



Departamento de Pediatría, Obstetricia y Ginecología

UNIVERSITAT DE VALÈNCIA

Facultad de Medicina y Odontología

Programa de Doctorado 3139 en Medicina

Línea de Investigación:

Obstetricia, Ginecología y Medicina Regenerativa

**Estudio cohortes ambispectivo de supervivencia y período libre de  
enfermedad en pacientes con cáncer de mama sometidas a  
estimulación ovárica controlada**

Tesis Doctoral presentada por el Licenciado en Medicina

ESTEBAN FERREIRO GARCÍA

Director de la tesis:

Dr. ELKIN ALBEIRO MUÑOZ MUÑOZ

Tutor de la tesis:

Dr. JOSÉ ALEJANDRO REMOHÍ GIMÉNEZ

Junio 2020

**INFORME DIRECTORES/AS Y TUTOR/A PARA DEPÓSITO DE TESIS**

**Director (es) / Codirector (es):**

1.- Apellidos y nombre: Muñoz Muñoz, Elkin N.I.F. 39491298E, Departamento/Instituto: IVIRMA Centro: Vigo

**Tutor o tutora (si procede)**

Apellidos y nombre: Remohí Giménez, José Alejandro N.I.F. 24307995P, Departamento/Instituto: Pediatría, Obstetricia y Ginecología Centro: Facultad de Medicina y Odontología

Directores/as y tutor/a, respectivamente, de la tesis doctoral: "Estudio cohortes ambispectivo de supervivencia y periodo libre de enfermedad en pacientes con cáncer de mama sometidas a estimulación ovárica controlada"

de D. Esteban Ferreiro García,

estudiante del Programa de Doctorado **3139 Medicina** (RD99/2011) en Medicina de la Universitat de València, emiten informe favorable (*favorable/desfavorable*) para la realización del depósito y la defensa de la tesis doctoral.

Fecha: 2020-05-18

Fdo.: Muñoz Muñoz, Elkin



Director/a

Fdo.: Remohí Giménez, José Alejandro



Tutor/a

**ESCUELA DOCTORAL  
UNIVERSITAT DE VALÈNCIA**

## AGRADECIMIENTOS

- A las mujeres que hayan colaborado en el estudio.
- A mis padres por haberme enseñado tantas cosas y haberme ayudado tanto en mi evolución como persona y profesional.
- A mi hermana Begoña y mis sobrinos/as por apoyarme en los momentos más difíciles.
- A Sonia, la mujer de mi vida, por su paciencia y cariño al acompañarme cada día en estas aventuras.
- A mi hija María por haber llegado y convertirse en mi proyecto más importante.
- A Agustina Ramos Gutiérrez por ayudarme con la recogida de datos.
- Al Dr. Nicolás Garrido Puchalt por su apoyo a nivel estadístico.
- Finalmente, al Dr. Elkin Muñoz Muñoz por haber creído en mí y haberme dedicado su tiempo para orientarme en esta investigación.



*“Lo que embellece al desierto –dijo el principito- es que esconde un pozo en cualquier parte...”*

-Antoine de Saint-Exupéry



## ÍNDICE

– Lista de abreviaturas .....	9
– Lista de tablas .....	11
– Lista de figuras .....	13
<b>Introducción</b> .....	15
– Quimioterapia en cáncer de mama .....	18
– Preservación de la fertilidad de pacientes con cáncer de mama .....	22
– Asociación entre estimulación ovárica y cáncer .....	27
– ¿Cómo estimular a una paciente con cáncer de mama? ...	29
– Respuesta a la estimulación ovárica en pacientes oncológicas.....	31
– ¿Es seguro estimular a pacientes con cáncer? .....	33
<b>Material y métodos</b> .....	37
– Aspectos éticos .....	39
– Población de estudio .....	40
– Objetivo .....	41
– Protocolo de estimulación ovárica .....	41
– Recuperación de ovocitos y vitrificación .....	42
– Seguimiento .....	43
– Análisis estadístico .....	43
<b>Resultados</b> .....	45
– Epidemiología y características del tumor .....	47
– Características del tratamiento .....	49

– Supervivencia libre de enfermedad y supervivencia	
general .....	51
<b>Discusión</b> .....	59
<b>Conclusiones</b> .....	113
<b>Bibliografía</b> .....	117
<b>Anexos</b> .....	153



## LISTA DE ABREVIATURAS

- AC: doxorubicina y ciclofosfamida
- AMH: hormona antimulleriana
- ASCO: American Society of Clinical Oncology
- CAF: ciclofosfamida, doxorubicina y fluorouracilo
- CEF: ciclofosfamida, epirubicina y fluorouracilo
- CC: citrato de clomifeno
- CMF: ciclofosfamida, metotrexato, fluorouracilo
- COX2: ciclooxigenasa 2
- ADN: ácido desoxirribonucleico
- EGFR: receptor del factor de crecimiento epidérmico
- ESMO: Sociedad Europea de Oncología Médica
- FIV: fecundación in vitro
- EOC: estimulación ovárica controlada
- FAC: fluorouracilo, doxorubicina y ciclofosfamida
- FEC: fluorouracilo, clorhidrato de epirubicina y ciclofosfamida
- FSH: hormona foliculoestimulante
- FSHr: hormona foliculoestimulante recombinante
- GnRH: hormona liberadora de gonadotropina
- hCG: gonadotropina coriónica humana
- HER2: receptor 2 de factor de crecimiento epidérmico humano
- IC: intervalo de confianza
- ICSI: microinyección intracitoplasmática de espermatozoides
- LH: hormona luteinizante
- NS: no significativo

OMS: Organización Mundial de la Salud

PPAR $\gamma$ : receptor de peroxisoma-proliferador-activado gamma

QT: quimioterapia

RE: receptor de estrógenos

REDECAN: Red Española de Registros de Cáncer

RFA: recuento de folículos antrales

RP: receptor de progesterona

RT: radioterapia

SEER: Surveillance, Epidemiology, and End Results

SEOM: Sociedad Española de Oncología Médica

T: paclitaxel

TAC: docetaxel, doxorubicina y ciclofosfamida

TCH: docetaxel, carboplatino y trastuzumab

UCI: Unidad de Cuidados Intensivos

## LISTA DE TABLAS

Tabla I. Subtipos de cáncer por características biológicas

Tabla II. Riesgo de amenorrea permanente en mujeres tratadas con QT y RT

Tabla III. Características epidemiológicas y tumorales del grupo expuesto y no expuesto

Tabla IV. Tratamientos recibidos en el grupo expuesto y no expuesto

Tabla V. Recidivas en expuestas y no expuestas a EOC

Tabla VI. Muertes en expuestas y no expuestas a EOC

Tabla VII. Recidivas con EOC prequirúrgica y postquirúrgica

Tabla VIII. Muertes con EOC prequirúrgica y postquirúrgica

Tabla IX. Supervivencia de pacientes con cáncer de mama según diferentes estadios y subtipos moleculares

Tabla X. Autotrasplante de corteza ovárica



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Curvas de Kaplan-Meier de supervivencia libre de enfermedad en mujeres expuestas o no expuestas a EOC

Figura 2. Curvas de Kaplan-Meier de supervivencia general en mujeres expuestas o no expuestas a EOC

Figura 3. Curvas de Kaplan-Meier de supervivencia libre de enfermedad en pacientes expuestas a EOC antes o después de una cirugía de mama

Figura 4. Curvas de Kaplan-Meier de supervivencia general en pacientes expuestas a EOC antes o después de la cirugía de mama

Figura 5. Patrón de recaída bimodal

Figura 6. Vías de carcinogénesis de los estrógenos



# ***INTRODUCCIÓN***





El cáncer de mama es la neoplasia más común entre las mujeres afectando al 12 % de ellas (1). En el año 2018 se diagnostican 2,08 millones de nuevos casos en todo el mundo, lo que representa casi 1 de cada 4 casos de cáncer en mujeres, según datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS) (2, 3).

En Europa, la incidencia de cáncer de mama en mujeres premenopáusicas es de 30/100 000 (4).

El estudio de Pollán muestra un incremento de la incidencia del cáncer de mama del 1,7 % en España en el período de 1980 a 2004. Este incremento es más marcado en el grupo de mujeres menores de 45 años. El cambio en el estilo de vida (sobre todo la demora de la maternidad) se consolida como el factor de riesgo de mayor peso en este grupo (5). En las últimas décadas somos testigos de una importante demora de la maternidad. En 1975, la edad media materna al nacimiento del primer hijo/a en nuestro país es de unos 25 años, frente a los 31 años en el 2019 (6). El 30 % de las primíparas en 2016 son mayores de 35 años. Es decir, cada vez es mayor el número de mujeres que son diagnosticadas de un cáncer de mama sin tener completados sus deseos genésicos.

Los avances alcanzados en el diagnóstico y el tratamiento de esta enfermedad provocan un descenso en la tasa de mortalidad. En España es de 11,8/100 000, una cifra que se encuentra entre las más bajas de Europa. Esto representa un aumento en la tasa de supervivencia del 81 % al 87 % (2, 7). La reducción de la mortalidad viene seguida de un segundo objetivo: mejorar la calidad de vida de

estas mujeres. Es entonces cuando se plantea la necesidad de avanzar en otros aspectos como la preservación de la fertilidad.

Los tratamientos oncológicos afectan a la capacidad reproductiva de la mujer. Este efecto adverso de la quimioterapia (QT) y la radioterapia (RT) es ampliamente conocido. Estudios de los años setenta ya hablan de depleción folicular y alteración funcional del ovario (8, 9).

### Quimioterapia en cáncer de mama

El objetivo de la QT es erradicar la enfermedad micrometastásica responsable de la recidiva y progresión del cáncer. Existen evidencias de que la QT aumenta el período libre de enfermedad y la supervivencia global (10, 11, 12).

En general, se acepta que seis ciclos de QT basada en antraciclinas reducen el riesgo de muerte anual un 38 % en mujeres menores de 50 años, y el 20 % en mujeres entre 50 y 69 años. Las antraciclinas, son claramente más eficaces que la QT tipo CMF (ciclofosfamida, metotrexato, fluorouracilo) (10, 11, 12). La adhesión de Taxanos combinada con antraciclinas mejora la tasa de supervivencia en tumores biológicamente agresivos (11).

La elección de tratamiento adyuvante se basa en el tamaño tumoral calculado por el diámetro mayor de la pieza tras exéresis (valoración macroscópica), la extensión de la enfermedad a los ganglios axilares o de la cadena mamaria interna ipsilateral (otras localizaciones son consideradas metastásicas), el grado histológico y la expresión o no

de receptores hormonales y de HER2 (receptor 2 de factor de crecimiento epidérmico humano) (Tabla I) (12, 13, 14).

<b>Tabla I. Subtipos de cáncer por características biológicas</b>				
<b>Subtipo</b>	<b>Características biológicas</b>	<b>Incidencia</b>	<b>Tratamiento</b>	<b>Observaciones</b>
<b>Luminal A</b>	RE+, RP+ (Alta expresión)  Ki67 bajo  HER2 Neu -	15 %	Tamoxifeno 5 años (Bifosfonatos iv 2 a 3 años) QT en los tumores de mayor tamaño	
<b>Luminal B</b>	RE+, RP+ (baja expresión)  Ki 67 alto (>14 %)  HER2+ / EGFR+	60 %	AC × 4 + 4 T  TAC × 6  Tumor >1 cm: FEC/FAC × 6 seguido de tratamiento antiestrogénico 5 años	HER2+ trastuzumab  Tumores >2 cm o ganglios + Se considera QT neoadyuvante
<b>HER2+</b>	RE- HER2+	10 % (más frecuente en mujeres jóvenes)	AC × 4 + 4 T + trastuzumab seguido de trastuzumab 1 año TCH × 6 seguido de trastuzumab 1 año	

<b>Fenotipo basal (triple negativo)</b>	RE-, RP-, HER2-	15 % (más frecuente en mujeres jóvenes)	QT adyuvante en tumores de alto grado o >1 cm	
Tabla basada Breast Cancer and Fertility Preservation (15) Receptor de estrógeno (RE) Receptor de progesterona (RP) Receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) Doxorubicina y ciclofosfamida (AC) Taxol (T) Docetaxel, doxorubicina y ciclofosfamida (TAC) Fluorouracilo, clorhidrato de epirubicina y ciclofosfamida (FEC) Fluorouracilo, doxorubicina y ciclofosfamida (FAC) Docetaxel, carboplatino y trastuzumab (TCH)				

Siguiendo las recomendaciones de las guías clínicas, la gran mayoría de las pacientes con cáncer de mama deben recibir QT, excepto en algunos casos de tumores pequeños (<0,5 cm) y sin afectación ganglionar (12, 13, 15).

El mecanismo exacto mediante el cual la QT daña la función gonadal es incierto. Durante el tratamiento, la aparición de amenorrea refleja la pérdida de los folículos en crecimiento. Además, el descenso de la hormona antimullerinana (AMH) (expresada por las células de la granulosa de folículos primordiales) comparado con el descenso parcial de la inhibina B (producido por los folículos antrales) refleja el daño de la QT en los folículos primordiales y preantrales (16, 17, 18).

El daño en la función ovárica viene determinado por varios factores: el agente quimioterápico, la dosis empleada, la edad a la que se inicia, la reserva ovárica en el momento del tratamiento y la asociación de RT (19, 20, 21). Se utilizan distintos parámetros para cuantificar el daño: la AMH, el recuento de folículos antrales (RFA) y el volumen ovárico medido por ecografía (16, 17).

El efecto de la QT sobre la fertilidad se puede manifestar por esterilidad, fallo ovárico oculto, menopausia precoz o amenorrea post tratamiento (Tabla II).

<b>Tabla II. Riesgo de amenorrea permanente en mujeres tratadas con QT y RT</b>	
Alto riesgo >80 %	RT externa que incluya la región pélvica  CMF, CEF, CAF × 6 ciclos. Mujeres menores de 40 años
Riesgo Intermedio	CMF, CEF, CAF × 6 ciclos. Mujeres de 30 años a 39 años  AC × 4 en mujeres mayores 40 años
Bajo Riesgo <20 %	CMF, CEF, CAF × 6 ciclos en mujeres menores de 30 años  AC × 4 en mujeres menores de 40 años
Riesgo muy bajo o no riesgo	Vincristina Metotrexato Fluorouracilo
Riesgo desconocido	Taxanos Oxaliplatino Irinotecán Anticuerpos monoclonales (trastuzumab,

	bevacizumab, cetuximab) Inhibidores de la tirosina quinasa (erlotinib, imatinib)
Tabla basada American Society of Clinical Oncology (ASCO) recommendations on fertility preservation in cancer patients (19) Ciclofosfamida, epirubicina, fluorouracilo (CEF) Ciclofosfamida, doxorubicina, fluorouracilo (CAF)	

La ciclofosfamida presenta un alto riesgo de gonadotoxicidad. Por el contrario, los esquemas basados en vincristina, 5-fluorouracilo o metotrexato tienen un bajo riesgo. Se desconoce el riesgo que pueden tener los taxanos y los anticuerpos monoclonales (trastuzumab) de inducir amenorrea. Sin embargo, su uso junto a las antraciclinas (AC, FEC, FAC) forma parte de las recomendaciones de las guías clínicas (12,19). Un metaanálisis resalta el potencial gonadotóxico de esta asociación de taxanos al esquema AC en mujeres mayores de 40 años o que tienen una reserva ovárica disminuida (22).

### **Preservación de la fertilidad de pacientes con cáncer de mama.**

Las opciones para la preservación de la fertilidad en pacientes oncológicas son: la criopreservación embrionaria, la vitrificación de ovocitos, la congelación de tejido ovárico y la maduración in vitro de ovocitos. Estas dos últimas, de uso menos extendido, son consideradas técnicas experimentales, aunque hay grupos que llevan años trabajando en ellas (23, 24, 25).

La reducción de la gonadotoxicidad de la QT que se consigue con el uso concomitante de análogos de la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) es un tema controvertido. Aunque los datos perdidos debilitan la interpretación de los hallazgos, la administración de goserelina con QT parece proteger frente al fallo ovárico, reduciendo el riesgo de menopausia precoz y mejora las perspectivas de fertilidad (26). Durante la QT, el principal agente protector para la prevención del fallo ovárico sería la administración de agonistas de la GnRH. Se establece la siguiente hipótesis: la administración de agonistas de la GnRH antes y durante la QT, podría reducir la gonadotoxicidad, mediante la inhibición del eje hipofisario-gonadal, produciendo la senescencia de la función ovárica (27). Existen estudios que intentan explicar el efecto protector de la goserelina mediante una variedad de mecanismos que incluyen la disminución de la perfusión ovárica y uterina, el aumento de los mecanismos anti-apoptóticos del ovario y la protección de las células madre germinales (28). Estudios iniciales con animales demuestran que la administración de agonistas de la GnRH reduce la pérdida de folículos primordiales tras la QT, en macacos Rhesus y ratones (29, 30, 31, 32). Estas experiencias sirven de base para que, a partir de 2001, Blumenfeld inicie varios ensayos en humanos (27). Sin embargo, se discute que este efecto protector se mantenga en humanos. El ovario humano tiene menor concentración de receptores de GnRH y esto puede justificar que el efecto de los agonistas no sea el mismo que en modelos animales. Así, los resultados de ensayos clínicos posteriores son contradictorios. Los resultados de los primeros ensayos clínicos indican que los agonistas

de la GnRH son un factor protector frente al daño ovárico. Sin embargo, estos estudios son cuestionados por su falta de randomización y controles adecuados, así como por otros errores metodológicos significativos. Como consecuencia, se realizan varios ensayos clínicos a gran escala, controlados, prospectivos y aleatorizados que obtienen resultados contradictorios.

Existe un estudio a gran escala que evalúa 281 mujeres con cáncer de mama que reciben solo QT o QT con agonistas de la GnRH (28). Describen un descenso significativo en el fallo precoz de la función ovárica, 12 meses post-tratamiento, en mujeres que reciben el agonista de la GnRH (8 % vs. 25 %).

Dos ensayos adicionales de 78 y 100 mujeres con cáncer de mama obtienen resultados opuestos (33, 34). En el estudio de Badawy y cols. encuentran que el 69 % de aquellas que reciben tratamiento concomitante con agonistas de la GnRH durante la QT reanudan una actividad ovárica normal, comparado con solo un 26 % de las pacientes que no reciben agonistas (33). El segundo estudio no encuentra diferencias entre los grupos, un año después del tratamiento, en cuanto a la continuación de la menstruación y a los marcadores (hormonales o ecográficos) de función ovárica (34).

