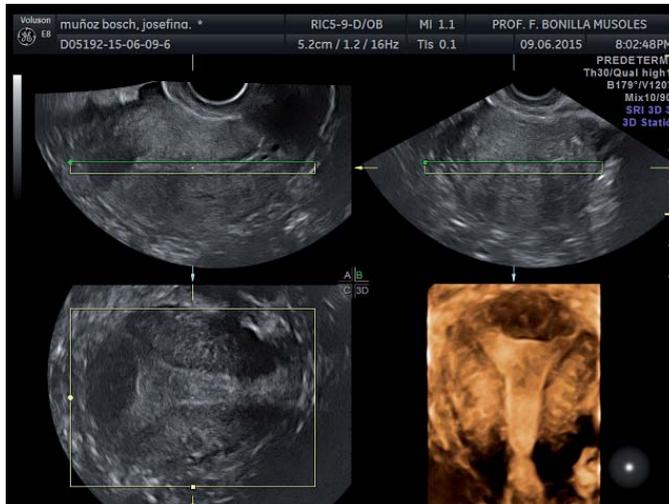


Ilustración 130: Estudio morfología uterina 3D.

### Analisis del estudio del caso 6

Se ha realizado un estudio 3 meses antes y otro estudio 3 mes después del trasplante.

Previo al trasplante la paciente presentaba en el ovario izquierdo un recuento folicular de 4 y un volumen ovárico izquierdo de 6,12 cm<sup>3</sup>.

Posterior al trasplante la paciente presentaba un recuento folicular en el ovario izquierdo de 9 y un volumen ovárico de 6,86 cm<sup>3</sup>.

La vascularización antes y después del trasplante:

Indice de Vascularización (IV)	4,754	3,884
Indice de Flujo (IF)	28,452	40,125
Indice vascularización flujo (IVF)	1,352	0,832

Se puede observar como después del reimplante el índice flujo incrementa.

Además, se observa como el ovario derecho (que no recibió el reimplante) el volumen pasa de 0,260 a 1,40 cm<sup>3</sup>, y aparecen dos folículos antrales.

## CASO 7

Paciente diagnosticada a los 29 años de carcinoma ductal in situ de mama izquierda grado II (noviembre 2002).

Se realizó mastectomía simple y tratamiento con tamoxifeno durante 5 años.

Cuando la paciente tenía 35 años se le diagnostica un carcinoma ductal infiltrante de mama derecha.

Se realizó mastectomía derecha con vaciamiento axilar.

Estadaje: pT12 pN(2/24) M0.

Características de tumor:

- Carcinoma ductal infiltrante de mama derecha. Grado IIB. Luminal B. Bordes libres.
- Receptores hormonales positivos: Receptores de Estrogenos: +20% (20/300), Receptores de progesterona negativos. Her2 negativo -/+++ . Ki-67: 75%. Perfil luminal B.
- Estudio de extensión negativo.
- Extracción de la corteza ovárica derecha previo al inicio del tratamiento oncológico.

### A) Antecedentes ginecológicos previos:

- Menarquia: 13 años. Fórmula menstrual: 3/28. G0
- No antecedentes familiares de cáncer

### B) Antecedentes quirúrgicos: No

### C) Tratamiento oncológico:

Tras el diagnóstico del carcinoma ductal in situ de la mama izquierda estuvo 5 años con tamoxifeno.

Posteriormente, tras el diagnóstico del carcinoma ductal infiltrante de mama derecha recibió quimioterapia tras preservación de la corteza ovárica: TAC 6 ciclos (Docetaxel + Doxorubicina + Ciclofosfamida).

Además, recibió radioterapia y tratamiento hormonal con tamoxifeno y zoladex durante 2 años y posteriormente 2 años más de tamoxifeno.

Durante el tratamiento con quimioterapia cese de función ovárica al 2º ciclo. Y permanece sin menstruaciones durante los dos primeros años del tamoxifeno.

#### D) Preservación de la corteza ovárica:

Extracción	Diciembre 2009
Reimplante	Noviembre 2014

Se realizó la extracción de corteza en diciembre de 2009 por laparoscopia cuando la paciente tenía 35 años antes del inicio del tratamiento gonadotóxico.

El reimplante de los fragmentos (corteza ovárica derecha) se produjo en noviembre de 2015, mediante laparoscopia, sobre la corteza ovárica izquierda cuando la paciente tenía 41 años. Reimplante en un solo tiempo.

#### E) Evolución hormonal

Post reimplante:				
FECHA	16/4/10	7/4/14	22/12/2014	9/2/15
FASE DEL CICLO	QT	Hormono-terapia	1 ciclo Post-trasplante	3 ciclos Post-trasplante
FSH mUI/ml	76,7	13,8	9	1,9
LH mUI/ml	41,1	6,5	6,4	2,6
ESTROGENOS pg/ml	9,8	59	-	210
HAM ng/ml	-	<1,00		0,08

Post reimplante:										
FECHA	16/4/10	16/7/10	7/10/13	7/4/14	22/12/2014	9/2/15	15/4/15	16/1/16	5/12/16	4/1/17
FASE DEL CICLO	QT	QT	Hormono-terapia	Hormono-terapia	1 ciclo Post-trasplante	3 ciclos Post-trasplante	Embarazo 13s + 2d	Post parto		
FSH mUI/ml	76,7	52,8	26,5	13,8	9	1,9	0,1	12,3	27,3	20
LH mUI/ml	41,1	28,6	14,0	6,5	6,4	2,6	<0,1	8	11,6	11,5
E2 pg/ml	9,8	<5,0	<12,0	59	-	210	>3000	<25	<25	25
HAM ng/ml	-	-	-	0,14	-	0,01	-	0,09	0,05	0,3
b-HCG	-	-	-	-	-	-	159000	-	-	-

Fecha	16/12/10	1/2/2012	19/11/12	12/3/13	7/10/13	7/4/14	30/10/14	15/4/15	20/7/15	27/11/15
CA 125	22	16	27	20	20	35	34	-	-	-
CA 15,3 U/mL	14	17	15	15	16	17	17	20	21	17
CEA ng/ml	2,6	1,6	1,4	1,0	1,5	2,1	0,7	0,8	0,7	0,8
CEA 19.9	11	11	12	10	10	14	15	-	-	-

### E) Variación de los ciclos menstruales:

La paciente presentaba menstruaciones regulares de duración 3 días cada 28 días.

Al inicio de la quimioterapia la paciente dejó de menstruar y entró en amenorrea.

Después de dos años la paciente recuperó la función ovárica una manera regular, con ligera sequedad vaginal y dispareunia leve.

Tras el reimplante de corteza ovárica la paciente tiene la primera menstruación a final del mes y desde entonces menstruaciones regulares. A la paciente le desaparece la sequedad vaginal y la dispareunia.

Se quedó embarazada espontáneamente 3 meses después del trasplante ovárica (enero 2015).

### F) Evaluación ecográfica de la función ovárica:

En el momento del primer estudio ecográfico la paciente tenía 41 años, es decir, 6 años después del diagnóstico del cáncer, 5 meses post-trasplante y embarazada de 11 semanas + 2 días.

El cuarto estudio analiza también el ciclo ovárico haciendo estudio ecográfico en día +3 y +10 del ciclo.

reimplante	Si	41 años	Noviembre 2014
Estudio 1	5 meses Post-reimplante Embarazada	41 años	Marzo 2015
Estudio 2	14 meses post-reimplante	42 años	Enero 2016
Estudio 3	15 meses post-reimplante	42 años	Febrero 2016
Estudio 4	25 meses postreimplante	43 años	Diciembre 2016

**Ovario derecho:**

OVARIO DERECHO	
Volumen cm3	4,82
Tamaño cm	3,08 x 1,6
Número de folículos	1
Volumen folículos ováricos cm3	0,22
Índice de vascularización (IV)	27,407
Índice de flujo (IF)	32,720
Índice de Vascularización flujo (IVF)	8,967
Cuerpo Luteo	Si

**Estudio 1º Valoración volumétrica ovario derecho caso 7:**

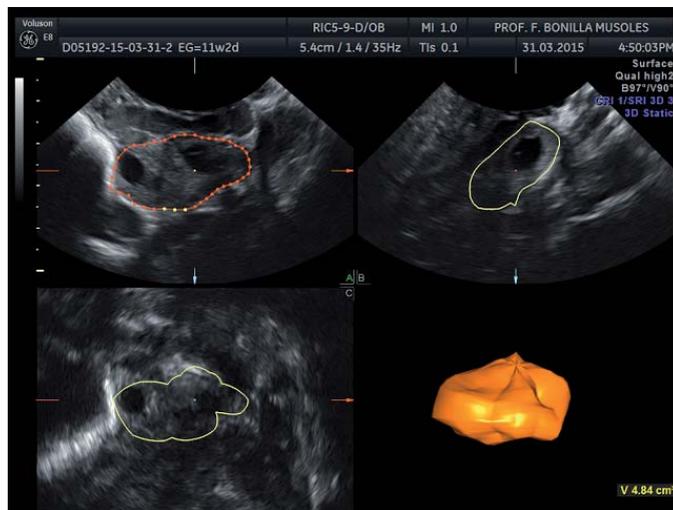


Ilustración 131: Modo Vocal: Volumen ovario derecho de 4,84 cm3.

## Estudio 1º de la vascularización ovario derecho caso 7:



Ilustración 132: Vocal + Power Doppler: Análisis de la vascularización del ovario derecho mediante reconstrucción volumétrica.

Indice de Vascularización (IV)	27,407
Indice de Flujo (IF)	32,720
Indice vascularización flujo (IVF)	8,967

## Estudio del cuerpo lúteo del ovario derecho caso 7:



Ilustración 133: Modo SonoAVC: cuerpo lúteo en ovario derecho con volumen de 0,22 cm3.

**Ovario izquierdo: 3 meses después del reimplante de corteza ovárica**

Ovario Izquierdo	
Volumen	4,42
Tamaño	3,1 x 1,5
Número de folículos	3
Volumen folículos ováricos	0,02-<0,01-0,01
Indice de vascularización % (IV)	8,237
IF INDICE DE FLUJO (IF)	34,361
Indice Vascularización flujo (IVF)	2,830

**Estudio 1º de la vascularización ovario izquierdo caso 7:**

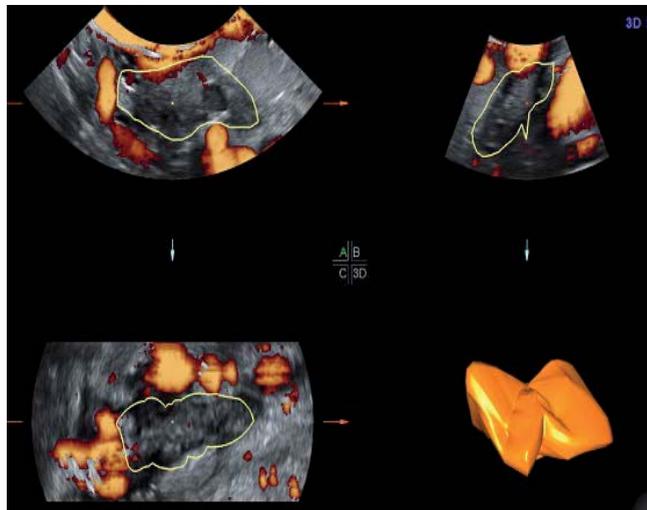


Ilustración 134: Vocal + Power Doppler: Análisis de la vascularización del ovario izquierdo mediante reconstrucción volumétrica.

Indice de Vascularización (IV)	8,237
Indice de Flujo (IF)	34,361
Indice vascularización flujo (IVF)	2,830

**Estudio 1º Valoración volumétrica ovario izquierdo caso 7:**

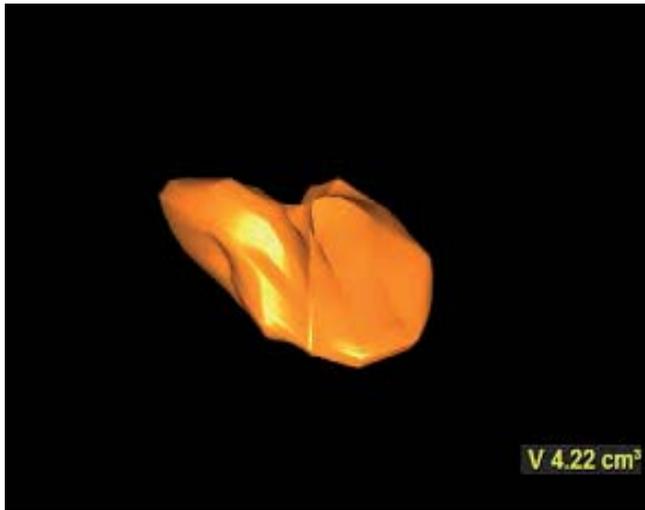


Ilustración 135: Modo Vocal: Volumen ovario derecho 4,22 cm3.

**Estudio 1º Recuento de Folículos antrales del ovario izquierdo caso 7:**



Ilustración 136: Modo SonoAVC: Recuento de 3 folículos antrales en el ovario izquierdo.

**Análisis volumétrico de los folículos antrales del ovario izquierdo:**

Nº folículo	Volumen
1	0,02
2	0,01
3	0,01

**Estudio Gestacional:** Se produce una gestación espontánea después del reimplante de la corte ovárica.

FUR:	11/1/2015
Edad gestacional	11 Semanas + 2 días
Medidas CRL mm	50,6 mm
Doppler Uterinas	Derecha: IP:0,80 IR: 0,52 Izquierda: IP:0,69 IR:0,47



Ilustración 137: Hdlive.

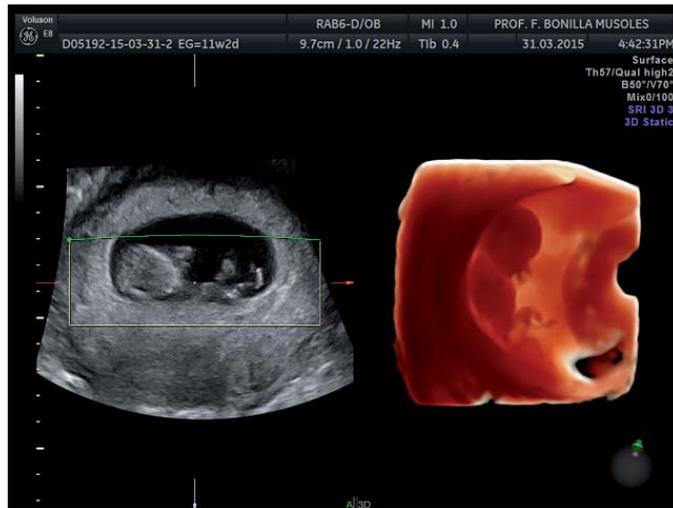


Ilustración 138: Hdlive máxima iluminación.