El estudio clínico sobre la prevención de la menopausia precoz (POEMS por sus siglas inglés) recluta y randomiza 257 mujeres con cáncer de mama y receptores hormonales negativos. La tasa de fallo ovárico prematuro (POI por sus siglas inglés), demostrado por la ausencia de la menstruación y los niveles de la hormona foliculoestimulante (FSH) en los dos años post-tratamiento,



solamente es adecuada para 135 de esas mujeres. En el grupo que recibe tratamiento con agonistas de la GnRH, la tasa de fallo ovárico es significativamente menor que en el grupo de solo tratamiento con QT (8 % comparado con 22 %) (26). Más mujeres consiguen embarazo en el grupo con goserelina comparado con el grupo con solo QT (21 % vs. 11 %). Hay una serie de limitaciones en este ensayo clínico: los datos son recogidos de la mitad de las pacientes randomizadas, el criterio diagnóstico de fallo ovárico prematuro genera dudas, el uso de FSH e inhibina B como marcadores de reserva ovárica en vez de AMH o RFA (menos fluctuantes con el ciclo menstrual), el ensayo no es ciego o controlado y no utiliza placebo. Además, algunos cuestionan el cálculo de la tasa de embarazo realizado en base a todas las pacientes, en lugar de en función de aquellas que intentan conseguir el embarazo (lo cual no muestra diferencias significativas entre grupos) (35).

La inconsistencia en los resultados de estos ensayos clínicos se debe a la gran variabilidad en el diseño de los estudios, incluyendo el tipo y duración de los protocolos de QT, así como a las diferentes definiciones de la terminología empleada en los resultados. El problema mayor radica en que mientras el fallo ovárico precoz es un “todo o nada determinante”, el impacto de la QT en la fertilidad implica, habitualmente, una disminución parcial de la reserva ovárica, que conduce a subfertilidad y menopausia precoz. Tales resultados requieren mediciones más precisas de la reserva ovárica, como los niveles de AMH y el recuento de folículos antrales. De este modo, es difícil explicar el papel protector de la reserva folicular de los

agonistas de la GnRH. Y más aun teniendo en cuenta que los folículos primordiales humanos no se encuentran bajo la influencia directa de las gonadotropinas (36, 37). Por lo tanto, la eficacia de la administración de agonistas de la GnRH para prevenir la gonadotoxicidad producida por la QT, sigue siendo objeto de controversia. Así, para la mayoría de las pacientes, la preservación de la fertilidad implica estrategias más “activas”, que se derivan de las técnicas de reproducción asistida (38).

La reanudación de la menstruación no debe confundirse con la preservación de la fertilidad, pues la función endocrina no garantiza la función reproductiva. Por otra parte, el período durante el cual la mujer está bajo tratamiento de QT y hormonoterapia provoca necesariamente un retraso de al menos cinco años en la búsqueda de la gestación. Por lo tanto, si se quiere ofrecer una alternativa real de preservación de la fertilidad, la recomendación actual es la criopreservación de ovocitos o embriones.

La criopreservación de embriones u ovocitos se realiza, usualmente, tras la estimulación ovárica controlada (EOC).

La vitrificación de ovocitos es la opción de elección para las pacientes sin pareja, las que no deseen recurrir a semen de donante o aquellas que por motivos éticos o religiosos no quieren recurrir a la congelación de embriones. Son necesarios estudios que evalúen qué técnica aporta mejores resultados comparativamente (15, 39, 40, 41).

La EOC en pacientes con cáncer de mama se basa en el uso de agentes anti-estrogénicos con protocolos que pretenden ser flexibles para evitar demorar el inicio del tratamiento oncológico. No hay evidencia de que la EOC y el embarazo tras superar un cáncer de mama incrementen el riesgo de recidiva (42, 43).

Se calcula que aproximadamente la mitad de las mujeres que realizan un tratamiento de preservación de la fertilidad son pacientes con cáncer de mama (20).

### **Asociación entre estimulación ovárica y cáncer.**

No hay evidencias absolutas de asociación entre EOC y cáncer. No se demuestra la relación entre la exposición a niveles hormonales suprafisiológicos en la EOC y los tumores hormono-dependientes (mama, endometrio y ovario). Los estudios publicados tienen limitaciones en cuanto al diseño y período de seguimiento (44, 45, 46).

Un estudio promovido por el National Cancer Institute busca la relación entre tratamientos de fertilidad y cáncer de mama, endometrio u ovario. Realiza un seguimiento de 12 193 mujeres tratadas por infertilidad entre 1965 y 1988 en Estados Unidos de América. Los resultados muestran un incremento de riesgo de cáncer de mama en las pacientes que usan citrato de clomifeno (CC) durante al menos 12 ciclos. Las mujeres estimuladas con gonadotropinas presentan un aumento de riesgo de cáncer de mama solamente entre las que permanecen nuligestas. Probablemente esto sea achacable a las causas subyacentes de infertilidad (47). En cuanto al

cáncer de ovario, no existe asociación con los tratamientos de fertilidad salvo en las mujeres que usan CC y permanecen nuligestas. No encuentra relación entre el uso de tratamientos de fertilidad y el cáncer de endometrio.

Un metaanálisis reciente no muestra asociación entre la EOC en tratamientos de fecundación in vitro (FIV) y la aparición de cáncer de cuello de útero, endometrio u ovario a pesar de un período de seguimiento máximo de 10 años (48). Un estudio retrospectivo de cohortes que incluye a más de veinte mil mujeres, con seguimiento medio de 15 años, muestra un mayor número de tumores borderline de ovario en pacientes sometidas a FIV comparadas con mujeres subfértiles que no realizan FIV. Esta diferencia no se mantiene para el cáncer epitelial de ovario (49, 50). Los estudios que buscan la relación entre cáncer de mama y EOC presentan resultados contradictorios. Son estudios de casos y controles, con un número insuficiente de pacientes (45, 46). Parece lógico pensar que si existiera asociación entre la EOC y el cáncer de mama, los tumores desarrollados después de estimular una mujer deberían presentar una sobreexpresión de receptores de estrógenos. Un estudio analiza las características histológicas y moleculares de los cánceres de mama diagnosticados hasta 24 meses después de la EOC. Cuando las compara con un grupo control de la misma edad sin exposición a EOC, no encuentra diferencias entre los dos grupos (51).

## ¿Cómo estimular a una paciente con cáncer de mama?

Muchos estudios muestran una relación entre los estrógenos y la proliferación de las células epiteliales en el cáncer de mama. Un ciclo convencional de FIV requiere aproximadamente de 10 a 14 días de EOC con gonadotropinas para lograr el desarrollo multifolicular. Esto se traduce en una elevación del estradiol sérico que llega a multiplicar por 15 sus niveles fisiológicos. Para evitar esta elevación de estradiol en pacientes con cáncer de mama, se utilizan protocolos de estimulación con gonadotropinas asociadas a tamoxifeno o inhibidores de la aromataasa (letrozol) (52, 53, 54, 55, 56). El pico máximo de estradiol en los protocolos de EOC con tamoxifeno o con letrozol es ligeramente superior a los niveles alcanzados en un ciclo natural, de 300 pg/ml a 350 pg/ml (39).

El protocolo más extendido para estimular pacientes con cáncer de mama consiste en la administración vía oral de letrozol 5 mg desde el día dos o tres del ciclo, en condiciones de reposo ovárico (FSH < 13 UI/l y estradiol < 60 pg/ml). Después de dos días de tratamiento con letrozol se añade una dosis variable de FSH recombinante (FSHr), de 150 UI/d a 300 UI/d. Cuando la concentración de estradiol sérico sobrepasa los 250 pg/ml o los folículos alcanzan un tamaño superior a 13 mm de diámetro medio, se inicia la administración de antagonistas de la GnRH, para evitar el pico prematuro de hormona luteinizante (LH). Se monitoriza el crecimiento folicular hasta que al menos dos de los folículos alcancen los 20 mm de diámetro medio y en ese momento se desencadena la ovulación con agonistas de la GnRH. Al comparar el uso de agonistas de la GnRH frente a la

gonadotropina coriónica humana (hCG) como desencadenante de la ovulación se comprueba que los agonistas consiguen un descenso mayor y más rápido de los niveles de estradiol sin disminuir el número de ovocitos maduros obtenidos en la punción ni la tasa de fecundación (52, 53).

Este protocolo con letrozol junto con FSHr e inducción final de la ovulación con agonistas (triptorelina) se aplica de forma extendida, independiente del fenotipo molecular del cáncer de mama (57).

No hay evidencia de que la exposición de los ovocitos al letrozol aumente los defectos congénitos al nacimiento. Sin embargo, se desconoce el efecto en caso que los embriones sean expuestos a letrozol sistémico (56, 57). Novartis, la empresa encargada de la producción de Femara (letrozol), no apoya el uso de este fármaco como inductor de la ovulación. En España está regulado el empleo de medicamentos autorizados en condiciones diferentes a las descritas en su ficha técnica (58).

En pacientes oncológicas no es conveniente el retraso en el inicio de la EOC. Por ello, es usual comenzar la estimulación fuera de los tres primeros días del ciclo menstrual. La estrategia varía en función del momento del ciclo:

En fase proliferativa precoz, cuando no existe todavía dominancia folicular, se inicia la estimulación. Si el ciclo está en fase proliferativa después de la dominancia folicular y el tamaño folicular es  $\geq 18$  mm de diámetro medio, se realiza la punción del folículo y vitrificación del ovocito. Posteriormente, se aplica el antagonista de GnRH durante cinco días. Si el folículo dominante es menor de 18 mm, se estimula con dosis mínimas de FSH, hasta que el folículo alcance los 18 mm de

diámetro medio y se procede a la punción folicular. Después se administra el antagonista de la GnRH durante cinco días.

Cuando la paciente está en la fase secretora del ciclo, se confirma la ovulación mediante ecografía y determinación analítica de estradiol y progesterona. Se administra el antagonista de la GnRH durante cuatro a cinco días y posteriormente se inicia la estimulación. El objetivo de los antagonistas de la GnRH es lograr niveles de estradiol por debajo de 60 pg/ml y no retrasar el tratamiento hasta el inicio de un nuevo ciclo de forma fisiológica (53, 59, 60).

En algunos casos se intenta aplicar gonadotropinas durante la fase secretora. Esto pretende simular la aparición de una segunda oleada de gonadotropinas endógenas que se produce de manera fisiológica. Sin embargo, la EOC que se inicia durante la fase secretora es una estrategia que puede tener resultados variables (59).

### **Respuesta a la estimulación ovárica en pacientes oncológicas**

El cáncer se asocia con un estado de catabolismo aumentado y malnutrición. Muchas pacientes experimentan pérdida de peso, que puede afectar al eje hipotálamo-hipofisario y disminuir la capacidad reproductiva. La situación de estrés psicológico puede provocar un aumento de la prolactina y de los opioides endógenos. Además, puede disminuir las gonadotropinas y, por tanto, afectar a la fertilidad (61). Es decir, la enfermedad puede afectar al ovario y la respuesta de este, incluso antes de la QT o de la RT (62).

Los estudios de reserva ovárica en los que se mide la AMH demuestran que las mujeres con cáncer tienen menores niveles de

AMH antes de recibir el tratamiento de QT que los esperados para su edad (17). El recuento de folículos antrales también es menor en mujeres con cáncer comparadas con mujeres control (16).

Algunas investigaciones hablan de la posible implicación de algunos oncogenes en la menor respuesta del ovario a la estimulación, como el BRCA1 (63).

Basándose en estas premisas, varios estudios comparan los resultados de la EOC en pacientes oncológicas y pacientes FIV no oncológicas. Un reciente metaanálisis concluye que las mujeres con cáncer sometidas a EOC para preservar la fertilidad por patología oncológica obtienen un menor número de ovocitos que las pacientes sanas de igual edad (62, 64, 65). Otros hallazgos incluyen una mayor duración de la EOC y dosis más altas de gonadotropinas en pacientes oncológicas (60).

Un trabajo de nuestro grupo demuestra que las mujeres con cáncer de mama producen 2,4 ovocitos menos que las mujeres de la misma edad estimuladas con un protocolo convencional de FIV (64). Otros grupos encuentran resultados diferentes. Oktay demuestra que el número de ovocitos y de embriones obtenidos en un grupo estimulado con letrozol es similar al de pacientes estimuladas con otros protocolos (66).

No existen estudios prospectivos aleatorios comparando el CC o el tamoxifeno más gonadotropinas con un protocolo convencional con solo gonadotropinas (67).



## ¿Es seguro estimular a pacientes con cáncer?

Existen pocos estudios que evalúen el riesgo potencial de someter a pacientes con cáncer de mama a una EOC. Con el protocolo de letrozol más FSHr e inducción final de la ovulación con agonista de la GnRH, se garantizan niveles bajos de estrógenos que disminuyen el temor acerca de la seguridad de la EOC (67).

Hasta el momento, no se encuentran diferencias en la tasa de supervivencia o recurrencia del cáncer de mama en las pacientes que realizan una EOC comparadas con aquellas no expuestas a EOC. Muchos de los estudios tienen limitaciones en la metodología, como el insuficiente tamaño muestral y el período de seguimiento corto (66, 68, 69). Uno de los estudios realiza un seguimiento de pacientes durante un período de tiempo variable (de 272 días a 660 días) posterior a la EOC. No encuentra diferencias en la recurrencia del cáncer de mama cuando las comparan con pacientes no sometidas a EOC. Cuatro de las 44 pacientes en el grupo control frente a tres de las 43 pacientes en el grupo FIV. Destaca que todas las recurrencias ocurren en el grupo FIV con tamoxifeno y ninguna en el grupo FIV con letrozol. En el inicio de este estudio, se realiza una estimación del pronóstico de las pacientes del grupo control y FIV con el uso de la herramienta Adjuvant! Online Software, versión 7.0 (Adjuvant! Inc, San Antonio, TX) (56). Adjuvant! Online es un programa informático de acceso abierto que permite hacer predicciones sobre la probabilidad de supervivencia a diez años en pacientes con cáncer de mama en etapa temprana. El desarrollo del programa se realiza con información obtenida del registro Surveillance, Epidemiology, and

End Results (SEER). El registro SEER incluye datos de aproximadamente 10 % de las pacientes con cáncer de mama de los Estados Unidos. El programa calcula las probabilidades de supervivencia a diez años y el riesgo de recaída utilizando datos de la paciente y del tumor como la edad, tamaño tumoral, grado, estado de receptores estrogénicos, afectación de ganglios linfáticos... Este modelo está validado en países occidentales como Estados Unidos, Reino Unido, Canadá, Alemania y Holanda.

En pacientes con cáncer de mama que tienen indicación de QT, esta se suele empezar de seis a ocho semanas después de la cirugía. Sin embargo, en los estadios iniciales de la enfermedad, este tiempo se puede retrasar hasta 12 semanas sin afectar al pronóstico (70). Es posible incluso realizar dos ciclos de EOC en el intervalo de tiempo entre cirugía y el inicio de la QT. Esta estrategia obtiene mejores resultados en cuanto a número de ovocitos y embriones sin mostrar diferencias en la recurrencia (68).

En general podemos afirmar que la EOC no demora el inicio de la QT, pero es necesario que las pacientes sean remitidas a un especialista en fertilidad de forma temprana cuando se produce el diagnóstico. Es también necesario que el tratamiento de preservación de la fertilidad sea autorizado por el oncólogo/a responsable de la paciente (15, 19).

Las células mamarias tumorales y normales no responden a las gonadotropinas (FSH, LH) o al hCG (71). Por el contrario, sí existe proliferación celular y crecimiento de las líneas cancerígenas RE+ con la exposición a estrógenos y es dosis dependiente (72). La exposición a progesterona o CC evidencia un descenso en la proliferación celular de las líneas RE- con mutación de BRCA1. Por otro lado, la hCG

muestra un efecto protector (73). Estos hallazgos apoyan la idea de que la EOC con mínima elevación de los niveles de estradiol no supone un riesgo añadido para las mujeres con cáncer de mama.

Este último punto es muy importante. Por este motivo, el presente estudio tiene como objetivo evaluar los tiempos de supervivencia libre de enfermedad y de supervivencia general en mujeres con cáncer de mama en estadios precoces que se someten a EOC con letrozol asociado a FSH e inducción final de la ovulación con agonistas (triptorelina). Los resultados se comparan con las de pacientes con cáncer de mama que no se exponen a la estimulación ovárica.



***MATERIAL Y  
MÉTODOS***



## Aspectos éticos

Se obtuvo la aprobación del Comité de Ética de la Investigación de Pontevedra-Vigo-Ourense el 2016-02-23 (código de registro: 2015/675).

Este estudio se registró en ClinicalTrials.gov (NCT02745262).

Se ajustó a los requisitos legales vigentes, y en particular a la Ley 14/2007, de investigación biomédica, el Real Decreto 1716/2011, del 18 de noviembre, por el que se establecieron los requisitos básicos de autorización y funcionamiento de los biobancos con fines de investigación biomédica y del tratamiento de las muestras biológicas de origen humano, y se regularon el funcionamiento y la organización del Registro Nacional de Biobancos para investigación biomédica, la ORDEN SAS/3470/2009, de 16 de diciembre, por la que se publicaron las Directrices sobre estudios Posautorización de Tipo Observacional para medicamentos de uso humano.

Nuestra investigación respetó los principios éticos vigentes de la Declaración de Helsinki.

El tratamiento de los datos de carácter personal se ajustó a lo establecido por la normativa española sobre protección de datos de carácter personal vigente, la Ley 14/2007 de investigación biomédica, el RD 1716/2011 y el Reglamento General de Protección de Datos (RGPD) (Reglamento UE) 2016/679 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 27 de abril de 2016.

Todas las mujeres que decidieron de forma voluntaria participar en el estudio firmaron un consentimiento informado. Tomaron esta decisión tras recibir información pormenorizada sobre la preservación de la fertilidad (molestias previsibles y beneficios esperados) y las características del estudio (estudio de cohortes ambispectivo) (Anexo 1 y 2). Se accedió a sus historias clínicas y se recogió la información establecida en bases de datos codificadas (pseudoanonimizadas).

### **Población de estudio**

Este estudio de cohorte se realizó entre enero del 2008 y diciembre del 2016, e inicialmente incluyó a 338 pacientes, pero 79 pacientes se perdieron durante el seguimiento. Por lo tanto, el análisis final incluyó a 259 mujeres con cáncer de mama que iban a ser tratadas con QT. Solo se incluyeron mujeres de 18 a 40 años de edad, con cáncer de mama clasificado como estadio I o estadio II en el sistema de clasificación TNM, sin QT previa y con función ovárica conservada. Las mujeres que desearon preservar su fertilidad (n = 148) optando por vitrificar sus ovocitos fueron consideradas como el grupo expuesto. La vitrificación de los ovocitos se realizó tras el visto bueno del oncólogo/a y la firma del consentimiento informado. Las mujeres con las mismas características pero que no quisieron preservar su fertilidad se clasificaron como el grupo no expuesto (n = 111). Tomaron esta decisión tras recibir información pormenorizada sobre la preservación de la fertilidad (probablemente por ya tener su vida reproductiva completada o no tener deseos reproductivos). Para



recoger los datos de estudio, se revisaron los historiales clínicos utilizando los mismos métodos que en el grupo expuesto y no expuesto. Se completó los datos faltantes mediante entrevista. Las pacientes provinieron de las unidades de cáncer de mama de los Hospitales Universitarios de Vigo y Pontevedra. La vitrificación de ovocitos se realizó en la Clínica IVIRMA Vigo.