### Caso 7: 2º estudio post-reimplante

Se realizó un estudio ecográfico 4 meses después del parto cuando la paciente tenía 42 años. Y 15 meses después del reimplante de la corteza ovárica sobre el ovario izquierdo.

#### Ovario derecho:

OVARIO DERECHO	
Volumen cm3	1,52
Cuerpo Lúteo	No

**Estudio 2º Valoración volumétrica ovario derecho caso 7:**

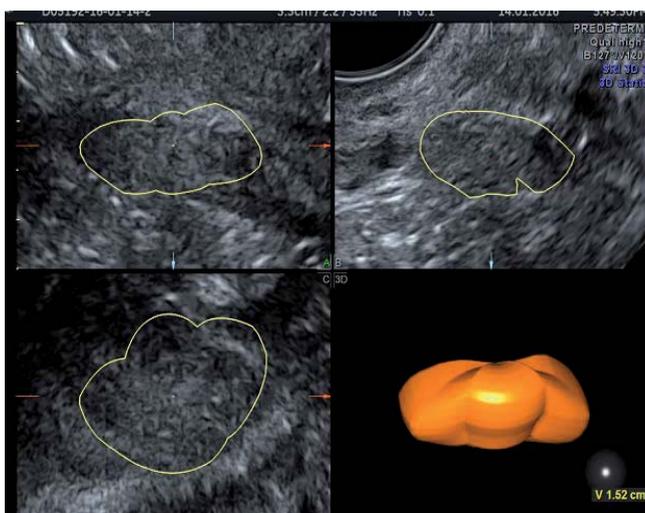


Ilustración 139: Modo Vocal: Volumen ovario derecho de 1,52 cm3.

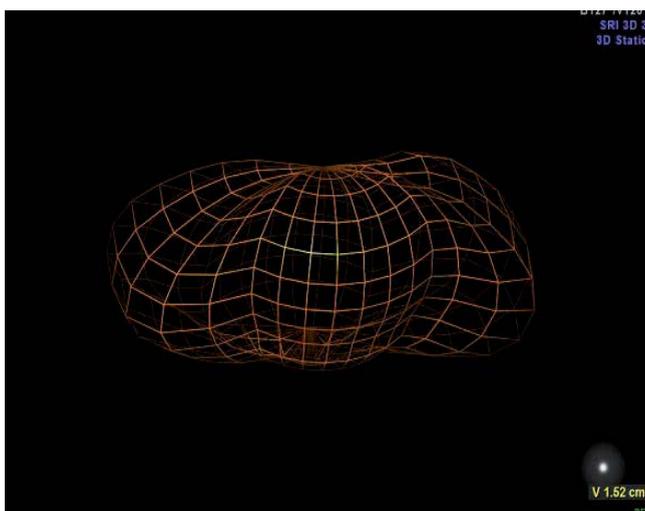


Ilustración 140: Histograma: Volumen ovario derecho de 1,52 cm3.

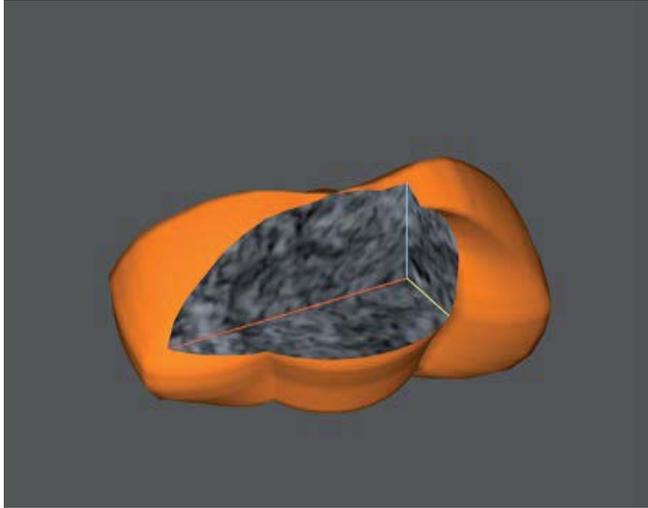


Ilustración 141: Vocal Modo nicho: Reconstrucción Volumétrica del ovario derecho.

#### Ovario izquierdo: 15 mes después del reimplante de corteza ovárica

Ovario Izquierdo	
Volumen cm3	4,21
Tamaño cm	2,3 x 1,19
Número de folículos	1
Volumen folículos ováricos	-
DOPPLER IP IR	1,78-0,44
Indice de vascularización % (IV)	22,942
IF INDICE DE FLUJO (IF)	41,957
Indice Vascularización flujo (IVF)	9,628
Cuerpo Luteo	No

**Estudio de la vascularización ovario izquierdo caso 7:**

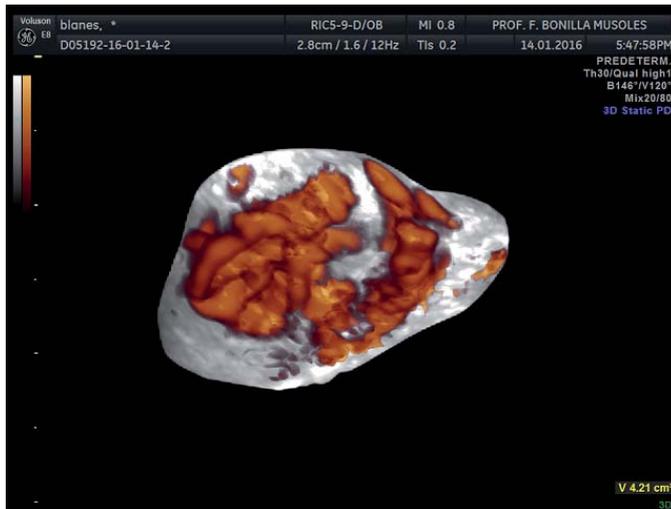


Ilustración 142: Glass Body: Vascularización volumétrica del ovario izquierdo.

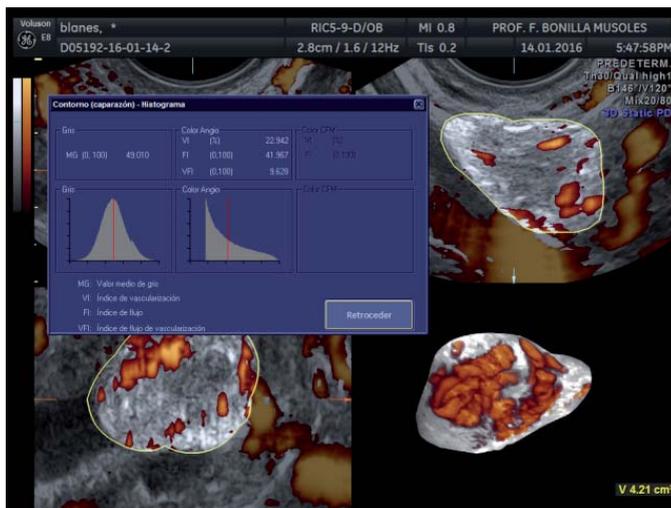


Ilustración 143: Vocal + Power Doppler: Análisis de la vascularización del ovario izquierdo mediante reconstrucción volumétrica. Modo nicho.

Indice de Vascularización (IV)	22,942
Indice de Flujo (IF)	41,957
Indice vascularización flujo (IVF)	9,628

Valoración volumétrica ovario izquierdo caso 7:

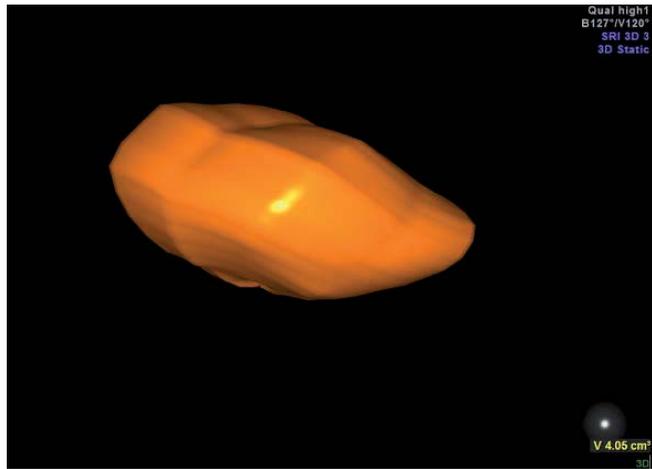


Ilustración 144: Modo Vocal: Volumen ovario izquierdo 4,05 cm<sup>3</sup>.



Ilustración 145: Modo Hd Live: Ovario izquierdo.

### Caso 7: 3º estudio post-reimplante

#### Estudio en día 3 y día 14.

Estudio ecográfico 1 mes después del estudio anterior, transcurrido 6 meses desde el parto. La paciente tenía 42 años.

Había pasado 15 meses del reimplante.

El ovario izquierdo es analizado en día 2-3 del ciclo y en el día 14 para valorar la evolución del ciclo menstrual.

Al realizar un estudio en el día +3 y + 14 podemos valorar la variación del volumen, vascularización y crecimiento folicular del ovario.

#### Ovario derecho:

OVARIO DERECHO	
Volumen cm3	2,06
Cuerpo Luteo	No

#### Estudio 3º Valoración volumétrica ovario derecho caso 7:

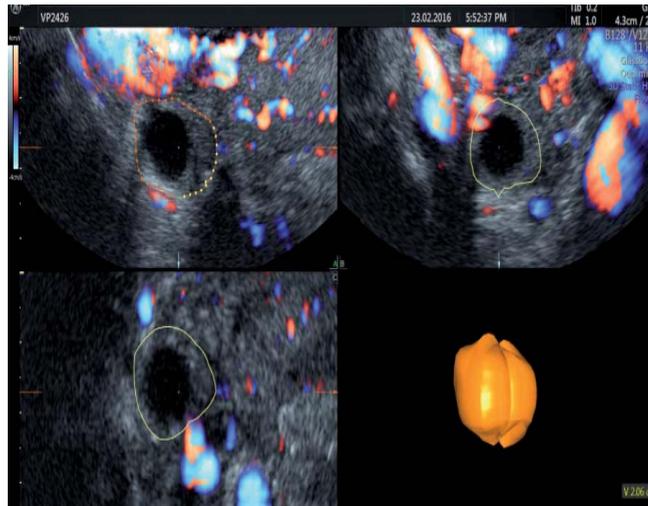


Ilustración 146: Modo Vocal: Volumen ovario derecho de 2,06 cm3.

### Estudio 3° de la vascularización ovario derecho caso 7:

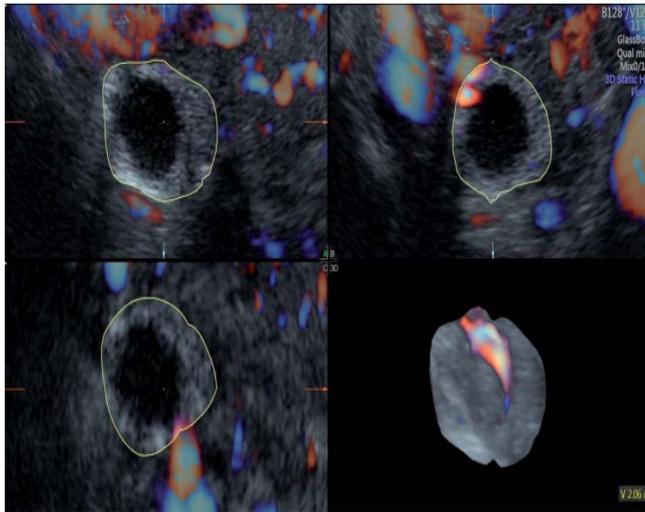


Ilustración 147: Glass Body-Powe Doppler: Volumen ovario derecho de 2,03 cm<sup>3</sup>.

### Ovario izquierdo: 3° estudio después del reimplante de corteza ovárica

Ovario Izquierdo	Día 3	Día 14
Volumen cm <sup>3</sup>	4,99	10,19
Tamaño cm		3,35 x 2,33
Número de folículos	4	4
Volumen folículos ováricos		1,19-1,02-0,21-0,07
Cuerpo Luteo	No	No
Folículo dominante cm <sup>3</sup>	-	1,19

Estudio ovario izquierdo día +3:

3º Estudio de la vascularización ovario izquierdo caso 6: día 3 del ciclo

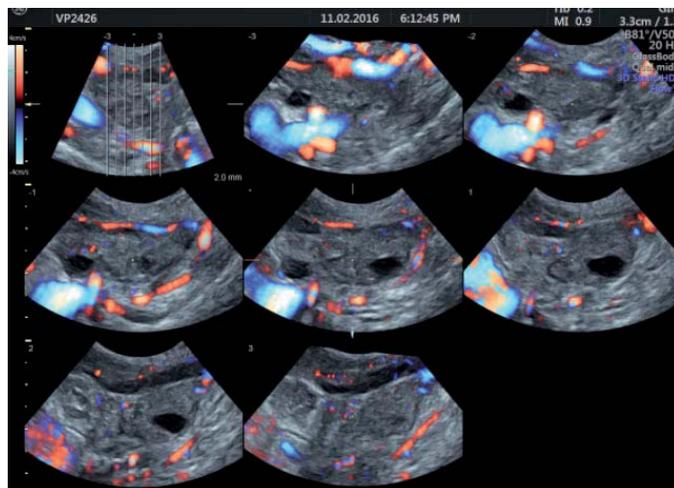


Ilustración 148: 3D TUI (imagen tomográfica ultrasónica): Vascularización volumétrica del ovario izquierdo.

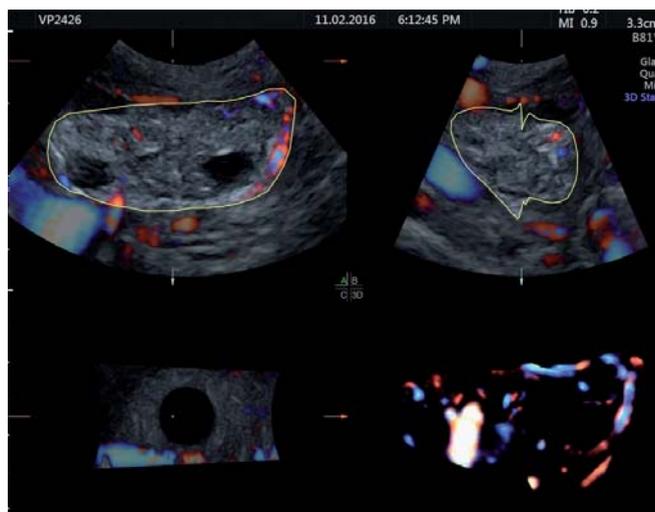


Ilustración 149: Glass Body Power Doppler: Vascularización volumétrica del ovario izquierdo.

3º Estudio valoración volumétrica ovario izquierdo caso 7: día 3 del ciclo

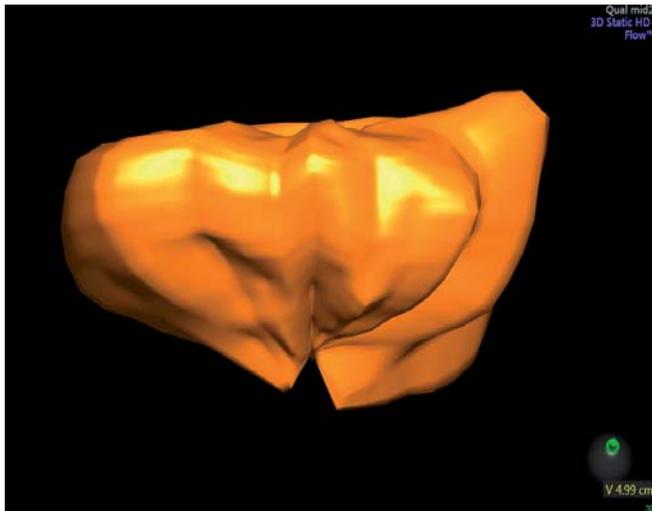


Ilustración 150: Modo Vocal: Volumen ovario izquierdo 4,99 cm3



Ilustración 151: Hd Live: Volumen ovario izquierdo.

### 3º Estudio recuento de Folículos antrales del ovario izquierdo caso 7: día + 3 del ciclo

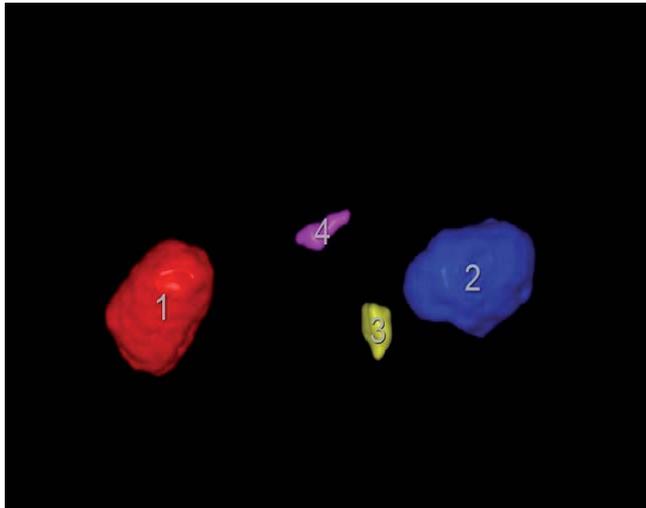


Ilustración 152: Modo SonoAVC: Recuento de 4 folículos antrales en el ovario izquierdo.

### Estudio ovario izquierdo día +14:

### 3º Estudio de la vascularización ovario izquierdo caso 6: día 14 del ciclo

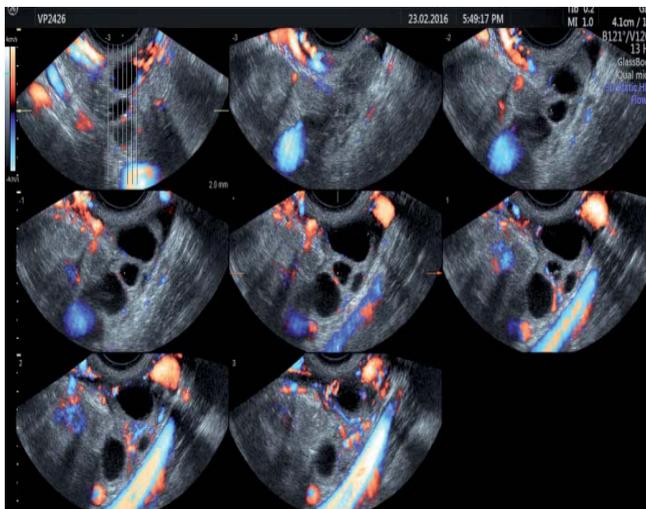


Ilustración 153: 3D TUI (tomografic ultrasound image): Vascularización volumétrica del ovario izquierdo.

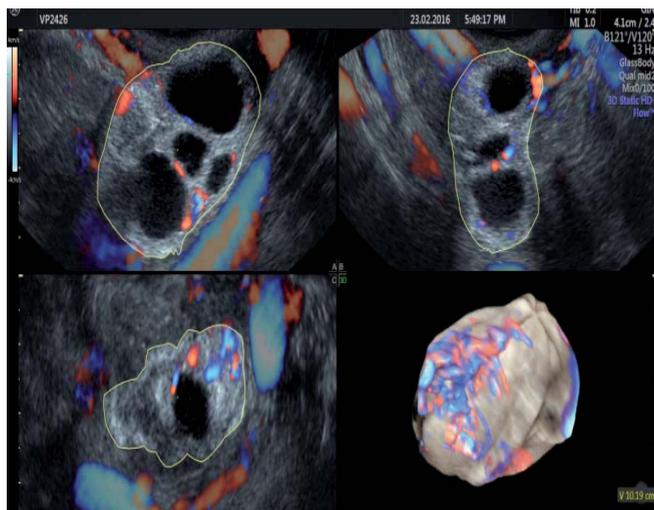


Ilustración 154: Hd live Glass Body: Vascularización volumétrica del ovario izquierdo.

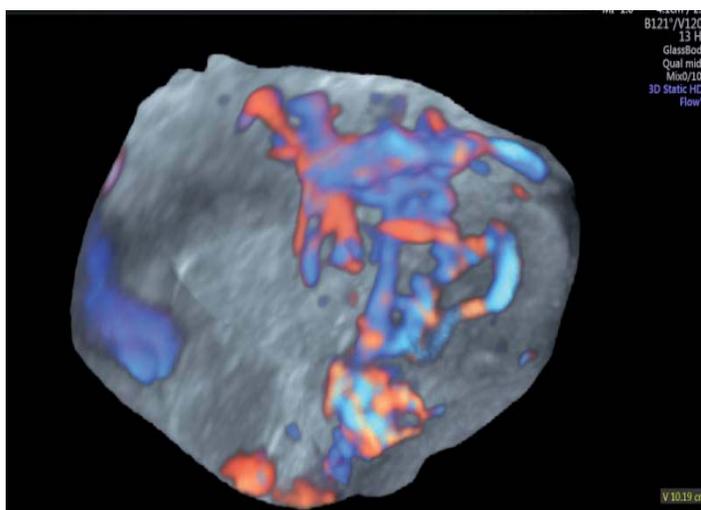


Ilustración 155: Glass Body Power Doppler: Vascularización volumétrica del ovario izquierdo.

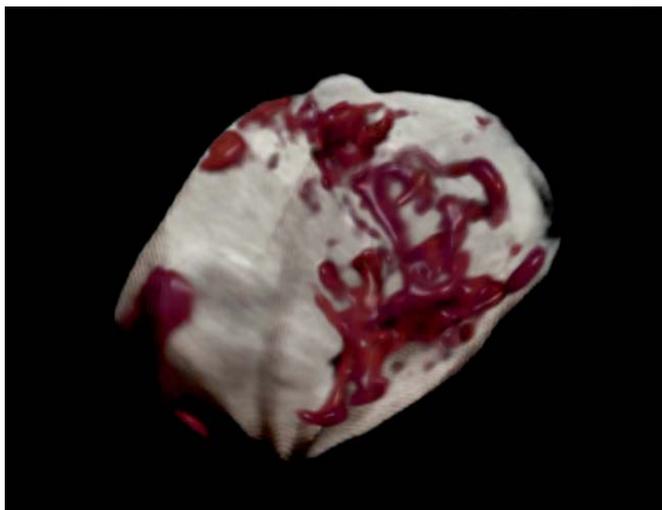


Ilustración 156: Hd live Silueta-Flujo: percepción muy realista de la anatomía vascular del ovario izquierdo.

### 3º Estudio valoración volumétrica ovario izquierdo caso 7: día 14 del ciclo

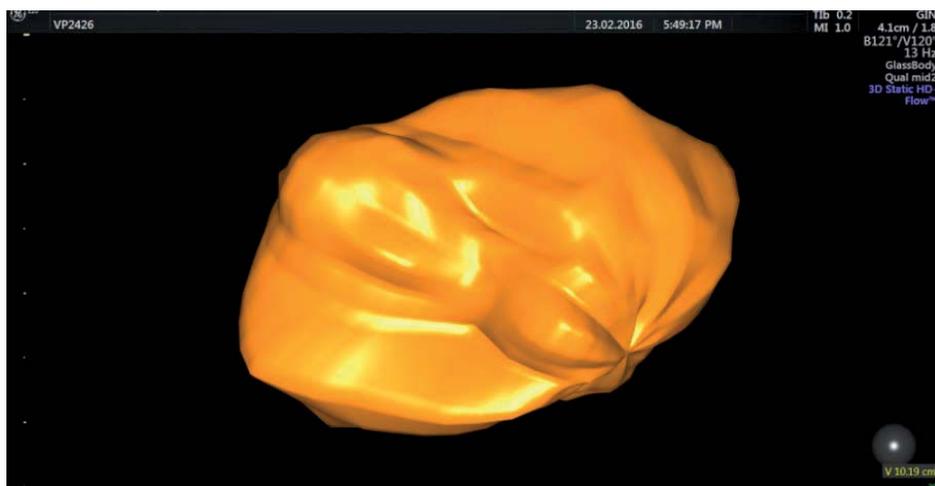


Ilustración 157: Modo Vocal: Volumen ovario izquierdo 10,19 cm3.

3º Estudio recuento de Folículos antrales del ovario izquierdo caso 7: día 14 del ciclo

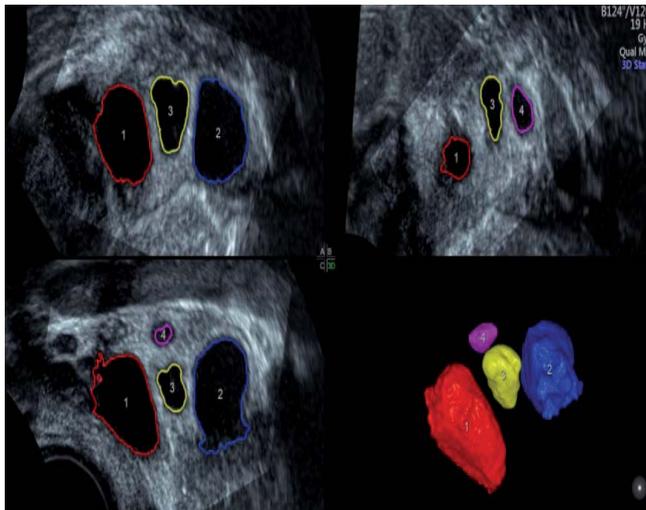


Ilustración 158: Modo SonoAVC: Recuento de 4 folículos antrales en el ovario izquierdo.



Ilustración 159: Modo inverso: Recuento de 4 folículos antrales en el ovario izquierdo

**Análisis volumétrico de los folículos antrales del ovario izquierdo:**

Nº folículo	d(V)	dx	dy	dz	Mean d	Volumen
1	13,1	19,1	12,5	9,9	13,8	1,19
2	12,5	15,6	12,4	10,7	12,9	1,02
3	7,3	10,4	7,3	5,8	7,8	0,21
4	5,0	6,8	5,6	3,5	5,3	0,07

**Caso 7: 4º estudio post-reimplante**

**Estudio en día 3 y día 11.**

Estudio ecográfico 25 meses después del reimplante y 10 mes después del estudio anterior. Habían transcurrido 16 meses desde el parto. La paciente tenía 43 años.

El ovario izquierdo lo volvemos a analizar en día +3 y +11.

Ovario Izquierdo	Día 3	Día 11
Volumen cm3	5,66	26,45
Tamaño cm	2,99 x 1,3	3,9 x 2,9
Número de folículos	5	2
Volumen folículos ováricos		8,98-3,94
Indice de vascularización % (IV)	5,491	10,220
IF INDICE DE FLUJO (IF)	45,069	40,574
Indice Vascularización flujo (IVF)	2,475	4,147
Folículo dominante cm3		8,98 cm3

Endometrio	Día 3	Día 11
Espesor endometrial mm	5,7	11,2
Fase del ciclo	proliferativa	proliferativa

4º Estudio: Vascularización ovario izquierdo caso 7: Día 3 del Ciclo

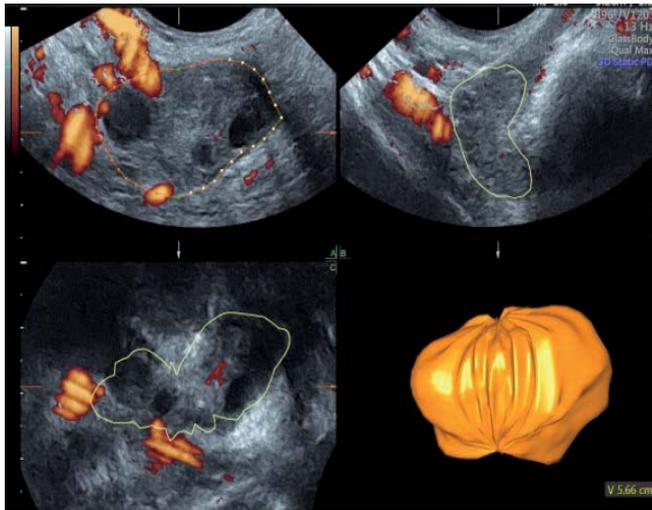


Ilustración 160: Angio Power Doppler 3D: Vascularización volumétrica del ovario izquierdo.

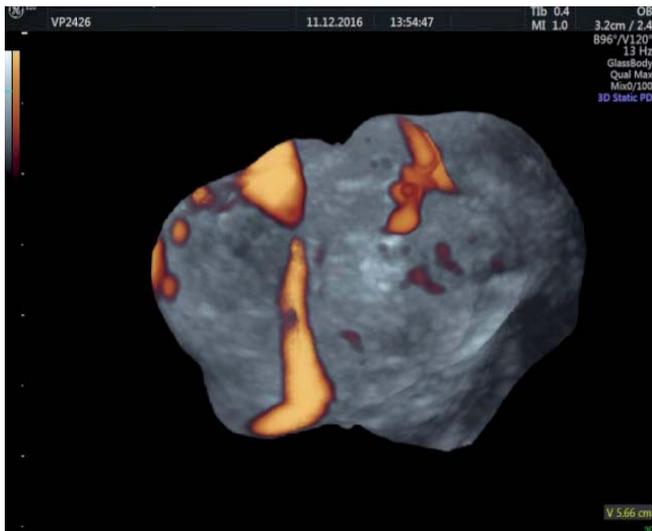


Ilustración 161: Modo Glass Body Angio-power Doppler.