### **Objetivo**

El objetivo principal del estudio fue el cálculo de la supervivencia libre de enfermedad y la supervivencia general. La supervivencia libre de enfermedad se definió como la ausencia de recurrencias (locales, regionales y a distancia) y de cáncer de mama contralateral (incluido el carcinoma in situ) (74). Al calcular la supervivencia general, no se incluyeron las muertes que no estaban relacionadas con el cáncer de mama.

### **Protocolo de estimulación ovárica**

La EOC se realizó administrando letrozol 5 mg/d (Femara; Novartis, Barcelona, España) y FSH 150 UI/d a 225 UI/d (Gonal-F; Merck-Serono, Madrid, España; o Puregon; MSD, Madrid, España). Todas las mujeres comenzaron su EOC en fase folicular. Una vez que el diámetro medio del folículo principal alcanzaba los 14 mm, se administraba una dosis diaria de antagonista de GnRH (Cetrotide 0,25 mg; Merck-Serono u Orgalutran 0,25 mg; Merck Sharp & Dohme Limited, Hertfordshire, Reino Unido). Cuando tres o más folículos

alcanzaban los 20 mm, se administraba un bolo de agonista de GnRH (Decapeptyl 0,2 mg; Ipsen, Madrid, España). La recuperación de ovocitos se realizaba 36 h más tarde. Este protocolo se aplicó independientemente del estado de los receptores hormonales. Los niveles séricos de estradiol y progesterona se midieron durante la mañana del “trigger” de los ovocitos y el estradiol se volvía a medir cinco días después. El letrozol se reiniciaba un día después de la recuperación de los ovocitos, y se continuaba hasta que el nivel de estradiol bajaba por debajo de los 50 pg/ml (1 pg/ml = 0,272 405 pmol/l). Las muestras se analizaron con el sistema de inmunoensayo de enzimas Access 2 (Beckman Coulter SA, Madrid, España).

### Recuperación de ovocitos y vitrificación

Los ovocitos se recogieron por punción/aspiración folicular. Este estudio duró ocho años y, durante este tiempo, hubo cambios en los materiales. Se utilizaron dos medios diferentes. Del 2008 al 2009, todos los procedimientos se realizaron con los medios Vitrolife (Kungsbacka, Suecia), y del 2010 al 2016, todos los gametos y embriones se cultivaron en medios Global (LifeGlobal, Canadá). Los ovocitos que se recogieron se lavaron en un medio tamponado. Luego se cultivaron en un medio para fertilización a 37 °C en una atmósfera al 6 % de CO<sub>2</sub> y 20 % de O<sub>2</sub> durante tres horas. Los ovocitos se desnudaron y colocaron en hialuronidasa (80 UI/ml) y medios tamponados (1:1). Las células de la granulosa se eliminaron mediante pipeteo mecánico, antes de la vitrificación.

## Seguimiento

Se recogió la información, de forma retrospectiva y prospectiva (estudio ambispectivo), de las mujeres que habían dado su consentimiento informado. Se utilizó el momento de la cirugía definitiva como punto de partida para calcular el tiempo de supervivencia libre de enfermedad y la tasa de supervivencia general. Se realizó un seguimiento de cinco años con 107 pacientes que se operaron del 2008 al 2011. Las pacientes operadas en el 2012, 2013, 2014, 2015 y 2016 fueron seguidas de cuatro años a cinco años (36 pacientes), de tres años a cuatro años (29 pacientes), de dos años a tres años (38 pacientes), de un año a dos años (37 pacientes) y hasta un año (12 pacientes) respectivamente.

## Análisis estadístico

Los datos descriptivos se expresaron como medias y proporciones con los correspondientes intervalos de confianza del 95 % (IC del 95 %). Las pruebas de Chi-cuadrado y las pruebas t de Student se aplicaron para detectar diferencias estadísticas entre grupos, según correspondió. Para confirmar los datos categóricos ordenados que mostraron una tendencia en las comparaciones con más de dos categorías, se llevaron a cabo pruebas de asociación lineal (prueba de tendencia de Mantel-Haenszel).

La probabilidad acumulada de tener una recurrencia o morir durante el período de estudio se estimó con el método de Kaplan-Meier (con

datos censurados). Este método también proporcionó los tiempos acumulativos de supervivencia libre de enfermedad y general. Las pruebas de Mantel-Cox, Breslow (Wilcoxon generalizado) y Tarone-Ware se usaron para comparar las curvas de supervivencia entre grupos.

Los análisis estadísticos se realizaron con el software SPSS 23 (Paquete Estadístico para Ciencias Sociales, IBM Corp., EE. UU.). Un valor de  $P < 0,05$  se consideró estadísticamente significativo.

# ***RESULTADOS***



## Epidemiología y características del tumor.

El grupo expuesto y no expuesto a la EOC fueron comparables en cuanto a las características tumorales y epidemiológicas (con las salvedades de la paridad y de la edad media). El grupo expuesto fue más joven y más mujeres habían dado a luz al menos a un/a niño/a antes del diagnóstico de cáncer en el grupo no expuesto (Tabla III). Las pruebas de asociación lineal (prueba de tendencia de Mantel-Haenszel) no mostraron diferencias estadísticas entre las categorías ordenadas. Los dos grupos fueron comparables a nivel de receptores hormonales (progesterona y estradiol), fenotipos moleculares, grado histológico y estadio patológico (Tabla III). La mutación BRCA (que se asoció frecuentemente con cáncer de mama en mujeres jóvenes), estaba presente en 19 pacientes en el grupo expuesto y 3 pacientes en el grupo no expuesto (75).

<b>Tabla III. Características epidemiológicas y tumorales del grupo expuesto y no expuesto</b>			
Característica	Grupo expuesto	Grupo no expuesto	P
Edad media, años (IC 95 %)	33,6 (33,0-34,2)	36,3 (35,7-36,9)	< 0,000 1
Paridad	24/148 (16,2 %)	78/111 (70,3 %)	< 0,001
Clasificación T			No significativo (NS)
Tis	1/146 (0,7 %)	2/111 (1,8 %)	
T1	80/146 (54,8 %)	49/111 (44,1 %)	
T2	59/146 (40,4 %)	57/111 (51,4 %)	
T3	6/146 (4,1 %)	3/111 (2,7 %)	
Clasificación N			NS

N0	90/146 (61,6 %)	68/111 (61,3 %)	
N1	56/146 (38,4 %)	43/111 (38,7 %)	
Clasificación M			No aplicable
M0	146 (100 %)	111 (100 %)	
Grado histológico de Nottingham			NS
I	24/141 (17,0 %)	20/110 (18,2 %)	
II	72/141 (51,1 %)	59/110 (53,6 %)	
III	45/141 (31,9 %)	31/110 (28,2 %)	
Receptores de estrógenos			NS
Presencia	119/147 (81,0 %)	90/111 (81,1 %)	
Ausencia	28/147 (19,0 %)	21/111 (18,9 %)	
Receptores de progesterona			NS
Presencia	111/147 (75,5 %)	83/111 (74,8 %)	
Ausencia	36/147 (24,5 %)	28/111 (25,2 %)	
Fenotipo molecular			NS
RE y/o RP	116/145 (80,0 %)	91/111 (82,0 %)	
Triple negativo	23/145 (15,9 %)	14/111 (12,6 %)	
HER 2	6/145 (4,1 %)	6/111 (5,4 %)	
Tipo histológico			NS
Ductal infiltrante	136/147 (92,5 %)	103/111 (92,8 %)	
Lobulillar infiltrante	4/147 (2,7 %)	5/111 (4,5 %)	
Otros	7/147 (4,8 %)	3/111 (2,7 %)	
Estadio patológico pTNM			NS
I	53/145 (36,6 %)	34/110 (30,9 %)	
IIA	68/145 (46,9 %)	41/110 (37,3 %)	
IIB	24/145 (16,6 %)	35/110 (31,8 %)	



## Características del tratamiento

La cirugía de conservadora fue más común en el grupo expuesto a la EOC y la mastectomía fue más común en el grupo no expuesto. Además, el grupo expuesto se sometió con mayor frecuencia a cirugía de ganglio centinela y no a linfadenectomía axilar, en comparación con el grupo no expuesto.

Las pacientes de ambos grupos recibieron tratamientos hormonales similares (con tamoxifeno, antagonista de la GnRH e inhibidores de la aromatasas) y proporciones similares no recibieron tratamiento hormonal.

La terapia monoclonal fue más común en el grupo no expuesto que en el expuesto. La RT local fue más común en el grupo expuesto, pero la RT locorregional lo fue en el grupo no expuesto.

La QT neoadyuvante fue más común en el grupo no expuesto, pero la QT adyuvante lo fue en el grupo expuesto (Tabla IV).

En los ciclos de EOC, el nivel medio de estradiol en el día de activación (triggering) fue de 207 pg/ml (IC 95 %: 168,6-245,3). El tiempo medio de estimulación fue de 10,6 días (IC 95 %: 10,2-11,0), la dosis media total de FSH fue de 1 392,4 UI (IC 95 %: 1 306-1 478,7) y se vitrificó una media de 9 ovocitos (IC 95 %: 8,1-10,0).

Veinticinco pacientes regresaron a la clínica de reproducción asistida para intentar un embarazo con sus ovocitos vitrificados. En cinco casos, no se obtuvo supervivencia de los ovocitos al desvitrificar y en una paciente más no se pudo realizar la transferencia debido a la detención del desarrollo embrionario. Se lograron ocho recién nacidos vivos sanos. Una paciente sufrió un aborto espontáneo.

<b>Tabla IV. Tratamientos recibidos en el grupo expuesto y no expuesto</b>			
Tratamiento	Grupo expuesto	Grupo no expuesto	<i>P</i>
Cirugía de mama			0,012
Mastectomía	54/148 (36,5 %)	57/111 (51,4 %)	
Cirugía conservadora	94/148 (63,5 %)	54/111 (48,6 %)	
Cirugía axilar			0,007
Sin cirugía axilar	5/147 (3,4 %)	1/111 (0,9 %)	
Linfadenectomía	40/147 (27,2 %)	33/111 (29,8 %)	
Ganglio centinela	88/147 (59,9 %)	51/111 (45,9 %)	
Ambas (linfadenectomía + ganglio centinela)	14/147 (9,5 %)	26/111 (23,4 %)	
Tratamiento hormonal			NS
Tamoxifeno	119/137 (86,9 %)	91/107 (85,0 %)	
Análogos GnRH	2/137 (1,5 %)	3/107 (2,9 %)	
Inhibidores de la aromatasa	2/137 (1,5 %)	1/107 (0,9 %)	
Sin tratamiento hormonal	14/137 (10,1 %)	12/107 (11,2 %)	
Trastuzumab			0,002
Con trastuzumab	28/144 (19,4 %)	40/109 (36,7 %)	

Sin trastuzumab	116/144 (80,6 %)	69/109 (63,3 %)	
QT neoadyuvante			0,001
Con neoadyuvante	20/148 (13,5 %)	39/111 (35,1 %)	
Sin neoadyuvante	128/148 (86,5 %)	72/111 (64,9 %)	
QT adyuvante			0,001
Con adyuvante	123/148 (83,1 %)	71/111 (64,0 %)	
Sin adyuvante	25/148 (16,9 %)	40/111 (36,0 %)	
RT			0,013
No	23/132 (17,4 %)	13/110 (11,9 %)	
Local	100/132 (75,8 %)	76/110 (69,1 %)	
Locorregional	9/132 (6,8 %)	21/110 (19,0 %)	

### Supervivencia libre de enfermedad y supervivencia general

El tiempo medio de supervivencia libre de enfermedad fue de 63,9 meses (IC 95 %: 61,5-66,4) en el grupo expuesto, en comparación con 60,6 meses (IC 95 %: 56,9-64,2) en el grupo no expuesto (figura 1), sin diferencia significativa (prueba de log-rank, prueba de Breslow y prueba de Tarone-Ware).

Las recidivas ocurrieron en 9/148 mujeres (6,1 %) en el grupo expuesto y 15/111 mujeres (13,5 %) en el grupo no expuesto.

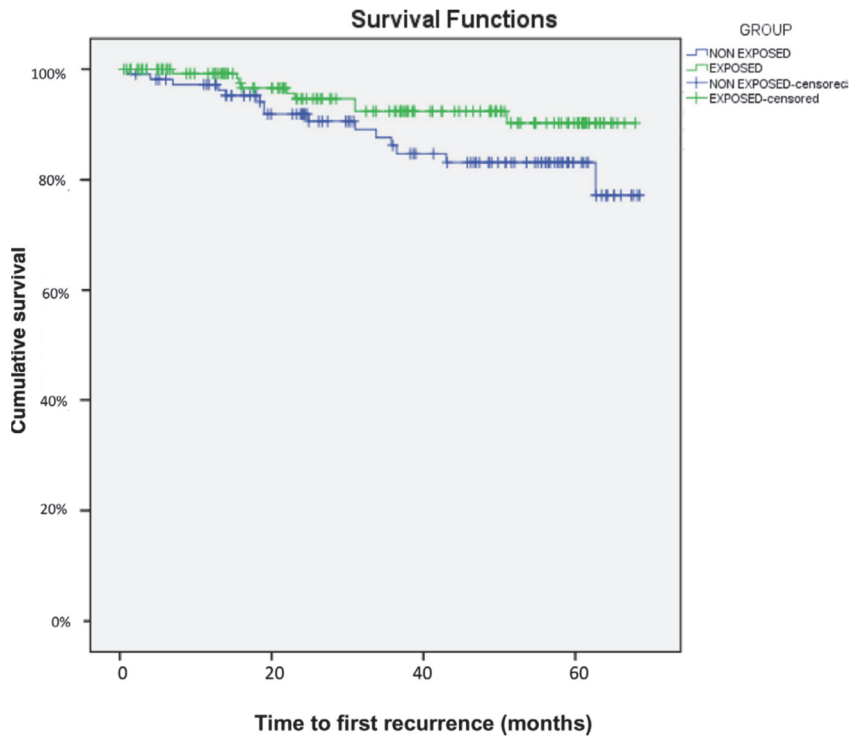
Las tasas de supervivencia general fueron comparables en ambos grupos.

Durante el período analizado, 2/148 (1,4 %) y 4/111 (3,6 %) pacientes fallecieron en el grupo expuesto y no expuesto, respectivamente.

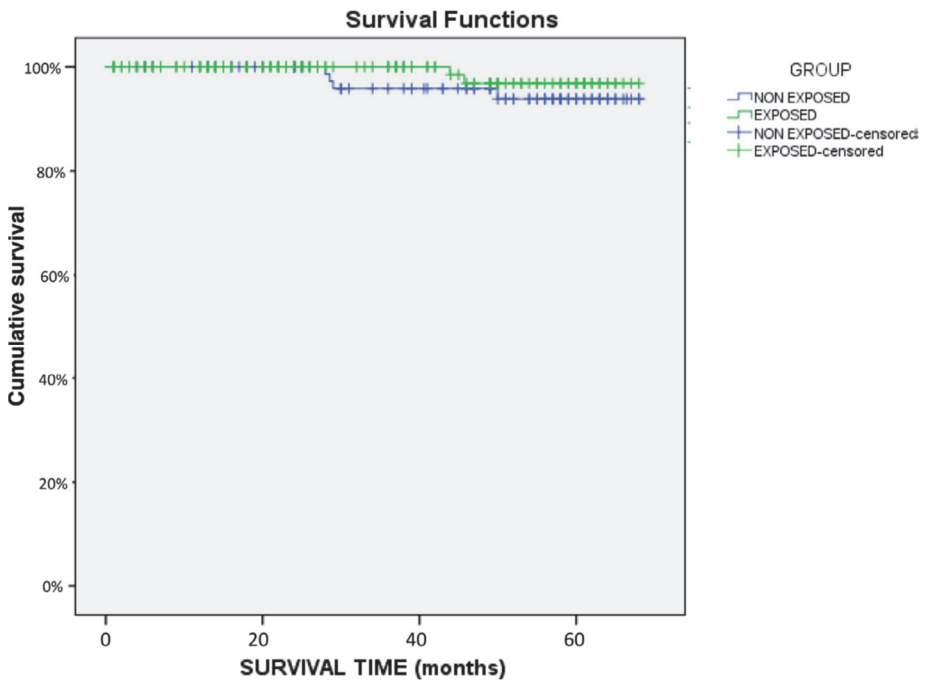
Los tiempos promedio de supervivencia general fueron de 67,2 meses (IC 95 %: 66,2-68,2) y de 65,9 meses (IC 95 %: 64,0-67,9) en el grupo expuesto y no expuesto, respectivamente (figura 2), sin

diferencias significativas (prueba de log-rank, prueba de Breslow y prueba de Tarone-Ware).

Figura 1. Curvas de Kaplan-Meier de supervivencia libre de enfermedad en mujeres expuestas o no expuestas a EOC



**Figura 2. Curvas de Kaplan-Meier de supervivencia general en mujeres expuestas o no expuestas a EOC**



Los datos de cada caso de recidiva o muerte se describieron en las tablas V y VI.