Indice de Vascularización (IV)	5,491
Indice de Flujo (IF)	45,069
Indice vascularización flujo (IVF)	2,475

**4º Estudio: Representación volumétrica ovario izquierdo caso 7: día 3 del ciclo**



Ilustración 162: HDlive Silueta: Volumen ovario izquierdo 5,66cm3.

**4º Estudio: Recuento de Folículos antrales del ovario izquierdo caso 7: día 3 del ciclo**

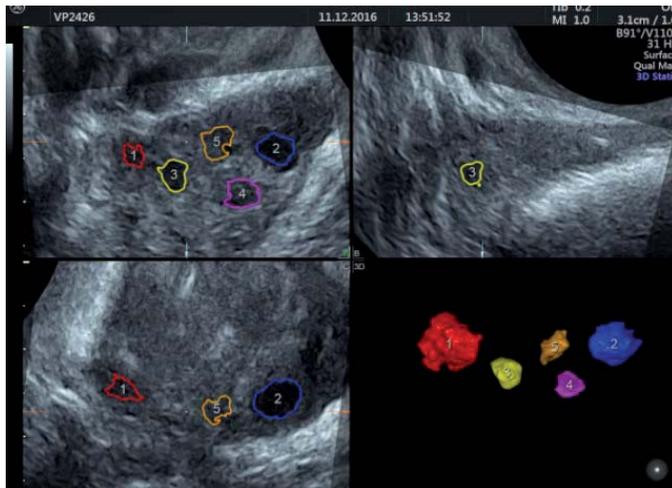


Ilustración 163: Modo SonoAVC: Recuento de 5 folículos antrales en el ovario izquierdo.

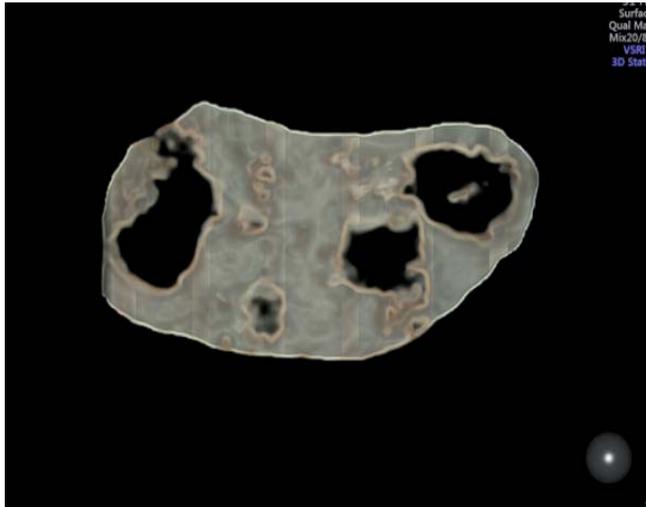


Ilustración 164: HD Live Silueta: Representación del ovario izquierdo donde se pueden visualizar los folículos antrales.

#### 4º Estudio: Vascularización ovario izquierdo caso 7: día 11 del Ciclo

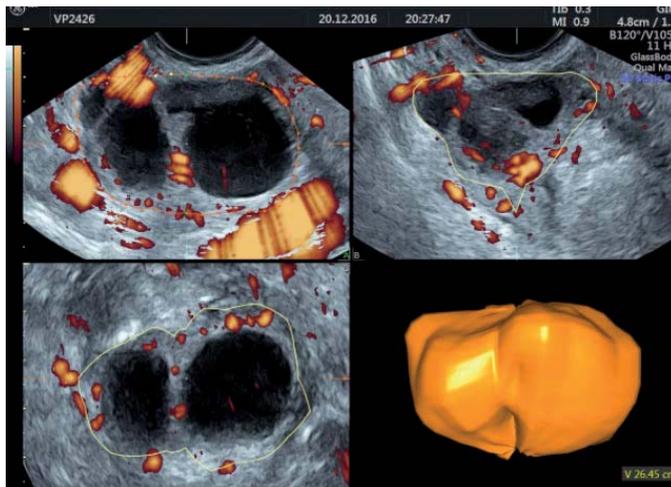


Ilustración 165: Angio Power Doppler 3D: Vascularización volumétrica del ovario izquierdo.

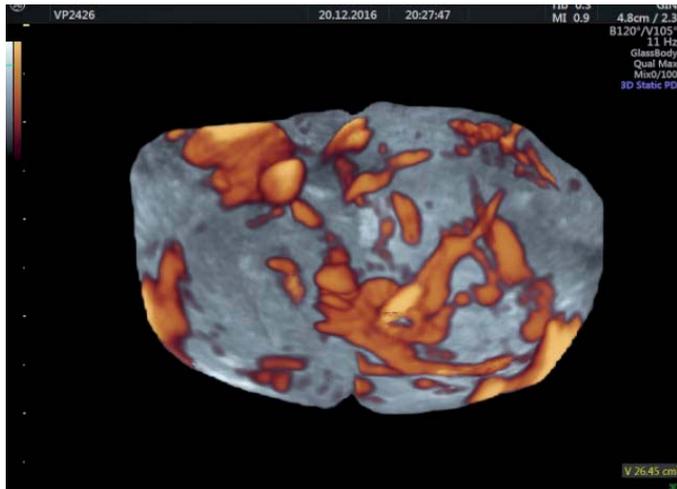


Ilustración 166: Modo Glass Body Angio power Doppler.

Indice de Vascularización (IV)	13,146
Indice de Flujo (IF)	39,148
Indice vascularización flujo (IVF)	5,146

**4º Estudio: Recuento de Folículos antrales del ovario izquierdo caso 7: día 11 del ciclo**

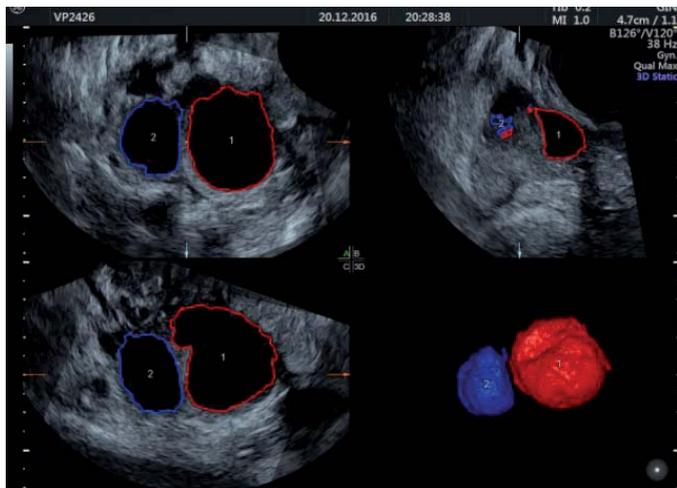


Ilustración 167: Modo SonoAVC: Recuento de 2 folículos antrales en el ovario izquierdo.

**4º Estudio: Análisis volumétrico de los folículos antrales del ovario izquierdo caso 7: día 11 del ciclo**

Nº folículo	d(V)	dx	dy	dz	Mean d	Volumen
1	25,8	30	26	24,1	26,7	8,98
2	19,,6	23,7	21	16,1	20,2	3,94

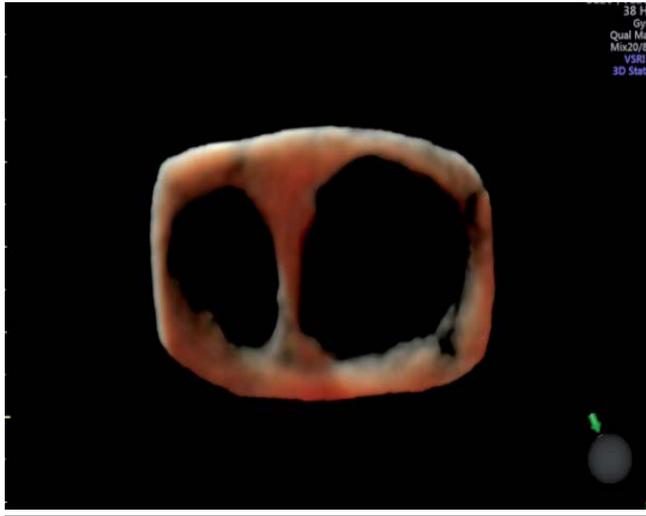


Ilustración 168: HD Live: Ovario izquierdo con sus folículos.

**Análisis del estudio del caso 7**

Se han realizado 4 estudios después del reimplante.

La paciente quedó gestante de forma espontánea 3 ciclos después.

Podemos observar como el ovario izquierdo, que es donde se reimplantó el tejido ovárico, tiene una gran capacidad funcional. Permitiendo ver el crecimiento folicular y comportándose como un ovario funcionalmente activo con un recuento folicular en el estudio 3 de cuatro (a los 15 meses del reimplante) y en el estudio 4 de cinco (a los 25 meses del reimplante).

En el estudio 4 objetivamos el cambio en la vascularización en función del momento del ciclo ovárico.

Indice de Vascularización (IV)	5,491	10,220
Indice de Flujo (IF)	45,069	40,574
Indice vascularización flujo (IVF)	2,475	4,147

El mayor éxito sin duda fue la recuperación de la función ovárica normal y la gestación espontánea de la paciente, con el posterior parto y recién sano.

## CASO 8

Paciente diagnosticada a los 32 años de carcinoma ductal infiltrante de mama izquierda.

Se realizó mastectomía radical modificada con vaciamiento axilar, seguida de radioterapia y hormonoterapia.

A la paciente posteriormente se le realizó mastectomía profiláctica contralateral por mutación BRCA 1+.

Estadaje: pT1 pN (3/18) M0.

Características de tumor:

- Carcinoma ductal infiltrante de mama izquierda. Grado IIB Luminal B. Bordes libres.
- Receptores hormonales positivos: Receptores de Estrógenos: 100%, Receptores de progesterona: 40%. Her2 negativo -/+++ . Ki-67: 20%.
- Estudio de extensión negativo.
- Se realizó extracción de la corteza ovárica derecha previo al inicio del tratamiento oncológico.
- Mutación BRCA 1+.

### A) Antecedentes ginecológicos previos:

- Menarquia: 13 años. Fórmula menstrual: 3/28. G0
- Tratamiento con anticonceptivos 18 meses.
- Antecedentes familiares de cáncer: Abuelo paterno neoplasia de cólon a los 69 años, abuelo materno neoplasia de próstata a los 80 años.

### B) Antecedentes quirúrgicos: No

### C) Tratamiento oncológico:

Quimioterapia tras preservación de la corteza ovárica.

El esquema fue TAC 6 ciclos. Se administró a la paciente Taxol (75mg/m<sup>2</sup>) + Adriamicina (50mg/m<sup>2</sup>) + Ciclofosfamida (500mg/m<sup>2</sup>) intravenoso cada 21 días durante 6 ciclos.

La paciente posteriormente recibió 25 sesiones de radioterapia por el número de ganglios afectos. Y tratamiento hormonal con tamoxifeno durante 5 años.

A los 10 meses de finalizar la quimioterapia, durante el tratamiento con tamoxifeno, la paciente recuperó las menstruaciones y se añadió zoladex al tratamiento, finalizando en diciembre 2016.

#### D) Preservación de la corteza ovárica:

Extracción	Febrero 2011
Reimplante	-

Se realizó la extracción de corteza ovárica derecha en febrero de 2011 por laparoscopia cuando la paciente tenía 32 años antes del inicio del tratamiento gonadotóxico.

#### E) Evolución hormonal

Post reimplante:					
FECHA	25/2/2011	14/6/2011	13/6/2014	27/3/2017	20/4/2017
FASE DEL CICLO	Pre-tratamiento	QT	Hormonoterapia	Post-hormonoterapia	Post-hormonoterapia
FSH mUI/ml	1,6	96,9	2,6	7,7	30,8
LH Mui/ml	1,5	72,8	0,6	4,9	22,1
ESTROGENOS pg/ml		<10	<12	40,7	<5
HAM ng/ml	3,08	0,14	0,10	<0,10	<0,10

Pre- reimplante:							
FECHA	25/2/2011	14/6/2011	11/7/2011	17/10/2011	3/2/2012	28/5/2012	6/2/2013
FASE DEL CICLO	Pre-tratamiento	QT	QT	Hormonoterapia	Hormonoterapia	Hormonoterapia	Hormonoterapia
FSH mUI/ml	1,6	96,9	129,7	81,7	44,8	3,2	3,2
LH Mui/ml	1,5	72,8	66	45,3	31,7		
ESTROGENOS pg/ml		<10	5		740,8	<12	
HAM ng/ml	22	0,14			<0,10	0,40	<0,10

	13/6/2014	9/6/2015	19/4/2016	1/2/2017	27/2/2017	27/3/2017	20/4/2017
<b>FASE DEL CICLO</b>	Hormono- terapia	Hormono- terapia	Hormono- terapia				
<b>FSH mUI/ml</b>	2,6	2,8	2,7	9,8	21,9	7,7	30,8
<b>LH Mui/ml</b>	0,6	0,5	0,6	4,5	17,9	4,9	22,1
<b>ESTROGENOS pg/ml</b>	<12	<25	<25	<25	<25	40,7	<5
<b>PROGESTERONA ng/ml</b>			0,21	0,15	0,15	1,6	1
<b>HAM ng/ml</b>	0,10	0,10		0,02	0,05	<0,10	<0,10

### E) Variación de los ciclos menstruales:

La paciente presentaba menstruaciones regulares de duración 3 días cada 28 días. Al inicio de la quimioterapia la paciente dejó de menstruar y entró en amenorrea. A los 10 meses de haber finalizado la quimioterapia la paciente recuperó las menstruaciones por lo que se añadió zoladex al tratamiento.

Tras la finalización del tamoxifeno y el zoladex la paciente tuvo una menstruación a los 3 meses. Posteriormente menstruaciones irregulares hasta el momento.

### F) Evaluación ecográfica de la función ovárica:

Se realizan dos análisis ecográficos antes del reimplante de la corteza ovárica 3 y 4 meses después del cese del tratamiento con tamoxifeno y zoladex.

Reimplante	No	
Estudio 1	3 meses después de dejar el tratamiento con tamoxifeno y zoladex	32 años
Estudio 2	4 meses después de dejar el tratamiento con tamoxifeno y zoladex	

**Estudio 1 caso 8: 3 meses después de dejar el tratamiento con tamoxifeno y zoladex**

**Ovario derecho:**

<b>OVARIO DERECHO</b>	
Volumen cm3	0,861
Tamaño cm	1,06 x 1,37
Número de folículos	0
Volumen folículos ováricos cm3	0
Indice de vascularización (IV)	6,714
Indice de flujo (IF)	29,411
Indice de Vascularización flujo (IVF)	1,975
Cuerpo Luteo	-

**Estudio 1º Estudio de la vascularización ovario derecho caso 8:**



Ilustración 169: Angio Power Doppler 3D: Vascularización volumétrica del ovario derecho..

Indice de Vascularización (IV)	6,714
Indice de Flujo (IF)	29,411
Indice vascularización flujo (IVF)	1,975

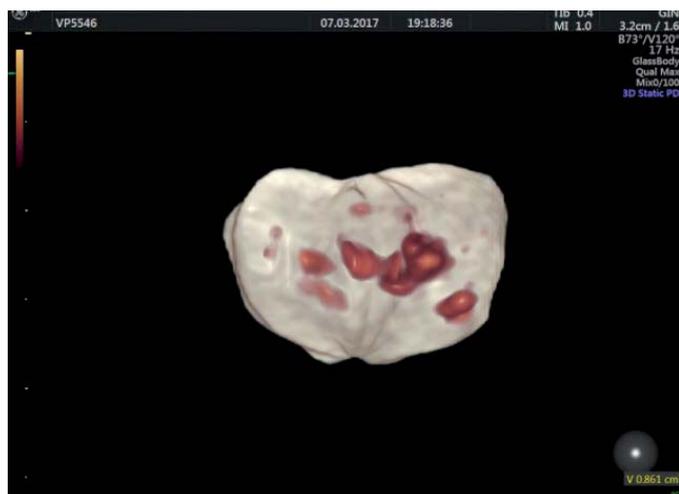


Ilustración 170: HD Live Silueta Flujo. Vascularización del ovario derecho.

### Valoración volumétrica ovario derecho caso 8:

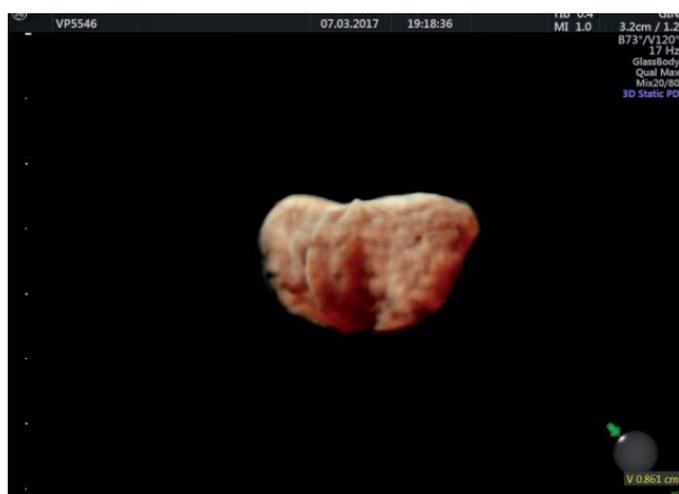


Ilustración 171: Modo Hdlive: Volumen ovario derecho 0,861 cm<sup>3</sup>.

**Ovario izquierdo Caso 8: 3 meses después de dejar el tratamiento con Tamoxifeno y Zoladex.**

Ovario Izquierdo	
Volumen	4,42
Tamaño	1,8 x 9,9
Número de folículos	1
Volumen folículos ováricos	0,22
Indice de vascularización % (IV)	2,807
IF INDICE DE FLUJO (IF)	24,358
Indice Vascularización flujo (IVF)	0,684

**Estudio del tamaño del ovario izquierdo caso 8:**

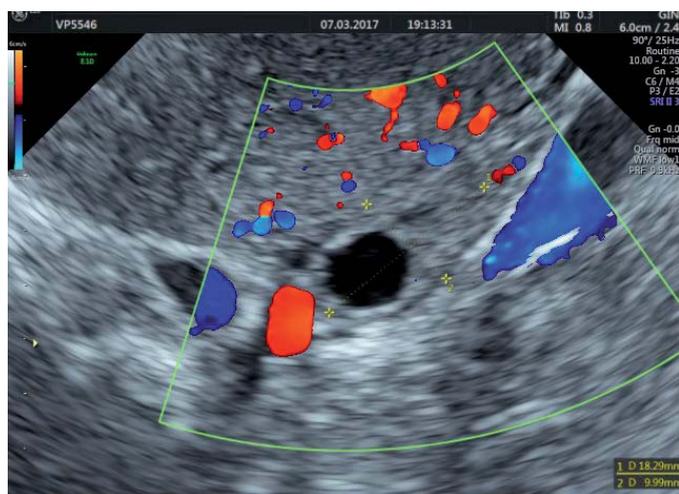


Ilustración 172: Tamaño ovario izquierdo 18,2 x 9,99 mm.

Estudio de la vascularización ovario izquierdo caso 8:

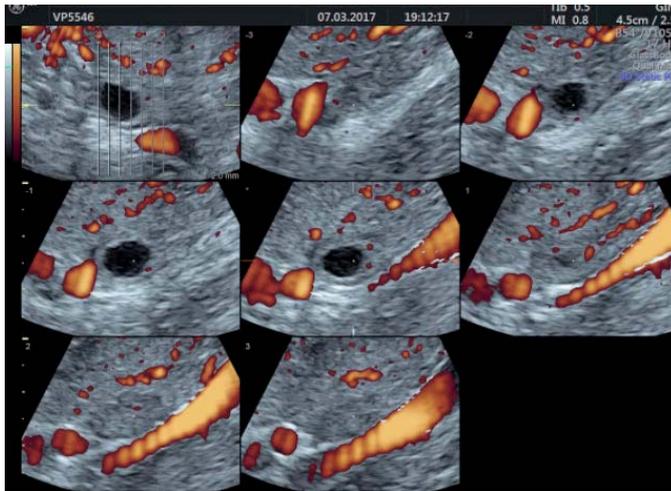


Ilustración 173: 3D TUI.: Vascularización volumétrica del ovario izquierdo.

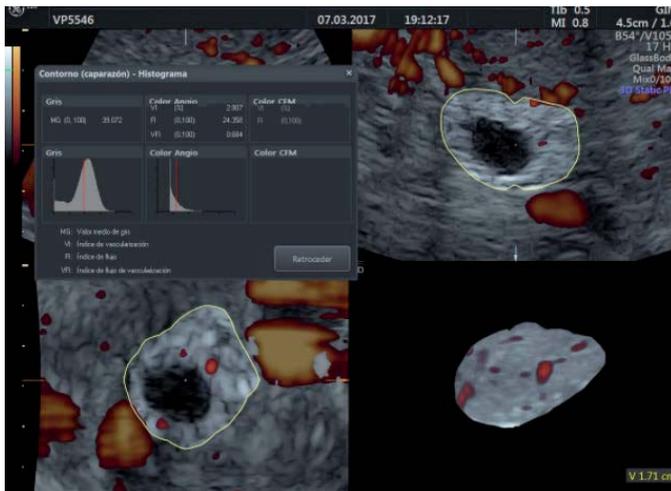


Ilustración 174: Glass Body Angio power Doppler: Vascularización volumétrica del ovario izquierdo.

Indice de Vascularización (IV)	2,807
Indice de Flujo (IF)	24,358
Indice vascularización flujo (IVF)	0,684

Valoración volumétrica ovario izquierdo caso 8:

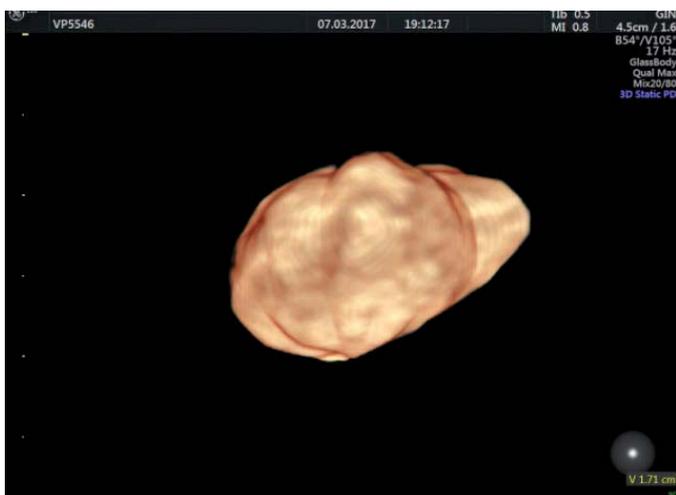


Ilustración 175: HD Live: Representación del volumen ovario izquierdo 1,71 cm3.



Ilustración 176: Hdlive: Representación de la vacuación volumétrica del ovario izquierdo.

Nos permite introducirnos dentro del ovario y poder analizar con precisión

### Recuento de Folículos antrales del ovario izquierdo caso 8:

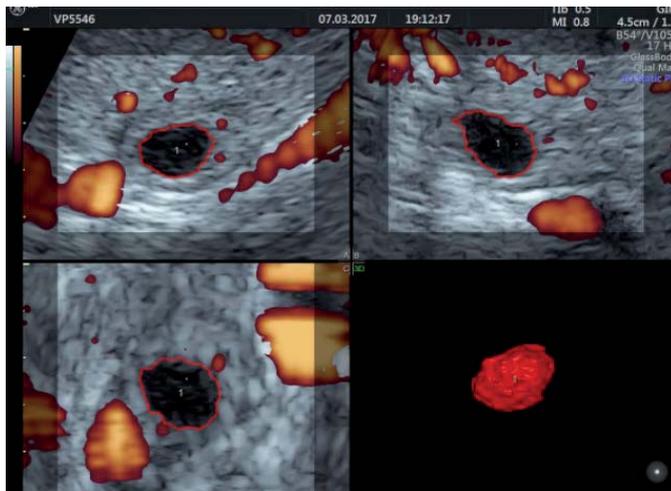


Ilustración 177: Modo SonoAVC: Recuento de 1 folículo antral en el ovario izquierdo.

### Análisis volumétrico de los folículos antrales del ovario izquierdo:

Nº folículo	d(V)	dx	dy	dz	Mean d	Volumen
1	7,5	9,8	7,7	5,7	7,7	0,22

### Estudio morfología uterina y Endometrio:

Espesor endometrial mm	5,3
------------------------	-----



Ilustración 178: Reconstrucción uterina 3D.

**Segundo estudio ecográfico de caso 8: 4 meses después de dejar el tratamiento con tamoxifeno y zoladex**

**Ovario derecho Caso 8:**

OVARIO DERECHO	
Volumen cm <sup>3</sup>	0,75
Tamaño cm	1,8 x 1,34
Número de folículos	0
Volumen folículos ováricos cm <sup>3</sup>	-
Índice de vascularización (IV)	1,224
Índice de flujo (IF)	21,708
Índice de Vascularización flujo (IVF)	0,226
Cuerpo Luteo	-

**Estudio 2º de la vascularización ovario derecho caso 8:**



Ilustración 179: Angio Power Doppler 3D: Vascularización volumétrica del ovario derecho.

Doppler.

Indice de Vascularización (IV)	1,224
Indice de Flujo (IF)	21,708
Indice vascularización flujo (IVF)	0,226

**Estudio 2º Valoración volumétrica ovario derecho caso 8:**



Ilustración 180: Modo Hdlive: Volumen ovario derecho 0,750 cm3.

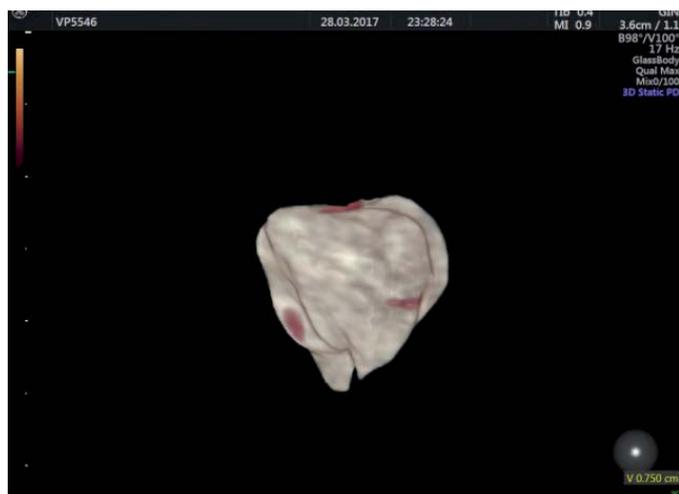


Ilustración 181: HDlive Silueta-Flujo: Volumen ovario derecho.

**Ovario izquierdo Caso 8: 4 meses después de dejar el tratamiento con Tamoxifeno y Zoladex.**

Ovario Izquierdo	
Volumen	4,42
Tamaño	15,2 x 12
Número de folículos	0
Volumen folículos ováricos	-
Indice de vascularización % (IV)	5,100
IF INDICE DE FLUJO (IF)	28,197
Indice Vascularización flujo (IVF)	1,461
Cuerpo Luteo	no

### Estudio de la vascularización ovario izquierdo caso 8:

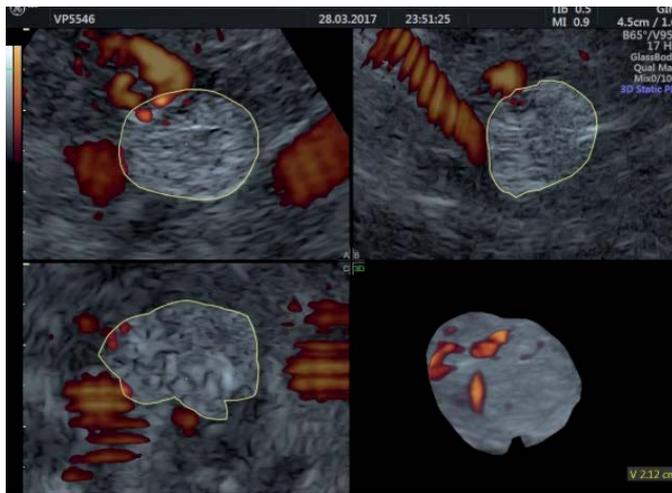


Ilustración 182: VOCAL-angio Power Doppler: Vascularización volumétrica del ovario izquierdo.

Indice de Vascularización (IV)	5,100
Indice de Flujo (IF)	28,197
Indice vascularización flujo (IVF)	1,461

### Estudio 2º Valoración volumétrica ovario izquierdo caso 8:

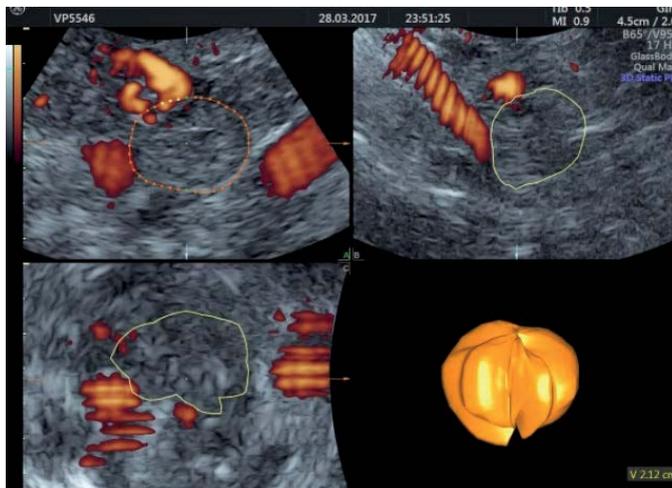


Ilustración 183: Modo Vocal: Volumen ovario izquierdo 2,12 cm3.