**Tabla V. Recidivas en expuestas y no expuestas a EOC**

Recidiva	Tiempo hasta el evento	Proporción acumulada de supervivencia en el momento del evento		N de eventos acumulados	N de casos restantes	IC95 INF	IC95 SUP
		Estimación	Error estimado				
No-Expuesto	1,000	0,991	0,009	1	109	97,32 %	100 %

	4,033	0,982	0,013	2	107	95,67 %	100 %
	7,000	0,972	0,016	3	103	94,14 %	100 %
	13,000	0,962	0,019	4	96	92,60 %	99,86 %
	14,000	0,952	0,021	5	95	91,13 %	99,32 %
	18,433	0,941	0,023	6	85	89,53 %	98,70 %
	19,000	0,919	0,028	8	82	86,45 %	97,30 %
	24,867	0,906	0,030	9	70	84,67 %	96,49 %
	31,000	0,891	0,033	10	61	82,65 %	95,59 %
	33,767	0,877	0,036	11	60	80,69 %	94,63 %
	35,767	0,862	0,038	12	59	78,78 %	93,62 %
	36,500	0,847	0,040	13	57	76,87 %	92,56 %
	43,000	0,831	0,042	14	52	74,82 %	91,41 %
	62,700	0,772	0,069	15	13	63,57 %	90,78 %
Expuesto	7,000	0,992	0,008	1	129	97,73 %	100 %
	15,433	0,984	0,012	2	113	96,10 %	100 %
	15,667	0,975	0,014	3	112	94,68 %	100 %
	16,000	0,966	0,017	4	110	93,34 %	99,88 %
	22,000	0,956	0,019	5	98	91,88 %	99,39 %
	23,000	0,947	0,021	6	97	90,48 %	98,84 %
	31,000	0,924	0,026	8	81	87,25 %	97,51 %
	51,000	0,903	0,033	9	43	83,82 %	96,74 %

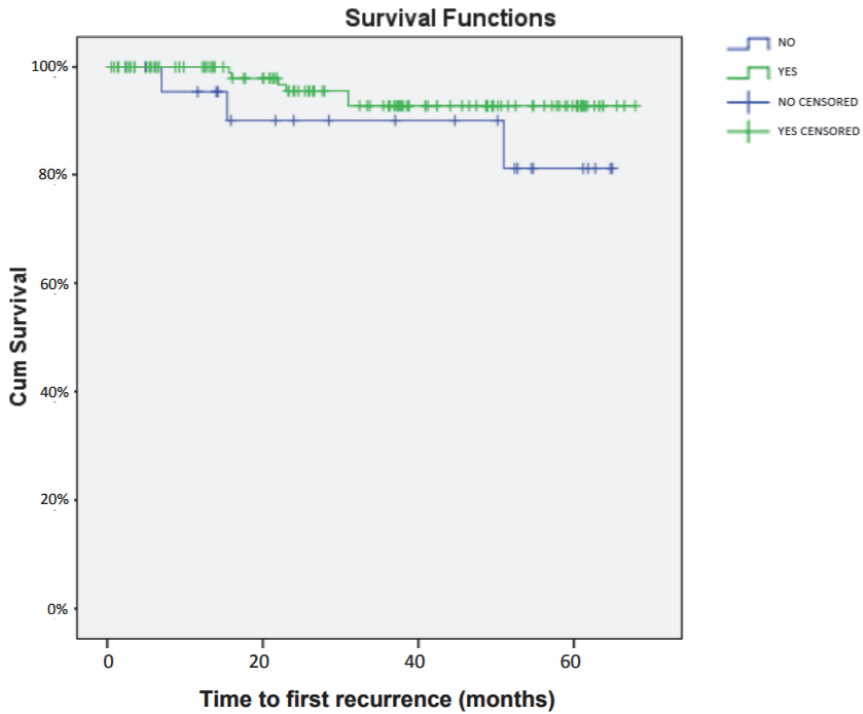
**Tabla VI. Muertes en expuestas y no expuestas a EOC**

Muerte	Tiempo hasta el evento	Proporción acumulada de sobrevida en el momento del evento		N de eventos acumulados	N de casos restantes	IC95 INF	IC95 SUP
		Estimación	Error estimado				
No-Expuesto	28,000	0,986	0,014	1	71	95,91 %	100 %
	28,567	0,972	0,019	2	70	93,43 %	100 %
	29,000	0,958	0,024	3	69	91,22 %	100 %
	50,000	0,938	0,031	4	46	87,79 %	99,80 %
Expuesto	43,900	0,984	0,016	1	63	95,40 %	100 %
	45,733	0,968	0,022	2	60	92,49 %	100 %

El método de Kaplan-Meier también se utilizó para analizar dos subgrupos del grupo expuesto; un subgrupo se sometió a la EOC antes de la cirugía del cáncer de mama (n = 25) y el otro después (n = 123). Las recidivas ocurrieron en 3/25 (12,0 %) pacientes en el grupo prequirúrgico y en 6/123 (4,9 %) pacientes en el grupo postquirúrgico, sin diferencias estadísticamente significativas.

Las tasas de recidiva fueron similares entre los grupos (prueba de log-rank, prueba de Breslow y prueba de Tarone-Ware) (figura 3).

Figura 3. Curvas de Kaplan-Meier de supervivencia libre de enfermedad en pacientes expuestas a EOC antes o después de una cirugía de mama. Línea azul: prequirúrgica; línea verde: postquirúrgica.



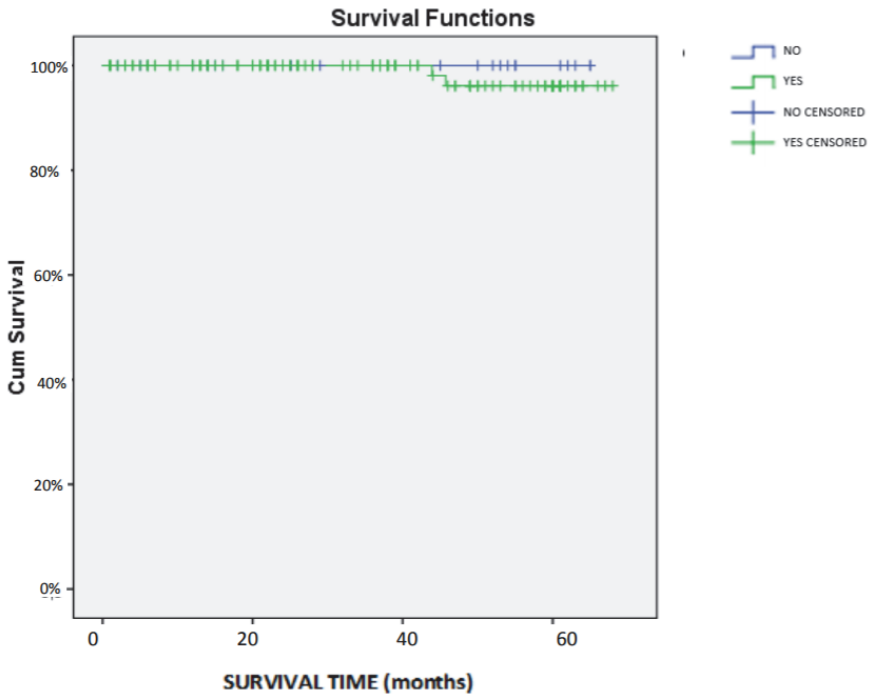
El tiempo medio de supervivencia libre de enfermedad fue de 58,4 meses (IC 95 %: 51,2-65,5) en el grupo prequirúrgico y 64,7 meses (IC 95 %: 62,3-67,1) en el grupo postquirúrgico.

Las tasas de mortalidad fueron de 0,0 % (n = 0/25) y 1,6 % (n = 2/123) para los grupos pre y postquirúrgicos, respectivamente, durante el período analizado, sin diferencias estadísticamente significativas.

El análisis de Kaplan-Meier mostró que las tasas de supervivencia general eran comparables entre los grupos (prueba de log-rank, prueba de Breslow y prueba de Tarone-Ware) (figura 4).



Figura 4. Curvas de Kaplan-Meier de supervivencia general en pacientes expuestas a EOC antes o después de la cirugía de mama. Línea azul: prequirúrgica; línea verde: postquirúrgica



Los datos de cada caso de recidiva o muerte se describieron en las tablas VII y VIII

Tabla VII. Recidivas con EOC prequirúrgica y postquirúrgica

Recidiva	Tiempo hasta el evento	Proporción acumulada de sobrevida en el momento del evento		N de eventos acumulados	N de casos restantes
		Estimación	Error estimado		
					CI95 INF    CI95 SUP

Subgrupo prequirúrgico	7,000	0,955	0,044	1	21	86,75 %	100 %
	15,433	0,902	0,066	2	17	77,13 %	100 %
	51,000	0,811	0,104	3	9	60,68 %	100 %
Postquirúrgico	15,667	0,990	0,010	1	95	96,93 %	100 %
	16,000	0,979	0,015	2	94	95,06 %	100 %
	22,000	0,968	0,018	3	83	93,13 %	100 %
	23,000	0,956	0,022	4	82	91,35 %	99,82 %
	31,000	0,929	0,028	6	68	87,30 %	98,41 %

**Tabla VIII. Muertes con EOC prequirúrgica y postquirúrgica**

Muerte	Tiempo hasta el evento	Proporción acumulada de supervivencia en el momento del evento		N de eventos acumulados	N de casos restantes	CI95 INF	CI95 SUP
		Estimación	Error estimado				
Postquirúrgico	43,900	0,981	0,019	1	51	94.34%	100%
	45,733	0,961	0,027	2	49	90.84%	100%

# ***DISCUSIÓN***



Tras el seguimiento de una cohorte de pacientes con cáncer de mama estadios I y II expuesta a la EOC y un grupo similar no expuesto, nuestro trabajo de investigación concluye que la EOC en mujeres con cáncer de mama en estadios precoces no modifica la supervivencia libre de enfermedad o la supervivencia general.

En la historia natural del cáncer de mama (comportamiento de la enfermedad en ausencia de tratamiento), las úlceras cutáneas aparecen en un promedio de unos 20 meses después de que se detecta el tumor, la extensión a la pared torácica después de 22 meses y la invasión directa de la mama contralateral después de 3 años de la aparición del tumor (76). Las tasas de supervivencia descritas sin tratamiento son de 5 % a los 5 años (77). Con las técnicas quirúrgicas iniciales, se logra una tasa de recurrencia local menor de 10 % a los 3 años. Desafortunadamente, así solo se consigue una supervivencia del 25 % a los 10 años (78). La cirugía sola resulta un tratamiento insuficiente. A pesar de que la cirugía radical elimina completamente el tumor, las pacientes acaban desarrollando metástasis manteniendo una alta mortalidad (79).

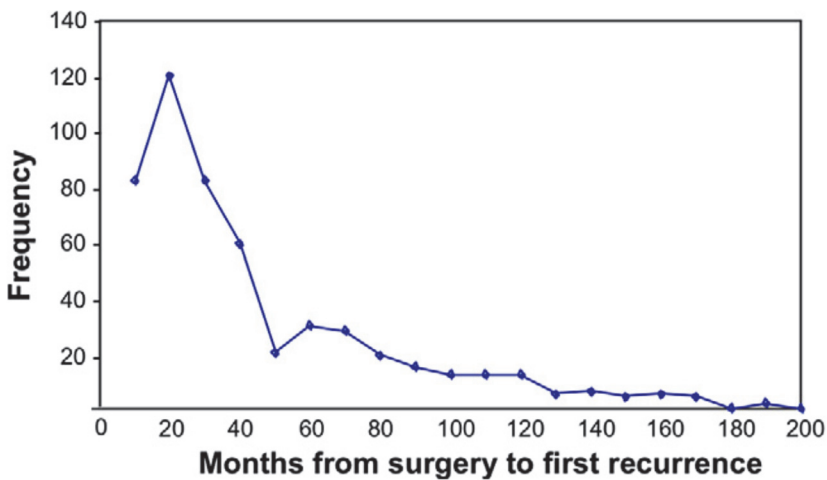
Estudios posteriores demuestran que el cáncer se propaga inicialmente por el torrente sanguíneo y que esto puede ocurrir incluso antes de que el tumor sea detectable (80).

Estando el resultado del tratamiento predeterminado por la extensión de las micrometástasis ocultas presentes en el momento del diagnóstico, la única posibilidad de curación sería añadiendo un tratamiento sistémico adyuvante dirigido a estos focos de

enfermedad a distancia, incluso en pacientes con tumores localizados.

Una de las incongruencias más llamativas es el patrón de recurrencia local y a distancia observado después de la cirugía del cáncer clínicamente localizado (81). En vez de encontrarnos con una curva parabólica simétrica congruente con un patrón estocástico de transición de micrometástasis subclínicas en diferentes etapas de progresión y diferentes tasas de proliferación celular, presenciamos una curva de doble pico, el primer pico más alto y estrecho aproximadamente 2 años después de la cirugía y un segundo pico mucho más bajo y ancho que alcanza su meseta aproximadamente de los 5 a los 9 años (figura 5).

Figura 5. Patrón de recaída bimodal



Fuente: Romano Demicheli

Utilizando un modelo no lineal (teoría del caos), algunos autores intentan buscar una explicación adecuada para el patrón de recaída bifásica (82). Este modelo sugiere que, aunque varias metástasis sembradas por el tumor primario estarían linealmente relacionadas con el tamaño de este y su agresividad biológica, la aparición clínica de las metástasis se desencadenaría o aceleraría solamente a raíz de la extirpación del tumor primario. Este modelo supone que la mayoría de las metástasis en el momento del diagnóstico están inactivas en lugar de crecer activamente. ¿Cuál es la explicación de esta latencia? Dentro de las metástasis "latentes" hay un equilibrio dinámico entre el crecimiento celular y la muerte celular. Esto está parcialmente regulado por factores que inhiben la angiogénesis, otros factores que inhiben la proliferación epitelial y otros que fomentan la apoptosis. Si aumentan los factores estimulantes o se reducen los factores inhibidores, las metástasis pierden su condición de latencia. Experimentos en animales muestran que la exéresis del tumor primario provoca un aumento de la producción de citoquinas que promueven la angiogénesis. Por lo tanto, un desencadenante probable para el "arranque" del crecimiento de metástasis inactivas podría ser la cirugía en sí misma. Según el modelo del caos, el pico temprano de recidiva sería desencadenado por la propia cirugía y el pico de recaída tardío sería debido a la historia natural de las micrometástasis.

Del cambio de modelo surge la necesidad de adaptar las estrategias terapéuticas. Según la teoría del caos, existirían dos tipos de metástasis. Un tipo iniciaría una fase de crecimiento activo a raíz de la cirugía; y el otro tipo no respondería al estímulo inflamatorio inicial

de la cirugía y proliferaría lentamente obedeciendo a las reglas de la cinética lineal y haciéndose patente en cualquier momento entre el primer año y los 25 años después de la cirugía. La estrategia que se adecuaría a este modelo sería utilizar diferentes intervenciones terapéuticas para cada uno de los tipos de metástasis. Una se orientaría a conseguir una inhibición biológica de la respuesta inflamatoria perioperatoria a corto plazo (83). Y la otra consistiría en un tratamiento a largo plazo durante muchos años que incluiría terapia hormonal para los cánceres con receptores hormonales positivos o QT sistémica personalizada para los cánceres con receptores hormonales negativos (84, 85). La terapia perioperatoria, que no es específica para las características biológicas del tumor, podría ser ideal en caso de cáncer triple negativo, un tipo de cáncer en el que es frecuente la recaída temprana en los dos primeros años después de la cirugía (84). Existen líneas de investigación abiertas para prevenir o tratar los cánceres centradas en la comprensión de las vías inflamatorias (agentes dirigidos a la ciclooxigenasa 2 (COX2) o al receptor de peroxisoma-proliferador-activado gamma (PPAR $\gamma$ ), piruvato de etilo...) (86).

Por otro lado, este patrón particular de recurrencia del cáncer de mama (con metástasis que pueden hacerse patentes hasta 25 años después de la cirugía) resalta la importancia de los períodos de seguimiento largos en los estudios que valoren su supervivencia y recurrencia.

Según el informe del 2020 de la Sociedad Española de Oncología Médica (SEOM), la supervivencia neta a 5 años del cáncer de mama



en España alcanza el 85,5 %. Es un dato obtenido por la Red Española de Registros de Cáncer (REDECAN), correspondiente al sexenio 2008-2013, a partir de la información proporcionada por 14 registros de cáncer de la población española (Asturias, Castellón, Ciudad Real, Cuenca, Euskadi, Girona, Gran Canaria, Granada, La Rioja, Mallorca, Murcia, Navarra, Tarragona y Tenerife) (87). La mejoría en la supervivencia de las pacientes con cáncer de mama es el resultante de la combinación de diagnóstico precoz (debido a la detección mamográfica de mujeres asintomáticas) y avances en el tratamiento (88, 89). Está demostrado el valor de la terapia hormonal y de la QT en el tratamiento del cáncer de mama en fases iniciales, y un efecto modesto del uso de RT postmastectomía (10, 90). La introducción generalizada de agentes hormonales, como el tamoxifeno, el raloxifeno y los inhibidores de la aromatasas, reduce el riesgo de recurrencia en mujeres con tumores con receptores hormonales positivos, mejorando así la supervivencia (91). La QT es efectiva para reducir el tamaño del tumor y aumentar el período libre de enfermedad (92). La supervivencia más alta del cáncer de mama se encuentra en las regiones más desarrolladas, que son, a su vez, regiones de alta incidencia. Las estimaciones de supervivencia relativa a cinco años oscilan entre el 12 % en algunas partes de África hasta casi el 90 % en los Estados Unidos, Australia y Canadá. Esta diferencia se vincula a las barreras culturales, las limitaciones de acceso a los programas de screening y las limitaciones de acceso a los tratamientos. Las mejoras observadas en la supervivencia del cáncer de mama en las regiones más desarrolladas del mundo en las últimas décadas se atribuyen a la introducción del cribado poblacional con

mamografía y al uso de tratamientos adyuvantes sistémicos. El estadio en el momento del diagnóstico y el subtipo molecular son algunos de los factores que más afectan a la supervivencia de la paciente. En los Estados Unidos, la supervivencia relativa a 5 años del cáncer de mama varía del 99 % para los tumores localizados al 84 % para la enfermedad regional y al 23 % para la enfermedad con diseminación a distancia (93). Los resultados en el resto del mundo son similares (94). Un estudio multicéntrico en China muestra la supervivencia asociada a cada estadio y subtipo molecular (Tabla IX) (95).

<b>Tabla IX. Supervivencia de pacientes con cáncer de mama según diferentes estadios y subtipos moleculares</b>		
Característica	Supervivencia general a los 5 años (IC 95 %)	Supervivencia específica del cáncer a los 5 años (IC 95 %)
General	89,4 % (88,5–90,3)	90,3% (89,4–91,1)
Estadio		
I	96,5 % (95,4–97,4)	97,1% (96,1–97,9)
II	91,6 % (90,3–92,7)	92,6% (91,4–93,6)
III	74,8 % (71,0–78,2)	75,6% (71,8–78,9)
IV	40,7 % (31,0–50,1)	42,7% (32,8–52,1)
Subtipo Molecular		
Luminal A	92,6 % (91,5–93,6)	93,2% (92,1–94,2)
Luminal B	88,4 % (85,3–90,9)	89,1% (86,1–91,5)
HER2	83,6 % (79,3–87,0)	85,4% (81,3–88,7)
Triple negativo	82,9 % (79,3–85,9)	83,5% (79,9–86,4)

Fuente: Tingting Zuo

Las pacientes con tumores de subtipo HER2 y triple negativo tienen una tasa de supervivencia menor que aquellos con tumores del subtipo luminal A y luminal B. Son factores de buen pronóstico para la supervivencia: edad de 40 años a los 69 años, menor grado histológico (bien diferenciado) y ausencia de comorbilidades (como enfermedad cardiovascular, diabetes y otros cánceres).

El cáncer de mama se considera la quinta causa de muerte por cáncer en general y sigue siendo la causa más frecuente de muerte por cáncer en mujeres. Hubo aproximadamente 626 000 muertes en todo el mundo por cáncer de mama en 2018, lo que equivale a una muerte por minuto. Es el responsable de casi el 7 % de todas las muertes por cáncer (2, 96). La introducción de programas de cribado con mamografía provoca una reducción del 22 % en la mortalidad por cáncer de mama aunque no siempre son factibles de implementar (97). Esto es especialmente cierto para los países en vías de desarrollo que carecen de los recursos y servicios necesarios para dichos programas o en países en los que gran parte de la carga del cáncer de mama recae en mujeres jóvenes en las que la mamografía no es tan efectiva (98, 99).

El cáncer de mama es la neoplasia maligna más común en mujeres en edad reproductiva. Alrededor del 18 % de los cánceres de mama se diagnostican en mujeres menores de 49 años de edad (100). El diagnóstico de esta enfermedad en una mujer joven pone en riesgo su futuro genésico. Los tumores que aparecen en pacientes más jóvenes suelen ser más agresivos que los que se presentan en

pacientes de mayor edad. Tienen mayor frecuencia de afectación ganglionar y de perfil inmunohistoquímico HER2 y triple negativo. Esto conlleva una mayor necesidad de tratamientos sistémicos (101, 102). La mayoría de estas pacientes son candidatas a recibir QT que puede provocar una disminución de la reserva ovárica y conducir a un fallo ovárico precoz. Debido a una reciente tendencia a retrasar el embarazo, un número creciente de pacientes con cáncer de mama en edad reproductiva todavía no tienen cumplido sus deseos genésicos.

Con los avances en el diagnóstico/tratamiento oncológico y el aumento de la supervivencia, la preservación de la fertilidad se está convirtiendo en una prioridad para las mujeres en edad reproductiva con cáncer de mama. La infertilidad y la menopausia precoz son causa de ansiedad y depresión, con un impacto negativo sobre la salud global de las supervivientes de esta enfermedad (103). La infertilidad en pacientes con cáncer también se asocia a un deterioro a nivel de la esfera sexual. Una vez conseguido el aumento de la esperanza de vida, lo que se persigue es una mejora de la calidad de la misma. Y, en este caso, la posibilidad de conseguir descendencia es uno de los objetivos más preciados.

Los profesionales sanitarios que atienden a estas pacientes tienen la responsabilidad de saber manejar los problemas de fertilidad en las supervivientes de cáncer. Han de ser capaces de aumentar la conciencia sobre las consecuencias negativas en cuanto a fertilidad que tienen el cáncer y los tratamientos oncológicos. El asesoramiento sobre oncofertilidad es de gran importancia para muchas mujeres en

edad reproductiva y ha de ser gestionado en un contexto multidisciplinar. Se debe ofrecer una derivación temprana a un especialista en reproducción asistida a todas las pacientes con riesgo de infertilidad secundario a los tratamientos oncológicos, si no tienen sus deseos genésicos cumplidos. Así pueden recibir información sobre las técnicas actualmente disponibles y, si finalmente lo desean, poner ya en marcha todos los mecanismos necesarios para iniciar los tratamientos para la preservación de la fertilidad.

Para fomentar la información de calidad, es muy importante poner a disposición de los profesionales y de las pacientes los estudios con el mejor poder estadístico que sea posible. Así se consigue hacer desaparecer los mitos y falsas creencias acerca de las técnicas de reproducción asistida en la mujer con un cáncer hormono-dependiente. Con nuestro trabajo se consigue fortalecer la evidencia de seguridad de las técnicas de reproducción asistida para la preservación de la fertilidad en pacientes con cáncer de mama aportando una de las investigaciones con mayor tamaño muestral publicada hasta la fecha.

Una encuesta a través de internet comprueba que más del 50 % de las mujeres, cuando se diagnostican de cáncer de mama, tienen el deseo de quedarse embarazadas en algún momento de sus vidas (104). Sin embargo, la tasa de embarazo entre las mujeres con cáncer de mama previo es un 70 % más baja de lo esperado, comparando con la población general (105, 106).

Solo una minoría de las mujeres en edad fértil con cáncer de mama usan técnicas de reproducción asistida para preservar la fertilidad (10 % en un estudio de cohortes) (107).

Además, de aquellas que optan por congelar embriones u ovocitos, los datos reportados en la bibliografía reflejan que una minoría los acaba utilizando para intentar un embarazo. De una cohorte de mujeres que hace criopreservación de embriones antes de la QT por cáncer de mama, aproximadamente el 25 % (33 de 131 mujeres) vuelve a utilizar sus embriones, tras pasar 5,25 años (de mediana) desde de la criopreservación (108).

Una variedad de factores puede contribuir a este bajo uso de las técnicas de preservación de la fertilidad disponibles para pacientes con cáncer de mama.

La falta de conciencia de las pacientes, debido a una inadecuada información acerca del riesgo de compromiso de la fertilidad secundario al tratamiento del cáncer, desempeña un papel importante (19, 109). En 2018, la ASCO emite una guía actualizada que recomienda que el personal sanitario informe acerca de la preservación de la fertilidad a todas las pacientes en edad fértil que se sometan a tratamientos oncológicos que puedan afectar a su capacidad reproductiva. A pesar de esto, los últimos estudios muestran que el asesoramiento en fertilidad sigue siendo insuficiente y que solo una minoría de pacientes es derivada a centros de fertilidad (110).

Las preocupaciones psicosociales también son relevantes. Un reciente estudio basado en unas encuestas en los Países Bajos, examina la toma de decisiones de las mujeres con respecto a la preservación de la fertilidad antes una terapia gonadotóxica (58 % de las mujeres en este estudio tienen cáncer de mama). La mayoría refleja como determinantes, para el uso de técnicas de reproducción

asistida para la preservación de la fertilidad, el deseo de concebir y la presencia de una pareja estable. Hoy en día, la vitrificación de ovocitos ha de ser un argumento de peso para esas pacientes que no tengan pareja en el momento del diagnóstico. Con esta técnica, ya no es necesario estar en pareja para poder tener la opción de preservar la fertilidad y tener descendencia en un futuro.

El costo económico es una consideración relevante para muchas pacientes, porque la crioconservación de embriones u ovocitos puede suponer una carga financiera importante (111). Según algunas publicaciones, las pacientes con cáncer de mama con más medios económicos son las más propensas a realizar tratamientos de preservación de la fertilidad (112). En estudios en jóvenes adultos americanos con cáncer, el 19 % de las mujeres citan el dinero como razón para renunciar a la preservación de la fertilidad (113). Hoy en día están surgiendo programas para preservación gratuita en pacientes con cáncer para ayudar a superar estas barreras económicas.

Por último, las preocupaciones relacionadas con la salud, incluido el miedo a la recurrencia del cáncer en el futuro, a las complicaciones relacionadas con el tratamiento, la ansiedad acerca del retraso en el tratamiento, el temor sobre la seguridad del futuro embarazo... todas ellas pueden aumentar la incertidumbre a la hora de tomar una decisión acerca de la preservación de la fertilidad en el momento del diagnóstico de un cáncer de mama (105, 113). Es nuestro deber, como profesionales de la salud, intentar aportar los mejores datos apoyados en la evidencia científica para superar estos miedos.

Nuestro trabajo se centra en comprobar la seguridad a largo plazo de las técnicas de EOC para la vitrificación de ovocitos, aunque existen otras opciones de preservación de la fertilidad incluyendo:

- FIV en ciclo natural
- Criopreservación embrionaria
- Criopreservación de tejido ovárico para reimplantación
- Criopreservación de tejido ovárico para maduración in vitro de ovocitos
- Agonistas GnRH

La preocupación por la exposición a hormonas durante las técnicas de preservación de fertilidad resulta un freno al acceso de muchas pacientes con cáncer de mama a procedimientos establecidos para conseguir dicho objetivo.

Algunos estudios reflejan un aumento, pero solamente transitorio, en el riesgo de cáncer de mama después de los tratamientos de FIV (114). Otros muestran un aumento de riesgo en algunos subgrupos de pacientes: mujeres con antecedentes familiares de cáncer de mama (115), pacientes que usan gonadotropinas durante más de 6 meses (116), que realizan más de 4 ciclos (117), tras pasar más de 10 años desde el tratamiento de fertilidad (118), entre las mujeres que comienzan el tratamiento de FIV a edades más tempranas (119) o más tardías (117, 120).



Sin embargo, estudios poblacionales de mucho más peso estadístico demuestran que la FIV no aumenta el riesgo de cáncer de mama.

Los primeros estudios de cohortes retrospectivos ya arrojan datos tranquilizadores. Concluyen que las mujeres que se someten a FIV no tienen un riesgo significativamente mayor de cáncer de mama en comparación con las mujeres infértiles que no se someten a FIV o con la población general. Sin embargo, recomiendan seguir investigando el riesgo de cáncer de mama en pacientes que se someten a múltiples ciclos de FIV (más de cuatro) (121).

Un metaanálisis posterior evalúa si la EOC está asociada con un mayor riesgo de cáncer de mama, analizando cuantitativamente los datos de 8 estudios de casos y controles y 15 estudios de cohortes. No encuentra asociación significativa entre la EOC y el cáncer de mama (independientemente del fármaco utilizado, combinación de fármacos o número de ciclos) (122).

Otro metaanálisis más reciente corrobora que la FIV no parece aumentar el riesgo de cáncer de mama. Esta conclusión se mantiene indistintamente del grupo de control utilizado (población general vs. mujeres infértiles que no se someten a FIV). En cuanto a las mujeres expuestas a una mayor cantidad de ciclos de FIV (buscando el efecto dosis-respuesta), tampoco parecen ver aumentado su riesgo de cáncer de mama. Finalmente, el autor también destaca que sería ideal generar estudios con períodos de seguimiento más largos (solo uno de los estudios recogidos tiene un seguimiento de 10 años) y

análisis por subgrupos con el objetivo de rastrear subgrupos vulnerables (123).

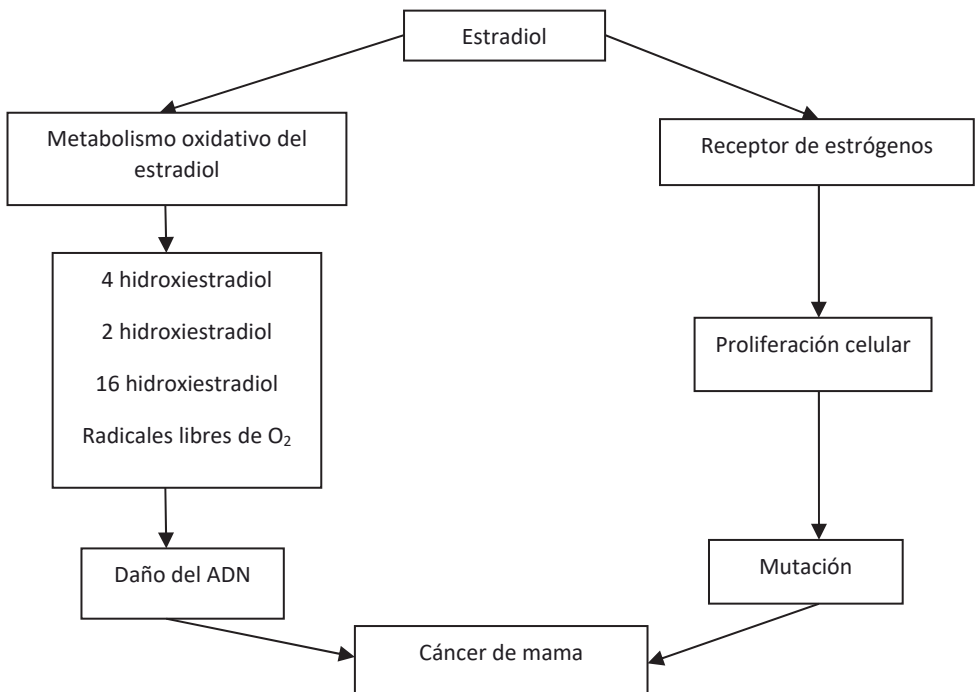
Un estudio de cohortes posterior, con una mediana de seguimiento de 21 años, parece contrarrestar una de estas limitaciones. Concluye que la FIV (comparando con las mujeres infértiles no sometidas a FIV o con la población general) no se asocia con un mayor riesgo de cáncer de mama a largo plazo (124).

También existen trabajos que demuestran la seguridad de la FIV en población de riesgo, como son las portadoras de BRCA 1/2. Sus resultados descartan una asociación entre la EOC para la FIV y el riesgo de cáncer de mama en estas mujeres (125).

Muchos estudios muestran una relación entre los estrógenos y la proliferación de las células epiteliales en el cáncer de mama llegando a considerarla una neoplasia estrógeno-dependiente (126, 127). Sin embargo, los mecanismos precisos responsables de la carcinogénesis asociada a estrógenos no se conocen bien. Estudios en roedores describen dos vías diferentes, pero complementarias, que podrían contribuir al efecto carcinogénico de los estrógenos (Figura 6). Una de las vías derivaría del metabolismo oxidativo del estrógeno que produciría metabolitos dañinos para el ácido desoxirribonucleico (ADN) de las células (128). La otra vía estaría mediada por los receptores alfa de estrógenos que modularían la expresión de los genes incrementando la proliferación celular (lo que aumentaría las posibilidades de errores en la replicación del ADN) y disminuyendo la

apoptosis. Estudios complementarios respaldan la evidencia de que ambos mecanismos están involucrados en el proceso carcinogénico (126). Por otro lado, estas dos vías también representan perfectamente las dianas terapéuticas de muchos tratamientos utilizados en la actualidad en el cáncer de mama. Los agentes antiestrogénicos (como el tamoxifeno y el raloxifeno) actúan exclusivamente en la vía de la carcinogénesis dependiente de receptor de estrógenos. Por el contrario, los inhibidores de la aromatasa (como el letrozol) reducen la producción de estrógenos y, por lo tanto, bloquean los efectos dependientes e independientes del receptor de estrógenos.

**Figura 6. Vías de carcinogénesis de los estrógenos**



En muchos estudios se encuentra, de manera consistente, una asociación entre el riesgo de cáncer de mama y niveles de estrógeno elevados y persistentes en sangre (70). Varios factores de riesgo endocrinos se asocian regularmente con un aumento del riesgo relativo de cáncer de mama. Uno de estos factores es la obesidad. Su efecto probablemente esté relacionado con un aumento de la producción de estrógenos por la actividad de la aromatasa en el tejido adiposo de las mamas. Otro factor es un nivel sanguíneo elevado de estrógenos endógenos (riesgo relativo de 2 a 2,58). Existen evidencias que respaldan la siguiente hipótesis: la exposición acumulativa y excesiva a estrógenos endógenos a lo largo de la vida de una mujer puede ser un factor causal de cáncer de mama. Por otro lado, otros estudios valoran el efecto a largo plazo del tratamiento hormonal sustitutivo. El riesgo de cáncer de mama está aumentado en las pacientes mientras lo toman y se mantiene aumentado cuatro años más cuando lo dejan. Al quinto año de dejarlo, el riesgo de cáncer de mama ya no está incrementado. Esto sugiere que el efecto de la terapia hormonal sustitutiva (combinada o estrógenos solos) es reversible (129). Otras investigaciones comparan el efecto del tratamiento hormonal sustitutivo en pacientes menopáusicas que reciben terapia combinada (estrógenos + progestágenos) vs. estrógenos solos vs. placebo. Los resultados muestran una tasa significativamente mayor de cáncer de mama invasivo en el grupo tratado con terapia combinada. En contraste, encuentran un riesgo reducido de cáncer de mama en el grupo de solo estrógenos (130).

Contrariamente a la exposición prolongada a estrógenos, no hay evidencia de que exposiciones transitorias tengan efectos dañinos (131). Estudios de seguimiento de las donantes de ovocitos sometidas a EOC comprueban que se produce un aumento transitorio de los niveles de estrógenos acompañado de un aumento de proliferación de células mamarias, ambos comparables con los niveles observados en el primer trimestre del embarazo (127). En las donantes de ovocitos, el pico de estradiol medio llega hasta los 15 300 pmol/l y se alcanza el día antes de la punción. En comparación, en mujeres con ciclo natural (no sometidas a EOC), el nivel de estradiol máximo es más bajo: en fase folicular no supera los 1 100 pmol/l y en fase lútea no supera los 510 pmol/l. En donantes de ovocitos, se observa que el nivel de proliferación de células mamarias está directamente relacionado con los niveles de estradiol sérico. Por lo tanto, se produce un gran aumento de proliferación de células mamarias durante la EOC, pero no se aprecia un incremento de malignidad. En contraste, las mujeres embarazadas muestran que su nivel de proliferación de células mamarias no va asociado a los niveles de estradiol. La unidad fetoplacentaria de las mujeres embarazadas es responsable de cambios endocrinológicos e inmunológicos importantes (cambios que no están presentes en mujeres sometidas a EOC para ser donantes de ovocitos). En las gestantes, se produciría una serie de factores que contribuirían a la protección a largo plazo contra el cáncer de mama. La gestación y el alto nivel de estradiol endógeno alcanzado durante el embarazo a término produciría el llamado “efecto dual o cruzado”: un aumento transitorio en el riesgo de cáncer de mama seguido de un efecto

protector (con una disminución significativa de riesgo) a largo plazo. Esto sucede si el embarazo ocurre antes de los 35 años (132). El mecanismo que explica este efecto protector sigue sin estar claro. Se atribuye, en parte, a los cambios hormonales (en particular, a los niveles de prolactina) e inmunológicos asociados a la gestación.

Los avances sucesivos en el campo de la preservación de la fertilidad permiten superar este riesgo de exposición de las pacientes con cáncer mama a dosis altas de estradiol. Así se consigue que las supervivientes de cáncer de mama puedan tener hijos/as en un futuro y, lo más importante, sin comprometer su esperanza de vida.

Inicialmente se investiga la obtención de ovocitos sin estimulación ovárica. Desafortunadamente, tal ciclo natural, que implica la aspiración de los folículos ováricos existentes sin realizar una EOC, proporciona un rendimiento relativamente pobre. Obtiene un embrión en tan solo el 60 % de los ciclos (54, 133). Queda claro que es necesario buscar agentes alternativos, con menos potencia estrogénica (más seguros) pero con mejor rendimiento que el obtenido en un ciclo natural.

En paciente sin antecedentes personales de cáncer de mama, no se constata un aumento de riesgo de este cáncer por el hecho de exponerse a hormonas durante una EOC (134).

En pacientes con antecedentes de cáncer de mama, se desarrollan protocolos de EOC con tamoxifeno y letrozol que pueden aumentar el margen de seguridad y la tranquilidad de estas mujeres.

El tamoxifeno es un agente antiestrogénico no esteroideo que se introduce por primera vez en el Reino Unido para la anticoncepción de emergencia (135). Luego, en el resto de Europa, se empieza a utilizar para la EOC (136). Con este fin, el tamoxifeno se administra típicamente en dosis de 20 mg a 60 mg durante 5 días. Puede ser utilizado solo o en combinación con FSH. Trabajos posteriores muestran que el tamoxifeno suprime la carcinogénesis en el cáncer de mama, lo que lleva a su uso mundial en el tratamiento y la profilaxis de dicho cáncer (137, 138, 139). Aunque los niveles de estradiol durante EOC con tamoxifeno se elevan de forma moderada, su uso en pacientes con cáncer de mama con receptores de estrógenos positivos es protector debido a su efecto antiestrogénico a nivel del tejido mamario (54). La seguridad de la coadministración de tamoxifeno durante la EOC es apoyada por un estudio que muestra como también los niveles séricos de estradiol están persistentemente elevados en las pacientes con cáncer de mama premenopáusico que utilizan de forma rutinaria el tamoxifeno como tratamiento oncológico hormonal adyuvante (140).