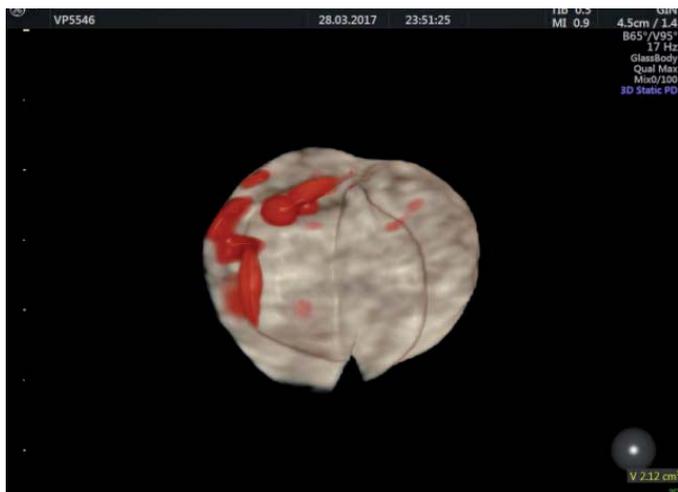


Ilustración 184: Hd live Silueta-flujo: Representación de la vascularización volumétrica del ovario izquierdo.



Ilustración 185:Hd live: Reconstrucción volumétrica del ovario izquierdo.

Estudio morfología uterina y Endometrio:

Espesor endometrial mm	5,3
------------------------	-----



Ilustración 186: Reconstrucción uterina 3D,



Ilustración 187: Reconstrucción uterina 3D.



## Tablas

Tabla 4: Resumen

Caso	Estudio	Reimplante	Edad estudio	Meses post-reimplante	Volumen ovárico izquierdo cm3	Volumen ovárico derecho cm3
1	1°	Post-reimplante	43	61	11,72	2,55
	2°	Post-reimplante	45	88	5,36	-
2	1°	Post-reimplante	43	6	10,84	-
	2°	Post-reimplante	46	50	6,22	-
3	1°	Post-reimplante	35	9	1,22	1,46
4	1°	Pre-reimplante	39	-	2,2	0,31
5	1°	Pre-reimplante	39	-	15,02	1,94
	2°	Post-reimplante	40	3	16,03	0,57
6	1°	Pre-reimplante	41	-	6,12	0,26
	2°	Post-reimplante	41	3	6,86	1,40
7	1°	Post-reimplante	41	5	4,42	-
	2°	Post-reimplante	42	14	4,21	1,52
	3°	Post-reimplante	42	15	4,99	2,06
	4°	Post-reimplante	43	25	5,66	-
8	1°	Pre-reimplante	37	-	4,42	0,86
	2°	Pre-reimplante	37	-	4,42	0,75

**Tabla 5: Estudio ovario izquierdo pre-reimplante**

Caso	Edad estudio	Meses post-preservación tejido	Implante	Volumen ovárico izquierdo cm3	Recuento folículos antrales
4	39	96	No: recidiva	2,2	2
5	39	75	Pre-reimplante	15,02	4
6	41	69	Pre-reimplante	6,12	4
8	37	73	No: pendiente	5,66	1

**Tabla 6: Estudio ovario izquierdo post-reimplante**

Caso	Edad estudio	Meses post-reimplante	Volumen ovárico izquierdo cm3	Recuento folículos antrales
1	43	61	11,72	5
2	46	50	6,22	3
3	35	9	1,22*	1*
5	40	3	16,03	8
6	41	3	6,86	9
7	43	25	5,66	5

\*La paciente fue sometida a altas dosis de quimioterapia antes de la extracción de la corteza ovárica.

**Tabla 7: Estudio volumétrico de la vascularización del ovario izquierdo pre-reimplante**

Caso	Edad estudio	Volumen ovárico izquierdo cm3	IV	IF	IVF	FSH
4	39	2,2	-	-	-	52,6
5	39	15,02	14,445	33,777	4,882	13
6	41	6,12	4,754	28,452	1,352	17
8	37	5,66	2,807	24,358	0,684	21

**Tabla 8: Estudio volumétrico de la vascularización del ovario izquierdo post-reimplante**

Caso	Edad estudio	Volumen ovárico izquierdo cm3	IV	IF	IVF	
1	43	11,72	Tecnología no existente			-
2	46	6,22	7,912	40,640	3,215	14
3	35	1,22	Tecnología no existente			172,8
5	40	16,03	17,258	49,280	8,505	6
6	41	6,86	3,888	40,125	0,832	6,6
7	43	5,66	5,491	45,069	2,475	1,9

**Tabla 9: Estudio de la vascularización del ovario izquierdo pre y post-trasplante**

Caso	Edad estudio	Edad	Volumen ovárico izquierdo cm3	RFA	IV	IF	IVF
5	Pre-reimplante	39	15,02	4	14,445	33,777	4,882
	Post-reimplante	40	16,03	8	17,258	49,280	8,505
6	Pre-reimplante	41	6,12	4	4,754	28,452	1,352
	Post-reimplante	41	6,86	9	3,888	40,125	0,832

**Tabla 10: Monitorización de la vascularización del ovario izquierdo post-trasplante durante el ciclo folicular**

Caso	Día del ciclo	Edad	Volumen ovárico izquierdo cm3	RFA	Volumen Foliculos cm3	Folículo dominante cm3	IV	IF	IVF
2	+3	43	6,22	3	0,33 0,18 0,03	0,33	7,912	40,640	3,215
	+14	46	11,77	3	0,75 0,34 0,01	0,75	13,146	39,148	5,146
7	+3	43	5,66	5	0,19 0,13 0,10 0,03 0,02	0,19	5,491	45,069	2,475
	+11	43	26,45	2	8,98 3,94	8,98	10,220	40,574	4,147

## 6. DISCUSIÓN

La preservación de la Fertilidad es una rama joven de la investigación médica.

La técnica de implante ortotópico en nuestro país fue iniciada en 2002 en Valencia. De hecho, esta técnica fue presentada por primera vez por Sánchez-Serrano en 2003 tanto en el *1<sup>st</sup> Word Congress on Ovarian Cryopreservation & Ovarian Transplantation*, celebrado en junio en Bruselas; como en el *59<sup>th</sup> Annual Meeting of the American Society for Reproductive Medicine*, celebrado ese mismo año en octubre en San Antonio, Texas.

Cuatro años después, fueron publicados los resultados a largo plazo (Sánchez 2007). Tres años antes, Donnez (2004) había publicado el primer nacido vivo tras implante.

Años después, hubo una conmoción, cuando parte de los autores de la publicación retiraron su autoría ante las dudas sobre el estado de la madre antes del implante. Al parecer, la paciente había ovulado antes del mismo. En cualquier caso, los éxitos empezaron a sucederse.

Meirow fue el segundo en publicar un nacimiento en 2005, en el *New England Journal of Medicine*, en forma de Correspondence con el título *Pregnancy after Transplantation of Cryopreserved Ovarian Tissue in a Patient with Ovarian Failure after Chemotherapy*.

Consideramos como implante ortotópico, aquel en el que el tejido se implanta sobre la médula ovárica. Algunos autores consideran ortotópico todo aquel implante que se realiza en la región anexial, sin embargo, por las connotaciones no solo de revascularización, si no también por la producción de péptidos activos y otras sustancias en la médula, que mejoran la función folicular; creemos que sólo debería considerarse ortotópico, el implante que se realiza sobre la médula.

Cuando hablamos de implante, nos referimos a trasplante avascular. La corteza ovárica extraída – procesada – transportada – congelada - almacenada en nitrógeno, ya sea líquido o en fase vapor - descongelada y transportada de nuevo; es suficiente con situarla sobre la médula ovárica para que reanude su función. Lógicamente esta debe ser lo más cuidadosa posible.

Además -y esto no es sólo, aunque sí más, un beneficio del implante en localización ortotópica- el implante puede, no sólo reanudar su propia función, si no que es capaz de “activar” el ovario contralateral.

Oktay obtuvo cuatro gestaciones en una misma mujer tras un implante heterotópico. En su primera publicación sobre el caso sugirió la hipótesis de una posible conexión a nivel de células madre germinales (Oktay 2006)

Ocho años después, (Kim, 2014), aunque el título de su publicación pudiera inducir a error, apoyaba el implante heterotópico como opción útil.

En la experiencia de Sánchez (comunicación personal, no publicada) el trasplante heterotópico, efectivamente ha resultado muy útil para el mantenimiento de la función ovárica.

Lógicamente, para obtener un embarazo y necesariamente que sea espontáneo, el lugar del implante debe ser ortotópico. No obstante, podemos confirmar con el Caso 7 que no necesariamente el embarazo se obtiene del tejido implantado, si no de la “activación” del tejido que había permanecido en la paciente. Así, en este caso, el implante se realizó sobre el ovario izquierdo, sin embargo, la ovulación, que dio lugar al nacimiento de su hija, ocurrió en el ovario derecho.

Además de la localización del implante, y por tratarse de una técnica joven, la práctica totalidad de los autores referenciados, iban descubriendo y teorizando mientras experimentaban. Así, todo se convertía en controvertible.

Para ilustrar esto, es un buen ejemplo el tema de la QT previa a la extracción de tejido ovárico. Llegó a defenderse que sería beneficioso en algunos casos el extraer el tejido ovárico tras varios ciclos de QT. Esta posición, se basaba en que la QT, si bien destruiría un porcentaje de folículos primordiales, también destruiría las células malignas que podrían haber anidado en la corteza ovárica.

Sin embargo, en general, al referirse a las indicaciones de tejido frente a embriones (es importante remarcar que en estos años los ovocitos no eran todavía una opción, ya que la congelación lenta no proveía resultados aceptables y la vitrificación no estaba desarrollada a niveles de aplicación clínica), una de estas indicaciones era “en aquellas mujeres que ya hayan iniciado la quimioterapia”. Posiblemente esto se decidió en función del peligro estimado de realizar una estimulación ovárica controlada a una mujer que esté recibiendo quimioterapia.

Curiosamente, con el paso de los años, y la introducción de la vitrificación de ovocitos, parece ser que, además, los ovocitos obtenidos tras una quimioterapia reciente no son de calidad. Así, y esto es una ventaja añadida de la criopreservación de tejido ovárico, Escribá (2012), publicó la maduración in vitro de ovocitos recuperados durante el procesamiento previo a la congelación de tejido ovárico. En este estudio, los ovocitos recuperados de pacientes que habían recibido QT previamente no maduraron; y sí lo hicieron el resto.

Existe otra discusión estéril y trasnochada en nuestra opinión. Se trata de enfrentar la criopreservación de tejido ovárico con la vitrificación de ovocitos. Ambas dos tienen sus ventajas e inconvenientes y, lo que es más importante y productivo, son combinables.

En agosto de este año 2017 cumplirán ocho años los gemelos nacidos tras la combinación de implante de tejido ovárico y vitrificación de ovocitos (Sánchez 2010). Estos niños fueron los primeros gemelos nacidos en el mundo usando la técnica de reimplante de tejido ovárico, también los primeros tras haber sufrido la madre un cáncer de mama y los primeros con la combinación de las dos técnicas.

Este mismo caso, sirve para ilustrar la utilidad del implante de tejido ovárico para el mantenimiento de la función hormonal (Silber 2016). La madre de los gemelos, a sus 47 años, sigue teniendo menstruaciones regulares.

Del mismo modo *La Ley* fue por detrás de la práctica de esta técnica dado su carácter innovador. Así, aspectos como la *obligatoriedad* de que la paciente esté libre de enfermedad en el momento del implante es discutible; como lo son otros muchos aspectos.

Al hablar del tema en congresos específicos, siempre se decía, de forma casi dogmática “El reimplante se realiza una vez la paciente está libre de enfermedad”. Sin embargo, no es necesariamente así. Algún oncólogo aducía que no tenía por qué dar permiso a una paciente para recibir el implante, que ella es libre de decidir.

La preservación de la corteza ovárica, en pacientes diagnosticadas de cáncer, seguida de reimplante sigue considerándose, hoy en día, como una estrategia experimental.

Sin embargo, esto no es así en todo el mundo. El reimplante de tejido ovárico en pacientes empezó a realizarse en varios países de forma prácticamente simultánea. Bélgica, Israel, Dinamarca y España.

En Israel, el profesor Meirou, en 2015 acudió con sus resultados al Ministerio de Sanidad y solicitó que dejara de ser una técnica experimental. Ante los resultados, las autoridades sanitarias la aprobaron como práctica clínica.

Del mismo modo el profesor Oktay recientemente ha sugerido esto mismo en Estados Unidos.

Centrándonos en los resultados del implante de tejido ovárico, ocurren varios hechos susceptibles de discusión:

El tiempo que transcurre entre el implante y la reanudación de la función ovárica es muy variable y difícil de correlacionar con factores concretos.

Otros factores, como podrían ser la edad, el tamaño de la/s pieza/s implantada/s, la enfermedad de base u otros; no se correlacionan con el tiempo que transcurre hasta que el ovario vuelve a funcionar. Es más, tampoco se correlacionan de una forma clara con el tiempo que dura la función ovárica ni con los resultados reproductivos.

Además, curiosamente, las determinaciones hormonales en general y de HAM en particular, no tienen la capacidad predictiva en mujeres que han sido sometidas a implante de tejido ovárico, como sí la tienen fuera de este contexto. Así, a pesar del descenso de los niveles HAM, el trasplante de la corteza ovárica es capaz de mantener la función ovárica durante un largo periodo de tiempo. (Silber 2016).

Esto último hace necesario mejorar el “diagnóstico reproductivo” de estas pacientes; en las que, mucho más que cualquier mujer que no haya sufrido un cáncer, se convierte en esencial.

Aquí es donde entra de forma trascendente la ecografía.





## 7. CONCLUSIONES

1. Con todas las tecnologías ecográficas que hemos empleado y que nada tienen que ver con las ecografías transvaginales hoy en uso, hemos demostrado claramente que sí es posible controlar, no sólo el volumen si no el recuento de folículos antrales en corteza trasplantada.

De los ocho casos estudiados, se observa un aumento del volumen ovárico izquierdo (ovario receptor del implante) en los dos casos con estudio pre y post-reimplante (casos cinco y seis, tabla 4).

Igualmente, se concluye que la diferencia entre el volumen del ovario receptor y del dador (el derecho) sí son distintos. Siendo mayor el ovario que recibe (tabla 4).

2. Los modos inverso, AVC, VOCAL, HD Live, Silueta y nicho nos han permitido conocer hoy el recuento de folículos antrales existentes, en tejidos pre y post trasplante.