Otro agente hormonal que se utiliza cada vez más en el cáncer de mama es el letrozol, un inhibidor selectivo de la aromatasa. La aromatasa es un enzima de la súper familia del citocromo P-450,

producto del gen CYP19. Es un enzima que cataliza la reacción que convierte los andrógenos en estrógenos en muchos tejidos, incluyendo las células de la granulosa de los folículos ováricos (141). El letrozol es un potente inhibidor de la aromatasas de tercera generación que se desarrolla a principios de los años noventa. Inhibe de manera competitiva y selectiva la actividad de la enzima aromatasas. Una dosis única de letrozol de 0,5 mg produce una potente y larga supresión de los niveles plasmáticos de estradiol. Finalmente, se confirma como superior al tamoxifeno en el tratamiento del cáncer de mama en estadios avanzados en pacientes postmenopáusicas (141, 142). Por otra parte, también se demuestra que el letrozol se puede utilizar como agente inductor de la ovulación (a pesar de que Novartis no apoye el uso de su fármaco con este fin) (143). A nivel central, el letrozol libera el eje hipotálamo-hipofisario de la retroalimentación negativa estrogénica, por lo que aumenta la secreción hipofisaria de FSH que estimula el crecimiento de los folículos. En los estudios, el letrozol se administra típicamente a dosis de 2,5-5 mg durante 5 días (solo o en combinación con FSH).

Las investigaciones muestran que los niveles máximos de estradiol son más bajos cuando se compara la estimulación con letrozol (solo o en combinación con FSH) con la estimulación con FSH o con clomifeno. Se observa que los niveles de estradiol en pacientes estimuladas con letrozol son aún más bajos que los obtenidos en el ciclo natural (144). Estudios que utilizan letrozol + gonadotropinas en un protocolo antagonista muestran elevaciones de estradiol



levemente superiores a las observadas en un ciclo ovárico natural (145).

Un estudio prospectivo, controlado, no aleatorizado, con 60 mujeres con cáncer de mama utiliza, antes de la QT, diferentes protocolos de tamoxifeno y letrozol, con y sin FSH. Evidencia que la relación entre el número de ovocitos y el nivel de estradiol es claramente mejor en pacientes tratadas con letrozol + FSH (66). El tamoxifeno solo, a su vez, funciona mejor que la FIV en ciclo natural (54).

Pensando en la seguridad, comparando los distintos protocolos de estimulación expuestos, las pacientes estimuladas con tamoxifeno + FSH tienen niveles significativamente más elevados de estradiol que las pacientes estimuladas con tamoxifeno o letrozol. Aunque esto puede generar dudas sobre la seguridad de este enfoque, estos niveles máximos de estradiol no son diferentes de los niveles observados durante el tratamiento adyuvante hormonal con tamoxifeno del cáncer de mama (146).

Los protocolos de estimulación que incorporan el tamoxifeno y el letrozol no provocan un aumento de las tasas de recurrencia del cáncer de mama. Pero, de todas las alternativas, los protocolos con letrozol suelen ser los preferidos por generar picos de estradiol más bajos, sobre todo en los casos con receptores de estrógeno positivos (66).

Por otro lado, el uso de agonistas GnRH para desencadenar la ovulación reduce aún más los niveles de estradiol después de la punción folicular (147).

Aunando estos datos de rendimiento y seguridad recogidos en la bibliografía... letrozol combinado con FSH e inducción final de la ovulación con agonista GnRH resulta ser el protocolo escogido en nuestro estudio para la EOC en mujeres con cáncer de mama.

Varias investigaciones recientes tratan de superar los frenos causados por el miedo a la estimulación hormonal en pacientes con cáncer de mama (56, 66, 68, 69, 145, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154). Quieren demostrar que la EOC es segura en estas mujeres. Pero estas investigaciones anteriores tienen una serie de limitaciones técnicas (tamaño muestral limitado, tiempo de seguimiento corto...) que se tratan de superar con nuestro estudio.

La publicación con mayor tamaño muestral presentada con anterioridad reúne inicialmente a 610 mujeres con cáncer de mama (pero se desconoce el tamaño muestral real final, debido a la ausencia de información sobre las pérdidas). Observa que la supervivencia general es similar entre las mujeres que preservan la fertilidad mediante EOC para la criopreservación de ovocitos/embriones y las que no. Su tiempo de seguimiento es largo, con una media de 6,3 años. Para comparar la supervivencia de las pacientes que realizan EOC, utiliza un grupo que incluye tanto a mujeres que no se someten a preservación de la fertilidad como a mujeres que realizan tratamiento de preservación de la fertilidad sin EOC (crioconservación de tejido ovárico). Esto puede alterar el resultado final. En varios casos, los autores no tienen datos precisos sobre el estadio del cáncer (uno de los factores que más afectan a la

supervivencia). Tampoco conocen las características del tumor y el estado de RE de todas las pacientes. Finalmente destacan que, en futuros trabajos, sería interesante incluir la tasa de recurrencia de cáncer de mama para valorar la seguridad del procedimiento (151).

Otro trabajo de gran tamaño muestral es un estudio de cohortes que incluye a 566 mujeres con cáncer de mama (152). Después de un tiempo medio de seguimiento de 6,6 años, no encuentra un mayor riesgo de recurrencia de cáncer de mama en mujeres que se someten a EOC para preservar fertilidad en comparación con los controles de la misma edad que no preservan fertilidad. Analizando el material y métodos de este trabajo, encontramos que solamente 148 mujeres se someten a EOC. El resto de la cohorte expuesta se somete a métodos no hormonales de preservación de la fertilidad (crioconservación de tejido ovárico o recuperación de ovocitos en ciclo natural). Los protocolos de EOC utilizados en el estudio incluyen protocolos estándares (en pacientes con RE negativos) y protocolos modificados con letrozol. En esta investigación resulta imposible realizar un análisis de subconjunto para evaluar específicamente la seguridad de los protocolos de estimulación con letrozol. Esto es debido a la escasez de datos y al seguimiento limitado de las mujeres estimuladas con letrozol.

Existe en la bibliografía una investigación prospectiva de tamaño muestral relevante (349 pacientes con cáncer de mama) que analiza si la preservación de la fertilidad mediante criopreservación de ovocitos/embriones puede modificar la recurrencia de la enfermedad

o la supervivencia (154). Concluye que es poco probable que así sea. Pero presenta varias limitaciones que pueden sesgar el resultado final: los grupos comparados tienen diferencias significativas a nivel de edad, RE y estadio. Por otro lado, los autores tampoco describen el protocolo de EOC utilizado.

Ya con un tamaño muestral algo menor, un estudio prospectivo controlado no randomizado recluta inicialmente a 337 pacientes (145). No se conoce el tamaño real final, debido a la ausencia de información sobre las pérdidas. En sus resultados, no halla diferencias significativas en la supervivencia libre de enfermedad entre las mujeres con cáncer de mama sometidas a EOC con coadministración de letrozol y las mujeres del grupo control. Sin embargo, nos encontramos que algunas pacientes del grupo control también realizan criopreservación de corteza ovárica y esto podría alterar el resultado final. Por otro lado, probablemente exista un sesgo en este trabajo de investigación: la afectación de ganglios linfáticos es significativamente menor en el grupo tratado con letrozol ( $P = 0,020$ ).

Es importante la aportación de estudios con grandes tamaños muestrales que vengán a ratificar la seguridad de la EOC en las mujeres con cáncer de mama. Nuestro trabajo, con 259 pacientes, representa uno de los estudios con mayor tamaño muestral de los publicados hasta la fecha.

Investigaciones de gran peso estadístico sugieren que es poco probable que el uso de letrozol y gonadotropinas para la EOC dé lugar (al menos a corto plazo) a un aumento de la recurrencia del cáncer de mama en comparación con aquellas pacientes que no se someten a EOC. Sin embargo, debido a su corto período de seguimiento y a su número reducido de pacientes, juicios sobre la seguridad a largo plazo todavía no pueden ser emitidos por parte de estas investigaciones (148).

Un estudio prospectivo observacional en mujeres con cáncer de mama compara diferentes protocolos de EOC con tamoxifeno y letrozol (asociados o no con gonadotropinas) con un grupo control (66). No muestra diferencias significativas en la tasa de recurrencia entre las pacientes que realizan EOC y el grupo control. En una nota al editor (56), el autor quiere intentar paliar la limitación de tamaño muestral añadiendo pacientes a posteriori de la publicación del artículo alcanzando las 87 pacientes y manteniéndose las mismas conclusiones. Otra limitación de este estudio es la duración del seguimiento del grupo letrozol que resulta significativamente más corta (comparado con los controles) con una mediana de solamente 272 días (DE 31). Ninguno de los grupos estudiados supera los 2 años de seguimiento.

Una reciente investigación retrospectiva incluye a 329 mujeres diagnosticadas de cáncer de mama con el objetivo de determinar si la preservación de la fertilidad mediante criopreservación de ovocitos/embriones modifica la supervivencia libre de enfermedad.

Como grupo control utiliza a las mismas mujeres con cáncer de mama que deciden no preservar la fertilidad. Las tasas de supervivencia libre de enfermedad resultan similares en ambos grupos. Pero este estudio tiene varias limitaciones. Solo tiene la capacidad de detectar diferencias relativamente grandes de supervivencia libre de enfermedad. Los autores también ofrecen a las pacientes de ambos grupos la opción de tratamiento con agonistas de la GnRH durante la QT y no saben con seguridad qué pacientes aceptan esta opción. Esto podría alterar el resultado final. Los grupos comparados presentan diferencias significativas de edad, estadio y necesidad de QT. Finalmente, la mediana de seguimiento de 3,6 años también resulta relativamente corta (153).

La amplia experiencia acumulada en nuestro trabajo, con un seguimiento a largo plazo (de hasta 5 años), sirve para superar estas limitaciones. Se obtienen resultados de supervivencia equiparables a largo plazo en las pacientes sometidas a EOC y en las pacientes del grupo control. Para poder tener un seguimiento más largo, se opta por realizar un estudio ambispectivo, aunque esto pueda suponer un hándicap a nivel estadístico.

Para fortalecer la validez de los resultados, nuestro protocolo de estudio es muy estricto en cuanto al establecimiento de los factores de inclusión y exclusión de las pacientes. Así se intenta generar grupos de estudio lo más comparables posible evitando posibles sesgos. Además, y a diferencia de otras investigaciones, se incluyen todos los fenotipos moleculares de cáncer de mama (luminal A,

luminal B, HER2+, basal) (148). Así los resultados son aplicables a todos ellos aumentando la validez externa del estudio.

Otros trabajos, buscando diferencias entre los distintos tipos moleculares, realizan análisis por subgrupos de las pacientes sometidas a EOC con cáncer receptor de estrógenos positivos y negativos. En sus conclusiones, no encuentran diferencias estadísticamente significativas en la recurrencia y la supervivencia entre ambos grupos (149).

A lo largo de la literatura, también se plantean distintas variaciones en los protocolos de EOC con letrozol + gonadotropinas en las pacientes con cáncer de mama. Estas estrategias buscan aumentar el rendimiento (número de ovocitos obtenidos, número de embriones congelados, tasa de recién nacidos vivos...) de la EOC en estas mujeres. Existen estudios que intentan comprobar la seguridad de estas estrategias. Uno de ellos concluye que parece seguro realizar dos ciclos consecutivos de EOC (con letrozol + gonadotropinas) para aumentar el número de ovocitos obtenidos para la preservación de la fertilidad en mujeres con cáncer de mama (68). Las tasas de recurrencia son similares a la hora de realizar un ciclo de EOC o dos ciclos de EOC. Sin embargo, solamente se incluyen 78 pacientes y recomiendan nuevos estudios con un período de seguimiento más largo y un mayor número de pacientes. Otro trabajo compara el uso de dosis altas de FSH vs. dosis bajas (asociadas a letrozol) en la EOC de mujeres con cáncer de mama (69). Las dosis altas de FSH no mejoran el rendimiento de la EOC (incluso presentan una menor tasa

de recién nacido vivo). En cuanto a seguridad, el grupo con dosis altas de FSH presenta niveles medios más altos (aunque no estadísticamente significativo) de estradiol, lo que puede ser contraproducente en el cáncer de mama. Como limitación, este estudio no valora la tasa de supervivencia libre de enfermedad.

Finalmente, una reciente revisión sistemática de la literatura concluye que la EOC con coadministración de letrozol en pacientes con cáncer de mama no disminuye la tasa de supervivencia libre de enfermedad (150). Los dos estudios incluidos que aportan datos acerca de las tasas de mortalidad y recaída relacionadas con el cáncer de mama engloban a 397 mujeres, de las cuales 149 son sometidas a EOC. La misma revisión, con respecto a las mujeres con cáncer de mama que reciben tamoxifeno durante la EOC, no puede obtener resultados concluyentes por no contar con suficientes datos. Los propios autores destacan la escasez de estudios de alta calidad hallados, la mayoría con un pequeño tamaño muestral y una duración de seguimiento relativamente corta.

Ante los resultados tan halagüeños obtenidos con la EOC en pacientes con cáncer de mama y sabiendo que el beneficio de la protección ovárica con análogos de la hormona liberadora de gonadotropina no está probado, poco a poco este tratamiento se queda relegado y no debe ofrecerse como método único de preservación de la fertilidad (42). Actualmente, ante los numerosos datos contradictorios, es razonable relegar esta opción a mujeres que



deseen sumarla a otras estrategias o para las mujeres en las que otras estrategias no son factibles.

Los análogos de la GnRH son moléculas derivadas de la GnRH natural sustituyendo algún aminoácido. Los agonistas de la GnRH inicialmente tienen un efecto flare-up estimulando la liberación de FSH y LH pero después, con la administración crónica, provocan una regulación negativa de los receptores de GnRH y una desensibilización a largo plazo de las células hipofisarias que producen gonadotropinas. El efecto final es disminuir la secreción de FSH y así suprimir la función ovárica, el desarrollo folicular y la producción de estradiol.

Los mecanismos teóricos que justificarían el uso de los agonistas de la GnRH para reducir la toxicidad gonadal de la QT se basarían en los siguientes mecanismos:

- La QT afecta sobre todo a los tejidos con una rápida renovación celular. Un estado de inhibición durante la exposición a fármacos citotóxicos podría proteger los ovarios.
- El hipoestrogenismo podría implicar una reducción de la perfusión ovárica disminuyendo la dosis de agentes gonadotóxicos que llegaría hasta ellos.
- La ciclofosfamida (y la QT en general) altera el estado quiescente fisiológico de los folículos primordiales, induciendo un aumento en la activación del folículo, del crecimiento y de la apoptosis. El daño provocado en la reserva ovárica y la consiguiente reducción de estrógenos, inhibina y AMH causan un aumento en la FSH que

aumenta aún más el reclutamiento acelerado de los folículos primordiales. La inhibición de la liberación de FSH provocado por los agonistas de la GnRH podría romper este círculo vicioso, también llamado "burnout de la reserva ovárica" (155).

Tres metaanálisis evalúan específicamente la eficacia de la administración de agonistas GnRH para prevenir el fallo ovárico precoz inducido por QT en pacientes con cáncer de mama. El metaanálisis de Yang et al. incluye cinco ensayos clínicos aleatorizados para un número total de 528 pacientes (156). Un número significativamente menor de pacientes en el grupo agonista GnRH experimentan fallo ovárico precoz post-tratamiento (RR: 0,40; IC del 95 %: 0,21-0,75). Sin embargo, en ambos grupos se observan tasas similares de menstruación (RR: 1,31; IC del 95 %: 0,93-1,85) y embarazo espontáneo (RR: 0,96; IC del 95 %: 0,20-4,56). El metaanálisis de Wang et al. incluye siete estudios aleatorios con un total de 677 participantes (157). En comparación con la QT adyuvante sola, el número de mujeres con cáncer de mama con reanudación de la menstruación espontánea es estadísticamente mayor en el grupo de co-tratamiento con agonistas GnRH (OR: 2,83; IC del 95 %: 1,52-5,25). En general, el metaanálisis muestra un beneficio uniforme de la administración de los análogos GnRH en la prevención del fallo ovárico precoz inducido por QT. El metaanálisis de Lambertini et al. recoge cinco ensayos con un total de 873 pacientes (158). Según su análisis, la coadministración de agonistas GnRH y QT reduce significativamente el riesgo de desarrollar fallo ovárico precoz. La tasa de fallo ovárico prematuro es del 14,1 % en el grupo de agonistas GnRH y del 30,9 % en el grupo de control (OR: 0,38; IC del

95 %: 0,26-0,57;  $P < 0,001$ ). En cuanto a la menstruación, en el grupo de agonistas GnRH, 142 (36,8 %) de 386 pacientes están en amenorrea al año post-tratamiento en comparación con 151 (40,4 %) de 374 en el grupo control (OR: 0,92; IC del 95 %: 0,66-1,28;  $P = 0,623$ ). Esta diferencia no resulta estadísticamente significativa. A los dos años post-tratamiento, el beneficio de la coadministración de agonistas GnRH y QT se hace evidente: en el grupo agonista GnRH, 39 (18,2 %) de 214 pacientes están en amenorrea, en comparación con 63 (30,0 %) de 210 en el grupo control (OR: 0,51; IC del 95%: 0,31-0,85;  $P = 0,009$ ). Estos intervalos de tiempo diferentes para evaluar el fallo ovárico precoz derivan de las diferentes definiciones utilizadas en los ensayos. A nivel de fertilidad, la coadministración de agonistas GnRH y QT se asocia con un mayor número de embarazos posteriores. Un total de 37 (10,3 %) pacientes tienen al menos un embarazo posterior al tratamiento en el grupo agonista GnRH y 20 (5,5 %) en el grupo control (tasa de incidencia: 1,83; IC del 95%, 1,06-3,15;  $P = 0,030$ ). Sin embargo, cabe señalar que esta técnica se desarrolla como una estrategia para la preservación de la función ovárica hormonal más que como una técnica para la preservación de la fertilidad. Es más, hasta el momento, no existen datos sobre la eficacia a largo plazo de los análogos de la GnRH en términos de función ovárica ni sobre las tasas de embarazo tras su uso.

Por otro lado, el uso de agonistas GnRH asociados a la QT incrementa su tasa de toxicidad (el 48 % con goserelina + QT vs. el 24 % con QT solo). Aumenta sobre todo la incidencia de sofocos (síntomas climatéricos) y dolor (26).

También existe la preocupación teórica de que los agonistas GnRH (un agente antiestrogénico) coadministrados durante la QT podrían disminuir la eficacia de la QT en los cánceres de mama receptores hormonales positivos. Esta preocupación surge de observaciones previas en mujeres posmenopáusicas con cáncer de mama con receptores hormonales positivos. Se observa que el tamoxifeno (también un agente antiestrogénico) administrado a la vez que la QT se asocia a un aumento del riesgo de recidiva de la enfermedad en comparación con el tamoxifeno administrado a posteriori de la QT. Sin embargo, el tamoxifeno y los agonistas GnRH tienen mecanismos antiestrogénicos completamente diferentes, y no existe ninguna evidencia de que los agonistas de GnRH puedan comprometer los beneficios de la QT (26). Uno de los metaanálisis antes citados comprueba que supervivencia libre de enfermedad y supervivencia general son similares comparando las pacientes que reciben agonistas GnRH junto a la QT con las que no (independientemente del estado del RE) (158).

También hay que tener en cuenta el tiempo durante el cual la mujer está con tratamiento de QT y hormonoterapia. Este período hace que se retrase necesariamente al menos cinco años la búsqueda de la gestación.

Las directrices recientemente publicadas por la ASCO aún consideran los agonistas GnRH como una estrategia experimental (15). Las directrices de la Sociedad Europea de Oncología Médica (ESMO) tampoco recomiendan esta estrategia para la preservación de la fertilidad (159).

Por lo tanto, tal como ya se destaca en la introducción de nuestro trabajo, si se quiere ofrecer una alternativa real de preservación de la fertilidad, la recomendación actual es la crioconservación de ovocitos o embriones.

Otro temor presente entre las pacientes es el posible retraso en el tratamiento del cáncer de mama por el hecho de intentar preservar la fertilidad. La criopreservación de embriones u ovocitos requieren aproximadamente dos semanas de EOC. Los resultados obtenidos muestran que ese retraso no compromete la supervivencia de las pacientes. Otros estudios previos coinciden con esta conclusión, siempre que la QT se inicie menos de 12 semanas después de la cirugía (72).

Está claro que es crucial que estas pacientes se deriven a centros de reproducción asistida en cuanto se diagnostiquen para que se puedan aprovechar cuanto antes de estos avances para la preservación de la fertilidad sin retrasar los tratamientos posteriores de QT. Todavía hoy, numerosas pacientes informan no haber hablado con su equipo médico de las consecuencias sobre la fertilidad antes de iniciar la terapia contra el cáncer de mama (107, 110). Esto supone retrasos innecesarios e incluso, en ocasiones, la pérdida de la opción de tener descendencia.

Otra parte de los retrasos surge de la práctica habitual de esperar a la fase folicular del ciclo menstrual para iniciar la EOC. Esto se basa en la idea de que el reclutamiento de ovocitos se tiene que realizar en la

fase folicular temprana para optimizar el rendimiento del ciclo (aumentar el número de ovocitos obtenidos). Sin embargo, datos recientes sugieren que las cantidades de ovocitos aspirados y fertilizados tras la estimulación a partir de la fase folicular estándar frente a la fase lútea no son significativamente diferentes. Esto indica que ambas fases pueden ser opciones viables (59). Así, surgen protocolos alternativos de EOC para acortar los tiempos, como el random-start o estimulación ovárica controlada de inicio aleatorio (160). Este inicio aleatorio se basa en la existencia de ondas foliculares, aunque hoy parece que hay una onda continua y el reclutamiento folicular podría iniciarse en cualquier momento del ciclo. El resultado de la EOC de inicio aleatorio parece no estar relacionado con la fase del ciclo menstrual en el que se inicia la estimulación. La fase folicular temprana abarca los 5 primeros días del ciclo menstrual. La fase folicular tardía se inicia después del día 5 del ciclo menstrual con la aparición de un folículo dominante manteniendo la progesterona sérica por debajo de 3 ng/ml. La fase lútea está determinada por un nivel de progesterona sérica  $\geq 3$  ng/ml después de la ovulación (161, 162). Si la paciente acude en la fase folicular tardía es posible continuar con uno de los siguientes protocolos. Si la cohorte de folículos que sigue al folículo dominante es menor de 12 mm y permanece menor de 12 mm antes del aumento espontáneo de LH, se inicia la EOC sin antagonista de GnRH. Después del aumento de LH y cuando la cohorte de folículos secundarios alcanza los 12 mm, se inicia el antagonista de GnRH para evitar un aumento secundario prematuro de LH. Si la cohorte folicular que sigue al folículo dominante supera los 12 mm antes del

aumento espontáneo de LH, se inicia la supresión hipofisaria con antagonista de GnRH y se continúa hasta desencadenar la maduración final de los ovocitos. Si la mujer acude en fase lútea, se le puede ofrecer tratamiento con antagonistas de GnRH (una dosis única de 3 mg o 2-3 dosis diarias consecutivas de 0,25 mg). Consigue que los niveles séricos de progesterona bajen y que la menstruación suceda 2 a 4 días después. Así, la EOC comienza antes que si esperamos a la menstruación espontánea (163). Según una revisión reciente de los estudios publicados hasta ahora, la EOC de inicio aleatorio ofrece resultados similares a la EOC convencional con la ventaja de un intervalo más corto entre la estimulación y la recuperación de los ovocitos (164).

Para conseguir más ovocitos aprovechando el tiempo limitado disponible, se puede utilizar el DuoStim o estimulación ovárica doble dentro del mismo ciclo menstrual. En el momento de la punción folicular, solo se aspiran los folículos con un diámetro medio mayor de 14 mm. La estimulación se reinicia 5 días después de la punción y se realiza una nueva punción folicular una vez que la nueva cohorte de folículos alcance un diámetro medio de 18-20 mm (165).

Otra estrategia, para acortar plazos y para mejorar el número de ovocitos obtenidos, es realizar los ciclos de estimulación inmediatamente tras el diagnóstico de cáncer de mama, sin esperar a la cirugía. Al ganar este tiempo, incluso permite a las pacientes someterse a varios ciclos de EOC con el consiguiente aumento de

número de ovocitos vitrificados y sin retrasar el inicio de la QT adyuvante (166).

Nuestra investigación encuentra tasas de recidiva y de supervivencia general similares en mujeres que se someten a EOC antes o después de la cirugía. Ambas opciones parecen igual de seguras. Tan solo un estudio previo analiza esta cuestión pero, tanto este trabajo como el nuestro, tienen tamaños muestrales demasiado pequeños para hacer aseveraciones en este tema (145). Son necesarios estudios que aporten mayor tamaño muestral para confirmar los hallazgos de nuestra investigación.

En el intento de acortar tiempos, se están desarrollando dos estrategias emergentes: la crioconservación de ovocitos inmaduros y la maduración de ovocitos in vitro. Con estas técnicas, la recolección de ovocitos puede realizarse sin estimulación hormonal o con una estimulación corta de 3 días a 5 días. Los ovocitos inmaduros pueden ser crioconservados después de maduración in vitro o crioconservados en fase inmadura y luego madurados in vitro después de la descongelación. Estas técnicas han de considerarse todavía experimentales y probablemente tengan todavía una eficacia inferior a la estrategia estándar basada en la crioconservación de ovocitos MII maduros. No hay datos disponibles para estimar la tasa de embarazo potencial con estas técnicas (167, 168).

Cuando una paciente con cáncer de mama no tiene tiempo para someterse a una EOC antes de la QT (por remisión tardía a las unidades de reproducción asistida, necesidad de QT



neoadyuvante...), la criopreservación de tejido ovárico para futuros autotransplantes puede ser ofrecida como último recurso.

La criopreservación de tejido ovárico no necesita estimulación ovárica y es independiente del ciclo menstrual: se puede realizar en pocos días, sin ningún retraso en el inicio de la QT.

Este proceso implica la ooforectomía quirúrgica y crioconservación de tiras corticales ováricas antes de la QT. Más adelante, el tejido ovárico se descongela y se autotrasplanta de nuevo al huésped (133).

El trasplante puede realizarse en la cavidad abdominal (trasplante ortotópico) o en sitios alternativos (trasplante heterotópico). Por su accesibilidad, el tejido celular subcutáneo se utiliza a menudo como sitio para recibir el trasplante heterotópico. En cuanto al trasplante ortotópico se puede realizar sobre la médula del ovario o sobre una ventana peritoneal (Tabla X). El primer informe documentado de un embarazo resultante de este método se publica en 2005. Se consigue en una mujer joven que se convierte en estéril tras recibir dosis altas de QT para tratar un linfoma no Hodgkin (169).

<b>Tabla X. Autotrasplante de corteza ovárica</b>		
	Trasplante heterotópico	Trasplante ortotópico
Ventajas	Técnica de trasplante fácil Fácil acceso para control y punción folicular	Posibilidad de concepción natural Entorno favorable para el desarrollo folicular
Inconvenientes	Requiere FIV Efecto desconocido del entorno sobre la calidad del ovocito	Técnica de trasplante invasiva

Este procedimiento también tiene como resultado el restaurar los niveles normales de FSH y estrógeno, reduciendo así los efectos perjudiciales del fallo ovárico precoz. La restauración de la función ovárica después de la reimplantación ocurre alrededor de los 3 a 6 meses (170). Se demuestra que la función ovárica persiste hasta 7 años después del trasplante con una duración media de 4-5 años (171).

Hasta 2015, se logran al menos 42 recién nacidos vivos mediante el autotrasplante de tejido ovárico (172). Aparte de su limitada tasa de éxito hasta la fecha, el principal riesgo de esta técnica es el de trasplantar células malignas junto al tejido ovárico. Se realizan múltiples rastreos histológicos para minimizar este riesgo (15, 172).

La maduración in vitro de folículos es una evolución reciente aplicable a la técnica de criopreservación del tejido ovárico. Se aspiran los ovocitos inmaduros del tejido ovárico almacenado, se maduran in vitro, se fecundan y transfieren los embriones al útero una vez superado el tratamiento del cáncer de mama (133). Así se evita el riesgo de trasplantar células malignas cuando se vuelve a implantar la corteza ovárica. El primer embarazo exitoso conseguido con este método se informa en 2014 (173).

Aunque prometedoras, ambas técnicas basadas en la criopreservación ovárica siguen estando en fase experimental y generalmente no están disponibles para pacientes con cáncer de mama fuera de los ensayos clínicos (15). Hay estudios iniciados buscando los mejores métodos de congelación, mejores técnicas de revascularización del tejido trasplantado, sitios óptimos de injerto y

métodos fiables para detectar enfermedad residual en los tejidos trasplantados (174).

Como ya se apunta en la introducción, no hay evidencia de que la exposición de los ovocitos al letrozol aumente los defectos congénitos al nacimiento pero se desconoce el efecto si los embriones son expuestos al mismo (175). Un reciente estudio de cohortes retrospectivo que compara 3 136 ciclos naturales con 792 ciclos de EOC con letrozol confirma que no hay aumento en el riesgo de anomalías congénitas mayores en mujeres tratadas con letrozol para la EOC. Incluso describen una disminución significativa en la tasa de aborto espontáneo en mujeres que reciben letrozol (176).

El tamoxifeno, por su parte, tiene una estructura química similar al dietilestilbestrol y es potencialmente teratogénico si se administra durante el embarazo. Sin embargo, cuando se usa antes del embarazo, para la EOC, el tamoxifeno es seguro. Se reportan numerosos embarazos viables y recién nacidos sanos tras el uso de tamoxifeno para la EOC (54).

También es tranquilizador que durante la preservación de la fertilidad por criopreservación, los embriones nunca están expuestos al fármaco porque la fertilización tiene lugar in vitro y no son transferidos al útero en el ciclo en el que se utiliza el letrozol o el tamoxifeno.

La crioconservación de embriones y ovocitos se consideran estrategias estándar y son las opciones recomendadas para la preservación de la fertilidad en pacientes con cáncer de mama (177).

La criopreservación de embriones era el único procedimiento establecido para la preservación de la fertilidad durante muchos años, pero desde enero de 2013, la criopreservación de los ovocitos ya no se considera experimental (178).

Las principales ventajas de la criopreservación de ovocitos sobre la de embriones son la aplicabilidad incluso en pacientes sin pareja y en países donde la criopreservación de embriones está prohibida.

Los avances en las técnicas de reproducción proporcionan muchas opciones de preservación de la fertilidad (179). Los primeros ensayos sobre la crioconservación de ovocitos se encuentran con muchos problemas por la desalineación del huso acromático y errores en la disposición cromosómica secundarios a la formación de hielo dentro de los ovocitos durante el proceso de congelación (180). En los últimos 15 años, una mejor comprensión de la técnica de crioconservación da como resultado una evolución del método de congelación lenta y la introducción de la vitrificación. La vitrificación es un proceso que, utilizando altas concentraciones de crioprotectores y provocando el enfriamiento ultra rápido del ovocito, evita la formación de cristales de hielo (181). El agua intracitoplasmática se transforma en un estado vítreo, lo que reduce el daño celular. Este método se reconoce como una herramienta superior para la crioconservación de ovocitos (182).

La congelación ultra-rápida (vitrificación) disminuye la tasa de daño de ovocitos en comparación con el proceso de congelación

tradicional (183). Con el procedimiento de congelación lenta, una publicación reciente refleja una tasa de embarazo por transferencia del 22,8 % (184). La vitrificación de los ovocitos parece ser un enfoque más eficaz y fiable con una tasa de embarazo por transferencia del 29,4 % (185).

Aunque la vitrificación se muestra como una herramienta de reproducción asistida altamente eficaz para la preservación de la fertilidad, se recomienda encarecidamente controlar a los recién nacidos fruto de esta técnica para evaluar si existe algún riesgo asociado con esta técnica (186, 187).

Hay tres factores principales detrás de esta advertencia:

En primer lugar, se tienen algunas preocupaciones acerca del uso de altas concentraciones de sustancias crioprotectoras necesarias para lograr una vitrificación efectiva, sin cristales de hielo (188). Los efectos tóxicos inherentes al uso de altas cantidades de estas sustancias se minimizan gracias al desarrollo de nuevos métodos de vitrificación que utilizan volúmenes muy pequeños de solución de vitrificación (181, 189, 190). Algunos dispositivos de nueva generación, los llamados sistemas abiertos, requieren contacto directo entre las muestras y el nitrógeno líquido durante la vitrificación. Este factor puede generar preocupación ante las posibles consecuencias de la exposición de la muestra a cualquier elemento presente en el nitrógeno líquido (riesgo de transmisión de enfermedades...). Este temor es una de las razones principales de la reticencia a utilizar este método, lo que incluso limita su uso en algunos países. Ante esta situación, un grupo de investigadores

publica un análisis minucioso de las técnicas existentes. Revela que tan solo una parte de los llamados métodos cerrados está libre de cualquier posible fuente de contaminación. Comprueba que, realmente, ni los sistemas abiertos ni cerrados se asocian hasta ahora a transmisión de enfermedades. La abrumadora evidencia muestra que los sistemas abiertos son efectivos y seguros tanto para el blastocisto como para la vitrificación de ovocitos (191).

En segundo lugar, la arquitectura especial de los ovocitos maduros los hace más sensibles a los procesos de crioconservación, provocando que el análisis del resultado perinatal, así como del desarrollo a largo plazo de los/as niños/as nacidos/as de los ovocitos vitrificados, sean necesarios para descartar cualquier efecto adverso en la descendencia.

En tercer lugar, la reciente introducción de la vitrificación en la práctica clínica la convierte en una estrategia novedosa y, como tal, se recomienda la evaluación de la progenie para validar completamente este enfoque.

Los resultados obstétricos y perinatales obtenidos tras vitrificación de ovocitos son similares a los obtenidos con ovocitos frescos. Esto resulta tranquilizador con respecto a la seguridad del procedimiento de vitrificación (192).

Una revisión que contiene datos sobre 936 crioconservaciones de ovocitos (incluyendo 532 de congelación lenta, 392 de vitrificación y 12 de ambos) compara los resultados de las gestaciones obtenidas con ovocitos crioconservados con los datos sobre gestaciones naturales recogidas en las estadísticas nacionales estadounidenses (193). La tasa global de anomalías en el grupo de criopreservación es

de 1,3 % (1,1 % para congelación lenta, 1,5 % para vitrificación), lo que es comparable a la tasa obtenida en las gestaciones espontáneas del registro nacional estadounidense (3 %).

Revisando estudios con series grandes, después de ajustar potenciales factores de confusión, se puede comprobar que la vitrificación no tiene efectos adversos clínicamente relevantes sobre los resultados obstétricos y perinatales. No se encuentran diferencias entre los resultados de las pacientes que utilizan ovocitos vitrificados vs. ovocitos frescos en la tasa de problemas obstétricos (incluyendo diabetes, hipertensión inducida por el embarazo, parto prematuro, anemia y colestasis), edad gestacional en el momento del parto, peso al nacer, puntuaciones de Apgar, defectos congénitos, necesidad de cuidados de la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI) neonatal, mortalidad perinatal y problemas puerperales. Solo se objetiva un mayor número de amniocentesis y una menor incidencia de infección del tracto urinario en el grupo de pacientes que utilizan ovocitos vitrificados (39).

Otros estudios investigan la seguridad de la técnica de vitrificación de ovocitos a nivel del laboratorio analizando tres ítems (194):

- La segregación meiótica cromosómica
- La cinética de desarrollo embrionario
- El estado de (hidroxi)metilación del ADN.

Comparan los ovocitos “hermanos” frescos y vitrificados de donantes jóvenes después de microinyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI).

En primer lugar, obtienen la constitución cromosómica de los cigotos fecundados a partir de arrays de ambos corpúsculos polares biopsiados en el día 1.

En segundo lugar, analizan el desarrollo del embrión hasta el día 3 mediante imágenes de time-lapse. Registran diez puntos de tiempo específicos, seis intervalos de tiempo morfocinéticos y el número de células promedio en el día 3.

En tercer lugar, analizan la metilación global del ADN y sus patrones de hidroximetilación utilizando inmunofluorescencia de los embriones en día 3.

El examen cromosómico completo de los corpúsculos polares demuestra que al menos la mitad de los cigotos obtenidos después de ICSI de ovocitos frescos y vitrificados son euploides.

El análisis de time-lapse muestra que no hay diferencias significativas en los tiempos de división, en los intervalos de tiempo morfocinéticos predictivos ni en el número de células promedio entre embriones desarrollados a partir de ovocitos frescos y vitrificados.

Finalmente, los patrones globales de metilación del (hidroxi)ADN no son significativamente diferentes entre los embriones obtenidos de ovocitos frescos y vitrificados. Estos datos obtenidos en laboratorio certifican aún más la seguridad de la técnica de vitrificación de ovocitos para la futura progenie.