Hemos comprobado que cuando las pacientes no reciben el reimplante, el recuento de folículos antrales es más bajo, que si se comparan con las pacientes que lo reciben (tablas 5-6).

La administración de quimioterapia previa a la extracción puede comprometer la viabilidad del tejido preservado (caso 3).

Recibir el reimplante incrementa el número de folículos antrales (tabla 6). Además, es capaz de rescatar folículos del ovario contralateral (caso 6 y 7).

3. Los estudios ecográficos vaginales, combinados con las determinaciones hormonales, nos han mostrado que la corteza trasplantada, recupera la función hormonal y la vascularización ovárica total y folicular.

Los valores de la FSH (tablas 2 y 3) vuelven a valores normales, excepto si la paciente recibió quimioterapia antes de la preservación de la corteza (caso3).

El reimplante se acompaña de un evidente aumento de los índices de flujo (tablas 4 y 5).

4. En relación a la vascularización ovárica, técnica que no hemos visto realizada en la literatura mundial, observamos que los índices de flujo en los casos estudiados pre y post-reimplante, muestran como estos aumentan y lo hacen de forma paralela al incremento del volumen ovárico y del recuento de folículos antrales (tabla 9).

5. Al analizar, si el trasplante fue capaz de alterar la foliculogénesis, estudiando dos momentos del ciclo (fase proliferativa inicial y pre-ovulatoria) hemos observado, que el crecimiento folicular dominante y los índices de vascularización y de vascularización/flujo incrementaron, como si fuesen ovarios no trasplantados.

6. De los ocho casos, dos no fueron trasplantadas (un caso por recidiva de la neoplasia y otro caso por estar pendiente de reimplante).

El caso 3 fue tratado con quimioterapia previamente a la extracción de la corteza. No hubo aumento de volumen ovárico ni de folículos antrales ni de vascularización, ni gestación.

De los cinco casos restantes, dos quedaron gestante (20%), una de forma espontánea (caso 7) y otra (caso 1) tras inducción de la ovulación. Este último un embarazo gemelar primero de España con esta tecnología, y uno de los primeros del mundo.

**Concluimos que el reimplante de corteza ovárica, es una opción válida para conservar la función ovárica y consecuentemente la fertilidad, en mujeres que van a ser sometidas a tratamientos por neoplasias malignas, especialmente mujeres muy jóvenes.**



## 8. ABREVIATURAS

AA: Agentes Alquilantes

ACO: Anticonceptivos orales

aGnRH: Análogos de la hormona liberadora de gonadotrofinas

*ASRM: American Society for Reproductive Medicine*

BEACOPP: Bleomicina + Etopósido + Doxorrubicina + Ciclofosfamida + Vincristina + Procarbacin + Prednisona

BMO: Biopsia de Médula Ósea

BTCV: Banco de Tejidos de la Comunidad Valenciana

CCO: Criopreservación Corteza Ovárica

CFM: Ciclofosfamida

E2: Estradiol

EH: Enfermedad Hodgkin

EOC: Estimulación ovárica controlada

FEC: Fluorouracil +Epirubicina +Ciclofosfamida. T: Plaquitaxel

FOP: Fallo ovárico precoz

FP: Folículos Primordiales

MIV: Maduración in vitro

FSH: Hormona Foliculoestimulante

HAM: Hormona antimulleriana

HD Live: Alta definición en vivo.

LH: Hormona Luteotropa

MP: Menopausia Prematura

MRD: Enfermedad residual mínima

PF: Preservación de Fertilidad

PG: Progesterona

QT: Quimioterapia

RC: Remisión completa

RFA: Recuento de folículos antrales

RT: Radioterapia

Sono AVC: Recuento de volumen automatizado general con sonografía

TAC: Paquitaxel + Adriamicina + Ciclofosfamida. AC: Adriamicina + Ciclofosfamida

TMX: Tamoxifeno. aGnRH: Análogo de la hormona liberadora de gonadotropinas

TRA: Técnicas de Reproducción Asistida

TUI: imagen tomográfica ultrasónica

VOCAL: Virtual Organ Computer–Aided anaLysis

## 9. BIBLIOGRAFÍA

- Andersen CY, Rosendahl M, Byskov AG:  
Two successful pregnancies following autotransplantation of frozen/thawed ovarian tissue.  
Hum Reprod 2008;23:2266–2272
- Andersen CY, Silber SJ, Bergholdt SH, Jorgensen JS, Ernst E:  
Long-term duration of function of ovarian tissue transplants: case reports. Reprod Biomed Online 2012;25:128–132
- Anderson RA, Cameron DA:  
Assessment of the effect of chemotherapy on ovarian function in women with breast cancer.  
J Clin Oncol 2007;25:1630–1631
- Anderson RA, Themmen AP, Al-Qahtani A, Groome NP, Cameron DA:  
The effects of chemotherapy and long-term gonadotrophin suppression on the ovarian reserve in premenopausal women with breast cancer.
- Aydin Y, Celiloglu M, Koyuncuoglu M, Ulukus C:  
Follicular dynamics and apoptosis following unilateral oophorectomy.  
Syst Bio Reprod Med 2010;56:311–317
- Baird DT, Webb R, Campbell BK, Harkness LM, Gosden RG:  
Long-term ovarian function in sheep after ovariectomy and transplantation of autografts stored at -196 C.  
Endocrinology 1999 140(1):462-471
- Bedaiwy MA, Hussein MR, Biscotti C, Falcone T:  
Cryopreservation of intact human ovary with its vascular pedicle.  
Human Reprod 2006;21:3258-3269
- Bleyer WA:  
The impact of childhood cancer on the United States and the world.  
CA Cancer J Clin 1990;40:355–367
- Bonilla Musoles, F. Raga, F:  
Marcadores ecográficos de la ovulación y la función lútea.  
Mercé, LT Marcadores ecográficos en reproducción Distr Shering-Plough 2010, p. 11  
Byrne J:
- Infertility and premature menopause in childhood cancer survivors.  
Med Pediatr Oncol 1999; 33:24-28  
Callejo J, Salvador C, Miralles A:  
Long-term ovarian function evaluation after autografting by implantation with fresh and frozen-thawed human ovarian tissue.  
J Clin Endocrinol Metab 2001; 86(9):4489-4494

Callejo J, Salvador C, Gonzalez-Nunez S:  
Live birth in a woman without ovaries after autograft of frozen-thawed ovarian tissue combined with growth factors.  
J Ovarian Res 2013;6:33

Candy CJ, Wood MJ, Whittingham DG:  
Restoration of a normal reproductive lifespan after grafting of cryopreserved mouse ovaries.  
Hum Reprod 2000; 15:1300-4

Cil AP, Bang H, Oktay K:  
Age-specific probability of live birth with oocyte cryopreservation: an individual patient data meta-analysis.  
Fertil Steril 2013;100:492-499

Cobo A, Kuwayama M, Perez S, Ruiz A, Pellicer A, Remoh J:  
Comparison of concomitant outcome achieved with fresh and cryopreserved donor oocytes vitrified by the Cryotop method.  
Fertil Steril 2008;89:1657-64

Cobo A, Vajta G, Remohí J:  
Vitrification of human mature oocytes in clinical practice.  
Reprod Biomed Online 2009;19 (suppl) 4:4385-4386

Cobo A, Diaz C:  
Clinical application of oocyte vitrification: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials.  
Fertil Steril 2011;96:277-285

Cobo A, Garcia-Velasco JA, Domingo J, Remoh J, Pellicer A:  
Is vitrification of oocytes useful for fertility preservation for age-related fertility decline and in cancer patients?  
Fertil Steril 2013;99:1485-1495

Deansley R:  
Immature rat ovaries grafted after freezing and thawing.  
J Endocrinol 1952 11:197-200

Deanesly R:  
Immature rat ovaries grafted after freezing and thawing.  
J Endocrinol 1954;11:197- 200

Deanesly, R. & Parkes, AS:  
Delayed development of grafts from frozen ovarian tissue.  
J Endocrinol 1957 14, 374-379

Deanesly, R:  
Egg survival in immature rat ovaries grafted after freezing and thawing.  
Proc roy Soc, Belgium, 1957 147, 412

Demeestere I, Simon P, Buxant F:  
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.  
Human Reprod 2006; 21(8):20101-2014

- 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;12:1437-1442
- Demeestere I, Simon P, Dedeken L:  
Live birth after autograft of ovarian tissue cryopreserved during childhood.  
Hum Reprod 2015;30:2107-2109
- Dittrich R, Hackl J, Lotz L, Hoffmann I, Beckmann MW:  
Pregnancies and live births after 20 transplantations of cryopreserved ovarian tissue in a single center.  
Fertil Steril 2015;103:462-468
- Donnez J, Dolmans MM, Demylle D:  
Livebirth after orthotopic transplantation of cryopreserved ovarian tissue.  
Lancet 2004;364:1405-1410
- Donnez J, Martinez-Madrid B, Jadoul P, Van Langendonck A, Demylle D, Dolmans MM:  
Ovarian tissue cryopreservation and transplantation: a review.  
Hum Reprod Update 2006 12 , 519-535
- Donnez J, Squifflet J, Van Eyck AS, Demylle D, Jadoul P, Van Langendonck A, Dolmans MM:  
Restoration of ovarian function in orthotopically transplanted cryopreserved ovarian tissue: a pilot experience.  
Reprod Biomed 2008 Online 16, 694-704
- Donnez J, Jadoul P, Squifflet J, Van Langendonck A, Donnez O, Van Eyck AS, Marinescu C, Dolmans MM:  
Ovarian tissue cryopreservation and transplantation in cancer patients.  
Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol 2010 24 , 87-100
- Donnez J, Silber S, Andersen CY, Demeestere I, Piver P, Meirow D, Pellicer A, Dolmans MM:  
Children born after autotransplantation of cryopreserved ovarian tissue. a review of 13 live births.  
Ann. Med 2010 43, 437-450
- Donnez J, Silber S, Andersen CY:  
Children ovarian tissue. a review of 13 live births.  
Ann Med 2011;43:437-450
- Donnez J, Dolmans MM, Pellicer A:  
Restoration of ovarian activity and pregnancy after transplantation of cryopreserved ovarian tissue: a review of 60 cases of reimplantation.  
Fertil Steril 2013;99:1503-1513
- Donnez J, Dolmans MM, Pellicer A, Diaz-Garcia C, Sanchez Serrano M, Schmidt KT, Ernst E, Luyckx V, Andersen CY:  
Restoration of ovarian activity and pregnancy after transplantation of cryopreserved ovarian tissue: a review of 60 cases of reimplantation.  
Fertil Steril 2013 99 , 1503-1513

Donnez J, Dolmans MM:

Ovarian cortex transplantation: 60 reported live births brings the success and worldwide expansion of the technique towards routine clinical practice.

J Assist Reprod Genet 2015;32:1167-1170

Donnez J, Dolmans MM, Diaz C, Pellicer A:

Ovarian cortex transplantation: time to move on from experimental studies to open clinical application.

Fertil Steril 2015;104:1097-1098

Escribá MJ, Grau N, Escrich L, Novella-Maestre E, Sánchez-Serrano M:

Spontaneous in vitro maturation of oocytes prior to ovarian tissue cryopreservation in natural cycles of oncologic patients.

J Assist Reprod Genet 2012 29:1261–1265

Faddy MJ, Gosden RG, Gougeon A, Richardson SJ, Nelson JF:

Accelerated disappearance of ovarian follicles in mid-life: implications for forecasting menopause.

Hum Reprod 1992;7:1342–1346

Gook DA, McCully BA, Edgar DH:

Development of antral follicles in human cryopreserved ovarian tissue following xenografting.

Hum Reprod 2001; 16(3):417-22

Gook DA, Edgar DH, Stern C:

The effects of cryopreservation regimens on the morphology of human ovarian tissue.

Mol Cell Endocrinol 2000;169:99–103

Gosden R, Nagano M:

Preservation of fertility in nature and ART.

Reproduction 2002;123:3-11

Gosden RG, Baird DT, Wade JC, Webb R:

Restoration of fertility in oophorectomised sheep by ovarian autografts stored at  $-196^{\circ}\text{C}$

Hum Reprod 1996 9:597–603

Gosden RG, Boulton M, Grant K, Webb R:

Follicular development from ovarian xenografts in SCID mice.

J Reprod Fertil 1994 101:619–623

Gosden RG, Telfer E, Faddy MJ, Brook DJ:

Ovarian cyclicity and follicular recruitment in unilaterally ovariectomized mice.

J Reprod Fertil 1989;87:257–64

Green SH, Smith AU, Zuckerman S:

The number of oocytes in ovarian autografts after freezing and thawing.

J Endocrinol 1956 13, 330-337

Greve T, Clasen-Linde E, Andersen MT:

Cryopreserved ovarian cortex from patients with leukemia in complete remission contains no apparent viable malignant cells.

Blood 2012;120:4311–4316

- Hreinsson J, Zhang P, Swahn ML:  
Cryopreservation of follicles in human ovarian cortical tissue. Comparison of serum and human serum albumin in the cryoprotectant solutions.  
Hum Reprod 2003; 18:2420-8  
ISFP Practice Committee. Recommendations for fertility preservation in patients with lymphoma, leukemia, and Breast cancer  
J Assist Reprod Genet 2012 29:465-468
- Jensen AK, Kristensen SG, Macklon KT:  
Outcomes of transplantations of cryopreserved ovarian tissue to 41 women in Denmark.  
Hum Reprod 2015;30:2838-2845
- Jeremias E, Bedaiwy MA, Nelson D:  
Assessment of tissue injury in cryopreserved ovarian tissue.  
Fertil Steril 2003; 79(3):651-653
- Kawamura K, Cheng Y, Suzuki N:  
Hippo signaling disruption and Akt stimulation of ovarian follicles for infertility treatment.  
Proc Natl Acad Sci U S A 2013;110:17474–17477
- Kim SS, Radford J, Harris M, Varley J, Rutherford AJ, Shalet S, Gosden R:  
Ovarian tissue harvested from lymphoma patients to preserve fertility may be safe for autotransplantation.  
Hum Reprod  
2001 Oct;16 2056-2060
- Kim SS, Lee WS, Chung MK, Lee HC, Lee HH, Hill D:  
Long-term ovarian function and fertility after heterotopic autotransplantation of cryobanked human ovarian tissue: 8-year experience in cancer patients.  
Fertil Steril 2009;91:2349-2354
- Kim SS:  
Revisiting the role of heterotopic ovarian transplantation: futility or fertility.  
Reproductive BioMedicine Online 2014 28, 141–145
- Kim SS:  
Ovarian tissue banking for cancer patients. To do or not to do?  
Hum Reprod 2003;18:1759–1761
- Koskas M, Uzan C, Gouy S:  
Fertility determinants after conservative surgery for mucinous borderline tumours of the ovary (excluding peritoneal pseudomyxoma).  
Hum Reprod 2011;26:808–814
- Lara HE, McDonald JK, Ahmed CE:  
Guanethidine-mediated destruction of ovarian sympathetic nerves disrupts ovarian development and function in rats.  
Endocrinology 1990; 127(5):2199-2209
- Larsen EC, Muller J, Schmiegelow K, Rechnitzer C, Andersen AN:  
Reduced ovarian function in long-term survivors of radiation and chemotherapy-treated childhood cancer.  
J Clin Endocrinol Metab 2003;88:5307–5314

Liu J, Van der Elst, Van den Broecke:  
Early massive follicle loss and apoptosis in heterotopically grafted newborn mouse ovaries.  
Hum Reprod 2002; 17:605-11.

Martínez-Madrid B, Dolmans MM, van Langendonck A:  
Freeze-thawing intact human ovary with its vascular pedicle with a passive cooling device.  
Fertil Steril 2004; 82(5):1390-1394

Más Ruíz, S:  
Ecografía normal del ovario: el ciclo ovárico. En Díaz Recasens, J. Pelayo, I. Alvaro, M. Curso teórico práctico de ecografía –Sección de Ecografía de la Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia. 2ª edición. Madrid: Equium, 2012, p. 208-215

Meirow D, Shenker JG:  
Cancer and male infertility.  
Hum Reprod 1995 23:102–131

Meirow D, Levron J, Eldar-Geva T:  
Pregnancy after transplantation of cryopreserved ovarian tissue in a patient with ovarian failure after chemotherapy.  
N Engl J Med 2005; 353:18-21

Meirow D, Baum M, Yaron R, Levron J, Hardan I, Schiff E, Nagler A, Yehuda DB, Raanani H, Hourvitz A, Dor J,  
Ovarian tissue cryopreservation in hematologic malignancy: ten years' experience.  
Leuk Lymphoma 2007 48, 1569-1576

Meirow D, Biederman H, Anderson RA, Wallace WH,  
Toxicity of chemotherapy and radiation on female reproduction.  
Clin Obstet Gynecol 2010 53 , 727-739

Meirow D, Hardan I, Dor J, Fridman E, Elizur S, Rahanani H, Slyusarevsky E, Amariglio N, Schiff E, Rechavi G, Nagler A, Ben Yehuda D:  
Searching for evidence of disease and malignant cell contamination in ovarian tissue stored from hematologic cancer patients.  
Hum Reprod 2008 23, 1007-1013

Meirow D:  
Ovarian tissue cryopreservation and transplantation: a realistic, effective technology for fertility preservation.  
Methods Mol Biol 2014 1154:455-473

Meirow D, Rahanani H, Shapira M:  
Transplantations of frozen-thawed ovarian tissue demonstrate high reproductive performance and the need to revise restrictive criteria.  
Fertil Steril 2016; 106:467-474

Meirow D, Nugent D:  
The effects of radiotherapy and chemotherapy on female reproduction.  
Hum Reprod Update 2001 7, 535-543

- Newton H, Aubard Y, Rutherford A, Sharma V, Gosden R:  
Low temperature storage and grafting of human ovarian tissue into SCID mice.  
Hum Reprod 196 11:1487–1491
- Nugent D, Meriow D, Brook PF:  
Transplantation in reproductive medicine: previous experience, present knowledge and future prospects.  
Hum Reprod Update 1997 3:267–280
- Oktay K, Gosden R, Schwarz R:  
Ovarian function after autologous transplantation of frozen-banked human ovarian tissue. ASRM 1999.
- Oktay K, Aydin BA, Karlikaya GA:  
Technique for laparoscopic transplantation of frozen-banked ovarian tissue.  
Fertil Steril 2001;75:1212-1216
- Oktay K, Bedoschi G, Pacheco FS, Turan V, Emirdar V:  
First pregnancies, live-birth, and in vitro fertilization outcomes after transplantation of frozen-banked ovarian tissue with a human extracellular matrix scaffold using robot-assisted minimally invasive surgery.  
Am J Obstet Gynecol 2016;214:94.e1-9
- Oktay K, Buyuk E, Veeck L:  
Embryo development after heterotopic transplantation of cryopreserved ovarian tissue.  
Lancet 2004; 363:837-840
- Oktay K, Economos K, Kan M, Rucinski J, Veeck L, Rosenwaks Z:  
Endocrine function and oocyte retrieval after autologous transplantation of ovarian cortical strips to the forearm.  
JAMA 2001;286:1490-1493
- Oktay K, Karlikaya G:  
Ovarian function after transplantation of frozen, banked autologous ovarian tissue.  
N Engl J Med 2000;342:1919
- 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;13:1133-1338
- Oktay K, Oktem O:  
Fertility preservation medicine: a new field in the care of young cancer survivors.  
Pediatr Blood Cancer 2009;53:267-273
- Oktay K, Oktem O:  
Ovarian cryopreservation and transplantation for fertility preservation for medical indications: report of an ongoing experience.  
Fertil Steril 2010;93:762-768
- Oktay K, Turan V, Bedoschi G, Pacheco FS, Moy F:  
Fertility Preservation Success Subsequent to Concurrent Aromatase Inhibitor Treatment and Ovarian Stimulation in Women With Breast Cancer.  
J Clin Oncol 2015;33:2424-2429

Oktay K:

Spontaneous conceptions and live birth after heterotopic ovarian transplantation: is there a germline stem cell connection?  
Hum Reprod 2006;21:1345-1348

Oktay K, Buyuk E:

Ovarian transplantation in humans: indications, techniques and the risk of reseeded cancer.  
Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 2004 113 Suppl 1 , S45-7

Oktay K, Buyuk E, Libertella N, Akar M, Rosenwaks Z:

Fertility preservation in breast cancer patients: a prospective controlled comparison of ovarian stimulation with tamoxifen and letrozole for embryo cryopreservation.  
J Clin Oncol 2005 23 ,4347-4353

Oktay K, Nugent D, Newton H, Salha O, Chatterjee P, Gosden RG:

Isolation and characterization of primordial follicles from fresh and cryopreserved human ovarian tissue.  
Fertil Steril 1999 67, 481-486

Oktay K, Sonmezer M:

Ovarian tissue banking for cancer patients: fertility preservation, not just ovarian cryopreservation.  
Hum Reprod 2004 19 ,477-480

Oktay K, Pacheco F:

Current success and efficiency of autologous ovarian transplantation with cryopreserved tissue.  
Reproductive Sciences 2017: pendiente de publicar.

Ortega JJ, Javier G, Toran N:

Testicular relapses in childhood acute lymphoid leukaemia.  
Blood 1981;26:168–179

Parkes AS, Smith AU:

Regeneration of rat ovarian tissue grafted after exposure to low temperatures.  
Proc Roy Soc Lond B Biol Sci 1953; 140:455-470

Parkes AS, Smith, AU:

Preservation of ovarian tissue at -79o C for transplantation.  
Acta endocrinol 1954 17, 313-317

Parrott DM:

Fertility of orthotopic ovarian grafts.  
Studies on Fertility 1957 9, 137

Parkes AS:

Viability of ovarian tissue after freezing.  
Proc roy Soc Belgium 1957 147: 520-527

Parkes AS:

Factors affecting the viability of frozen ovarian tissue.  
J Endocrin 1958 17, 337-339

Parrott DMV:

The fertility of mice with orthotopic ovarian grafts derived from frozen tissue.  
J Reprod Fertil 1961 1:230–241

Parrott DMV, Parkes AS:

Orthotopic ovarian grafting after sterilization by X-rays.  
Brit Vet J 1960 112, 550-554

Parrott, DMV:

Orthotopic ovarian grafts in the golden hamster.  
J1 Endocrinol 1958 19, 126-129

Poirot C, Vacher-Lavenu MC, Helardot P:

Human ovarian tissue cryopreservation: indications and feasibility.  
Hum Reprod 2002; 17(6):1447-1452

Revel A, Elami A, Bor A:

Whole sheep ovary cryopreservation and transplantation.  
Fertil Steril 2004; 82(6):1714-1715

Revel A, Laufer N, Ben Meir A, Lebovich M, Mitrani E:

Micro-organ ovarian transplantation enables pregnancy: a case report.  
Hum Reprod 2011;26:1097–1103

Revelli A, Marchino G, Dolfin E:

Live birth after orthotopic grafting of autologous cryopreserved ovarian tissue and spontaneous conception in Italy.  
Fertil Steril 2013;99:227-230

Roux C, Amiot C, Agnani G, Aubard Y, Rohrlich PS, Piver P:

Live birth after ovarian tissue autograft in a patient with sickle cell disease treated by allogeneic bone marrow transplantation.  
Fertil Steril 2010;93:2413.2415-2419

Saiduddin S, Rowe RF, Casida LE:

Ovarian follicular changes following unilateral ovariectomy in the cow.  
Biol Reprod 1970;2:408–2412

Sanchez M, Alama P, Gadea B, Soares SR, Simon C, Pellicer A:

Fresh human orthotopic ovarian cortex transplantation: long-term results.  
Hum Reprod 2007 22, 786-791

Sanchez M, Novella-Maestre E, Teruel J, Ortiz E, Pellicer A:

The Valencia Programme for Fertility Preservation.  
Clin Transl Oncol 2008 10, 433-438

Sanchez-Serrano M, Crespo J, Mirabet V, Cobo A, Escriba MJ, Pellicer A:

Fertil Steril 2010; 93:268-311

Sanchez-Serrano M, Novella-Maestre E, Rosello-Sastre E, Camarasa N, Teruel J, Pellicer A:

Malignant cells are not found in ovarian cortex from breast cancer patients undergoing ovarian cortex cryopreservation.  
Hum Reprod 2009 24 ,2238-2243

SART. Assisted reproductive technology success rates. National summary and fertility clinic reports. Atlanta, GA: Centers for Disease Control and Prevention, 2005.

Scmidt K, Byskov, Andersen A:  
Density and distribution of primordial follicles in single pieces of cortex from 21 patients and in individual pieces of cortex from three entire human ovaries.  
Human Reprod 2003; 18(6):1158-1164

Schmidt KL, Andersen CY, Loft A:  
Follow-up of ovarian function post-chemotherapy following ovarian cryopreservation and transplantation.  
Hum Reprod 2005; 20(12):3539-3546

Schnorr J, Oehninger S, Toner J:  
Functional studies of subcutaneous ovarian transplants in non-human primates: Steroidogenesis, endometrial development, ovulation, menstrual patterns and gamete morphology.  
Hum Reprod 2002; 17:612-9

Schover LR, Rybicki LA, Martin BA, Bringelsen KA:  
Having children after cancer. A pilot survey of survivors' attitudes and experiences.  
Cancer 1999; 86:697-709

Silber S:  
Unifying theory of adult resting follicle recruitment and fetal oocyte arrest.  
Reproductive BioMedicine Online 2015 31: 472-475

Silber S, Kagawa N, Kuwayama M, Gosden R:  
Duration of fertility after fresh and frozen ovary transplantation.  
Fertil Steril 2010; 94:2191-2196

Silber S, Lenahan KM, Levine DJ, Pineda JA, Gosden RG:  
Ovarian transplantation between monozygotic twins discordant for premature ovarian failure  
N Engl J Med 2005 353 58-63

Silber S, Pineda J, Lenahan K, DeRosa M, Melnick J:  
Fresh and cryopreserved ovary transplantation and resting follicle recruitment.  
Reprod Biomed Online 2015; 30:643-650

Silber S:  
Unifying theory of adult resting follicle recruitment and fetal oocyte arrest.  
Reprod Biomed Online 2015; 31:472-475

Silber S, DeRosa M, Pineda J:  
A series of monozygotic twins discordant for ovarian failure: ovary transplantation (cortical versus microvascular) and cryopreservation.  
Human Reprod 2005; 23:1531-1537

Silber S, Gosden RG:  
Ovarian transplantation in a series of monozygotic twins discordant for ovarian failure.  
N Engl J Med 2007; 356:1382-1384

- Silber S, Grudzinskas G, Gosden RG:  
Successful pregnancy after microsurgical transplantation of an intact ovary.  
N Engl J Med 2008; 359:2617–2618
- Silber S, Nagy Z, Devroey P, Camus M, Van Steirteghem AC:  
The effect of female age and ovarian reserve on pregnancy rate in male infertility:  
treatment of azoospermia with sperm retrieval and intracytoplasmic sperm injection.  
Hum Reprod 1997; 12:2693–2700
- Stern CJ, Gook D, Hale LG et al:  
Delivery of twins following heterotopic grafting of frozen- thawed ovarian tissue.  
Human Reprod 2013; 29:1828
- Stoop D, Cobo A, Silber S:  
Fertility preservation for age-related fertility decline.  
Lancet 2014; 384:1311–1309
- Suzuki N, Yoshioka N, Takae S:  
Successful fertility preservation following ovarian tissue vitrification in patients with  
primary ovarian insufficiency.  
Hum Reprod 2015; 30:608–615
- Te Velde ER, Pearson PL:  
The variability of female reproductive ageing.  
Hum Reprod Update 2002; 8:141–154
- Thomas-Teinturier C, El Fayeck C, Oberlin O:  
Age at menopause and its influencing factors in a cohort of survivors of childhood  
cancer: earlier but rarely premature.  
Hum Reprod 2013; 28:488–495
- Van der Ven H, Liebhentron J, Beckmann M:  
Ninety-five orthotopic transplantations in 74 women of ovarian tissue after cytotoxic  
treatment in a fertility preservation network: tissue activity, pregnancy and delivery  
rates.  
Hum Reprod 2016; 31:2031-2041
- Wallace WH, Kelsey TW:  
Human ovarian reserve from conception to the menopause.  
PLoS One 2010;5: e8772
- Wallace WH, Shalet SM, Hendry JH, Morris Jones PH, Gattamaneni HR:  
Ovarian failure following abdominal irradiation in childhood; the radiosensitivity of the  
human oocyte.  
Br J Radiother 1992 62:995–998
- Webber L, Davies M, Anderson R:  
ESHRE Guideline: management of women with premature ovarian insufficiency.  
Human Reprod 2016; 31:926-937
- Winkler-Crepaz:  
Follicular growth after xenotransplantation of cryopreserved/thawed human ovarian  
tissue in SCID mice: dynamic and molecular aspects.  
J Assist Reprod Genet 2016

Yasui T, Hayashi K, Mizunuma H:  
Factors associated with premature ovarian failure, early menopause and earlier onset  
of menopause in Japanese women.  
*Maturitas* 2012;72:249–255

Zapardiel I, Gil M, De Santiago J:  
Anatomía ecográfica del aparato genital femenino.  
En Díaz Recaséns, J y Bajo Arenas, JM Madrid: Equium, 2012, p 12-19

Zhai A, Axt J, Hamilton EC, Koehler E, Lowvorn:  
Assessing gonadal function after childhood ovarian surgery.  
*J Pediatr Surg* 2012;47:1272–1279