Un tema del que aún no se tiene mucha información es acerca del efecto de la duración del almacenamiento de los ovocitos congelados. Hay pocos datos sobre la pérdida de viabilidad o sobre las consecuencias en los recién nacidos que pueden provocar las



prolongaciones de este tiempo de almacenamiento. Un estudio evalúa ovocitos congelados hasta 48 meses y no encuentra diferencias (en cuanto a supervivencia, fertilización, división, calidad del embrión, implantación y tasa de recién nacido vivo) en comparación con los que se descongelan tras períodos más cortos (195). Para las mujeres con cáncer, la viabilidad de los gametos almacenados es esencial, ya que pueden pasar varios años desde el inicio del tratamiento hasta la desaparición del riesgo de recurrencia. Es crucial que los ovocitos puedan mantener la capacidad de fertilización y de desarrollo normal durante este período a bajas temperaturas (196). Seguramente este sea un campo de investigación y de revisión de datos importante en los próximos años.

En cuanto a la criopreservación de embriones, no es totalmente exacto extrapolar los datos obtenidos con ovocitos a embriones y viceversa, dadas las grandes diferencias en su naturaleza y comportamiento frente a la criopreservación.

Una revisión y un metaanálisis sugieren que los embarazos derivados de embriones congelados parecen ofrecer mejores resultados obstétricos y perinatales que los obtenidos después de ciclos de ovocitos frescos (en términos de hemorragia anteparto, parto prematuro, pequeños para edad gestacional y bajo peso al nacer) (197, 198). Estas observaciones también son destacadas por otros investigadores (199, 200).

Los estudios de seguimiento de los/as niños/as nacidos/as después de la vitrificación de blastocistos son relativamente escasos. Un trabajo revisa el uso del sistema abierto Cryoloop en 435 ciclos de

vitrificación de blastocistos. Se consiguen 147 recién nacidos vivos, con edad gestacional en el momento del parto, peso al nacer y la tasa de anomalías congénitas comparables con el grupo control formado por gestaciones conseguidas con ovocitos frescos.

Las evidencias más relevantes publicadas hasta ahora acerca de embriones vitrificados confirman que los eventos obstétricos y perinatales adversos no están influenciados por la vitrificación.

Para una técnica tan novedosa como es la crioconservación de tejido ovárico, no existen todavía estudios de peso acerca de las consecuencias que puede tener sobre los fetos y los neonatos. Hasta el momento, todos los recién nacidos reportados están sanos.

Está claro que las mujeres que utilizan sus ovocitos o embriones crioconservados por cáncer de mama consiguen embarazo. Los resultados del embarazo después de la EOC con letrozol y gonadotropinas en mujeres con cáncer de mama están a la altura de la población sana, con un 51,5% de tasa de fertilidad entre las mujeres que intentan embarazo con embriones crioconservados (108). Otra cosa es comprobar que estas gestaciones no supongan un aumento en la recurrencia de cáncer de mama en estas pacientes.

La mayoría de los tumores de mama son modulados por los estrógenos. Esto provoca una preocupación comprensible acerca del impacto del embarazo en el riesgo de recurrencia del cáncer de mama.

Históricamente, basándose en estos supuestos puramente teóricos, el embarazo después del cáncer de mama no se recomienda debido

al temor de un posible impacto negativo en el pronóstico de las pacientes.

Esto se refleja en la tasa de interrupción del embarazo que es mayor en las pacientes con un antecedente de cáncer de mama. Aquí se puede ver como la incertidumbre de las pacientes y de los médicos sobre la seguridad del embarazo después del cáncer de mama, a menudo, conduce a decisiones dramáticas (201).

Sin embargo, los datos clínicos recientes no confirman el impacto negativo del embarazo sobre la supervivencia. Todas las evidencias disponibles sugieren que el embarazo espontáneo después del cáncer de mama no afecta al pronóstico.

Es más, los estudios que comparan la supervivencia libre de enfermedad en las pacientes con antecedente de cáncer de mama que deciden llevar su embarazo a término y en las pacientes que interrumpen gestación encuentran una tendencia no estadísticamente significativa hacia mejores resultados en las mujeres que llevan el embarazo hasta el término (202).

Existen estudios de casos y poblacionales que evalúan la supervivencia en mujeres embarazadas después de cáncer de mama. Los cambios hormonales durante el embarazo son complejos pero no parecen tener un impacto negativo sobre el pronóstico del cáncer de mama (203).

La bibliografía recoge un análisis retrospectivo de un gran conjunto de datos poblacionales y un metaanálisis que agrupa 14 estudios más pequeños (con 1 244 pacientes embarazadas después de un cáncer de mama frente a 18 145 pacientes con cáncer de mama que optan por no quedarse embarazadas). Sus resultados demuestran que el

embarazo después del cáncer de mama no tiene mayor riesgo de resultados adversos (201, 204). Muestran incluso una reducción significativa del riesgo de muerte del 41 % en mujeres que quedan embarazadas después del cáncer de mama comparado con aquellas que no quedan embarazadas después del cáncer.

El embarazo después del cáncer de mama parece que se asocia con un aumento de la supervivencia. Sin embargo, esta observación ha de atribuirse, al menos en parte, al "efecto sano de la madre" (205). Este es un concepto relativamente antiguo introducido por Sankila en 1994 para explicar un posible factor de confusión en la interpretación del efecto del embarazo observado en mujeres con cáncer de mama. Expresa la posibilidad de que las mujeres que buscan embarazo y quedan embarazadas después del cáncer de mama son un subgrupo de pacientes probablemente más sanas que las otras. Esto podría introducir un sesgo de selección: las mujeres que quedan embarazadas después del cáncer de mama tienen mejor supervivencia porque pertenecen a un subgrupo de pacientes más sanas, con mejor pronóstico, independientemente y no por un efecto protector directo del embarazo. A pesar de este sesgo de selección, los autores concluyen que el embarazo es seguro en mujeres con antecedentes de cáncer de mama y no aumenta el riesgo de recurrencia.

Para completar estos hallazgos, se realiza recientemente un estudio de cohorte retrospectivo multicéntrico para examinar el impacto del embarazo según el estatus de los receptores de estrógenos del cáncer de mama. No halla diferencias significativas en la supervivencia libre de enfermedad entre pacientes con receptores de

estrógenos positivos y negativos. El grupo de pacientes que consigue gestación muestra una reducción del riesgo de muerte de un 28 %, sin relación con el estado de los receptores de estrógeno (202).

Otro estudio de cohorte retrospectivo de mujeres que quedan embarazadas después del cáncer de mama también demuestra que no hay un efecto perjudicial por el uso de técnicas de reproducción asistida en cuanto a la evolución del cáncer de mama (206).

Por lo tanto, es razonable afirmar que el embarazo después del cáncer de mama es seguro, incluso para pacientes con antecedentes de cáncer de mama con receptores hormonales positivos, y que esta enfermedad no ha de ser un impedimento para completar sus deseos genésicos.

Por otro lado, muchas pacientes perciben los aspectos positivos que les puede aportar el tener hijos/as después del tratamiento del cáncer de mama. Criar a un/a niño/a puede ser poderosamente motivador para mantenerse viva y saludable y puede fortalecer la relación con la pareja. Trae de vuelta la normalidad a su vida y restaura el sentimiento de feminidad y de ser sexual (43).

Lo que no está claro es cuánto tiempo ha de transcurrir entre el final de los tratamientos contra el cáncer y el embarazo. Varios estudios analizan esta cuestión con resultados inconsistentes. Los expertos recomiendan evitar el embarazo hasta 2 años después del diagnóstico de cáncer de mama, para evitar la recaída temprana (207). Pero no hay justificación biológica o apoyo de la evidencia científica para definir un tiempo mínimo "gold standar" seguro a esperar para que las mujeres con antecedentes de cáncer de mama

se queden embarazadas. Un gran estudio poblacional corrobora que la mortalidad disminuye cuanto más tiempo transcurra entre el diagnóstico de cáncer y el parto (208).

En las pacientes con cáncer de mama con receptores de estrógeno positivos, la terapia indicada incluye por lo menos 5 años de tratamiento adyuvante con tamoxifeno por recomendación de las guías de la ESMO. Estudios clínicos aleatorizados demuestran que este tratamiento reduce en un 47 % el riesgo de recaída, y en un 26 % el riesgo de muerte. Además, recientemente, resultados del estudio ATLAS sugieren que continuar el tratamiento con tamoxifeno hasta los 10 años puede ser aún más beneficioso. A pesar de esta evidencia, muchas pacientes interrumpen el tratamiento, ya sea por efectos secundarios o bien para buscar un embarazo (el tamoxifeno es teratogénico y está contraindicado durante la gestación).

El ensayo POSITIVE (Pregnancy Outcome and Safety of Interrupting Therapy for Women with Endocrine Responsive Breast Cancer) es un ensayo clínico de un solo brazo que evalúa prospectivamente la seguridad de interrumpir la terapia hormonal para intentar el embarazo en mujeres con cáncer de mama en estadios iniciales con receptores hormonales positivos, incluyendo resultados de la enfermedad, reproductivos y psicosociales. Su objetivo primario es evaluar el riesgo de recaída de la paciente con cáncer de mama, asociado a la interrupción temporal del tratamiento hormonal para permitir el embarazo, medido por el intervalo libre de enfermedad. Este ensayo clínico en fase II ayudará a resolver varias cuestiones pendientes en este ámbito. Se estima que los resultados del objetivo primario estarán disponibles a mediados de 2020.

Hasta que se resuelvan estas cuestiones, el momento en el que la mujer pueda quedar embarazada minimizando riesgos ha de ser "individualizado" teniendo en cuenta la edad, su riesgo de recaída, los tratamientos previos recibidos y la necesidad de terapia endocrina adyuvante (209, 210).

Para finalizar, nuestro estudio tiene varias limitaciones.

No se trata de un estudio controlado aleatorizado (que evitaría los sesgos de selección). Sin embargo, un estudio aleatorio de este tipo no se puede realizar en esta situación. En el ámbito de la preservación de la fertilidad en pacientes oncológicas, es la paciente que ha de decidir la actitud a seguir. A pesar de la falta de asignación al azar, ambos grupos de estudio son similares (gracias a los criterios de selección establecidos) con las salvedades de la edad media y la paridad. La edad media en el grupo expuesto, es menor. Esto no se puede controlar, pues las mujeres más jóvenes tienen más probabilidades de no tener sus deseos genésicos cumplidos y están más dispuestas a preservar la fertilidad. Por otro lado, más mujeres tienen un parto previo en el grupo no expuesto. Esto tampoco se puede controlar, pues las mujeres con un parto previo tienen más probabilidades de tener sus deseos genésicos cumplidos y rechazar la preservación de la fertilidad.

Se plantea un estudio ambispectivo, no prospectivo puro. Sin embargo, así se consigue un período de seguimiento más largo salvando uno de los problemas más recurrentes de estudios previos. Aunque el mayor riesgo de recurrencia ocurre dentro de los dos primeros años después del tratamiento, las pacientes con cáncer con

receptores de estrógeno positivos tienden a tener recurrencias más allá de los 5 años después del tratamiento. De ahí la importancia del seguimiento a largo plazo (211).

También sería interesante, en un futuro, tener más datos acerca de los resultados de los embarazos obtenidos con este protocolo.

A pesar de todas estas limitaciones, nuestro estudio también tiene muchos puntos fuertes.

Se trata de una de las series más grande y con seguimiento más largo, de las publicadas hasta la fecha, acerca de la seguridad de la EOC en pacientes con cáncer de mama para vitrificación de ovocito/crioconservación de embriones.

Las variables estudiadas, supervivencia libre de enfermedad y supervivencia general, son variables de mucho peso a nivel estadístico.

Este estudio se realiza con el afán de salvaguardar y fortalecer uno de los principios más importantes de la bioética médica: “primum non nocere”.



# ***CONCLUSIONES***



Se estudia la seguridad de la EOC (con un protocolo específico de letrozol más gonadotropina y un antagonista de la GnRH) en una población homogénea de mujeres con cáncer de mama.

Nuestra investigación, realizada en pacientes con cáncer de mama precoz sometidas a EOC para la vitrificación de ovocitos, concluye que esta estrategia de preservación de la fertilidad no modifica la supervivencia libre de enfermedad ni la supervivencia general a largo plazo.

Estos resultados aportan seguridad superando una de las barreras para la preservación de la fertilidad en pacientes con cáncer de mama.

Sigue siendo importante insistir en la relevancia de las conexiones multidisciplinarias y de la información transmitida desde la consulta de oncología para la derivación precoz de estas mujeres a las unidades de reproducción asistida para que se puedan beneficiar de las técnicas de preservación de fertilidad.

Sería útil, y a valorar en un futuro, la realización de más estudios o metaanálisis aprovechando los numerosos datos recogidos por investigaciones previas.



# ***BIBLIOGRAFÍA***



1. Altobelli E, Rapacchietta L, Angeletti PM, Barbante L, Profeta FV, Fagnano R. Breast cancer screening programmes across the WHO european region: Differences among countries based on national income level. *Int J Environ Res Public Health*. 2017;14(4):452
2. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*. 2018;68(6):394-424
3. Siegel R, Naishadaham D, Jemal A. Cancer Statistics, 2013. *CA Cancer J Clin*. 2013;63(1):11-30
4. Glass AG, Lacey Jr JV, Carreon JD, Hoover RN. Breast cancer incidence, 1980-2006: combined roles of menopausal hormone therapy, screening mammography, and estrogen receptor status. *J Natl Cancer Inst*. 2007;99(15):1152-1161
5. Pollán M, Pastor-Barriuso R, Ardanaz E, Argüelles M, Martos C, Galcerán J, et al. Recent changes in breast cancer incidence in Spain, 1980-2004. *J Natl Cancer Inst*. 2009;101(22):1584-91
6. Edad Media a la Maternidad por orden del nacimiento según nacionalidad (española/extranjera) de la madre [Internet]. Madrid: Instituto Nacional de Estadística; 2016 [consultado 3 de junio de 2020]. Disponible en: <https://www.ine.es/jaxiT3/Tabla.htm?t=1579&L=0>

7. Martos MC, Saurina C, Feja C, Saez M, Burriel MC, Barceló MA, et al. Accurately estimating breast cancer survival in Spain: cross-matching local cancer registers with the National Death Index. *Rev Panam Salud Publica*. 2009;26(1):51-4
8. Hilmestein-Braw R, Peters H, Faber M. Morphological study of the ovaries of leukemia children. *Br J Cancer*. 1978;38(1):82-87
9. Chapman RM, Sutcliffe SB, Malpas JS. Cytotoxic-induced ovarian failure in women with Hodgkin's disease. I. Hormone function. *JAMA*. 1979;242(17):1877-1881
10. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group. Effects of chemotherapy and hormonal therapy for early breast cancer on recurrence and 15-year survival: an overview of the randomised trials. *Lancet*. 2005;365(9472):1687-1717
11. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group. Comparisons between different polychemotherapy regimens for early breast cancer: meta-analyses of long term outcome among 100 000 women in 123 randomised trials. *Lancet*. 2012;379:432-44
12. National Comprehensive Cancer Network. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology Breast Cancer [internet]. 2017. Available from: [https://www.nccn.org/professionals/physician\\_gls/pdf/breast\\_blocks.pdf](https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/breast_blocks.pdf)
13. Schroeder MC, Lynch CF, Abu-Hejleh T, Chrischilles EA, Thomas A. Chemotherapy use and surgical treatment by receptor subtype in



- node-negative T1a and T1b female breast cancers, Iowa SEER Registry, 2010 to 2012. *Clin Breast Cancer*. 2015;15(1):e27-34
14. Goldhirsch A, Ingle JN, Gelber RD, Coates AS, Thurliman B, Senn HJ. Thresholds for therapies: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on primary therapy of early breast cancer. 2009. *Ann Oncol*. 2009;20:1319-29
  15. Loren AW, Mangu PB, Beck LN, Brennan L, Magdalinski AJ, Partridge AH, et al. Fertility preservation for patients with cancer: American Society of Clinical Oncology clinical practice guideline update. *J Clin Oncol*. 2013;31(19):2500-10
  16. Ebbel E, Katz A, Kao CN, Cedars M. Reproductive aged women with cancer have a lower antral follicle count than expected. *Fertil Steril*. 2011;96:315-316
  17. Anderson R, Wallace W. Antimüllerian hormone, the assessment of the ovarian reserve, and the reproductive outcome of the young patient with cancer. *Fertil Steril*. 2013;99(6):1469-75
  18. Ordu C, Gachayev F, Elbuken F, Baysal B, Pilanci KN, Alco G. Anti-mullerian hormone (AMH) levels and antral follicle counts (AFC) may predict ovarian reserves before systemic chemotherapy (SC) in women with breast cancer (BC): A prospective clinical study. *Ann Oncol*. 2019;30:v85-v86
  19. Lee SJ, Schover LR, Partridge AH, Patrizio P, Wallace WH, Hagerly K, et al. American Society of Clinical Oncology recommendations

- on fertility preservation in cancer patients. *J Clin Oncol*. 2006;24:2917-2931
20. Letourneau J, Ebbel E, Katz P, Oktay KH, McCulloch C, Ai WZ, et al. Acute ovarian failure underestimates age-specific reproductive impairment for young women undergoing chemotherapy for cancer. *Cancer*. 2012;118:1933-1939
  21. De Vos M, Smits J, Woodruff TK. Fertility preservation in women with cancer. *Lancet*. 2014;384(9950):1302-10
  22. Oktem O, Ata B, Urman B. The impact of the addition of taxane to AC regimen on ovarian function in breast cancer patients: a meta-analysis of five randomized studies. *Fertil Steril*. 2013;100(3):S153–S154
  23. Wallace WH, Kelsey TW, Anderson RA. Ovarian cryopreservation: experimental or established and a cure for the menopause? *Reprod Biomed Online*. 2012;25:93-95
  24. Donnez J, Silber S, Andersen CY, Demeestere I, Piver P, Meirow D, et al. Children born after autotransplantation of cryopreserved ovarian tissue. A review of 13 live births. *Ann Med*. 2011;43:437-50

25. Anderson RA, Wallace WHB, Baird T. Ovarian cryopreservation for fertility preservation: indications and outcomes. *Reproduction*. 2008;136:681-689
26. Moore HC, Unger JM, Phillips KA, Boyle F, Hitre E, Porter D et al. Goserelin for ovarian protection during breast-cancer adjuvant chemotherapy. *N Engl J Med*. 2015;372:923-32
27. Blumenfeld Z, von Wolff M. GnRH-analogues and oral contraceptives for fertility preservation in women during chemotherapy. *Hum Reprod Update*. 2008;14:543-52
28. Del Mastro L, Boni L, Michelotti A, Gamucci T, Olmeo N, Gori S, et al. Effect of the gonadotropin-releasing hormone analogue triptorelin on the occurrence of chemotherapy-induced early menopause in premenopausal women with breast cancer: a randomized trial. *JAMA*. 2011;20:269-76
29. Ataya K, Rao LV, Lawrence E, Kimmel R. Luteinizing hormone-releasing hormone agonist inhibits cyclophosphamide-induced ovarian follicular depletion in Rhesus monkeys. *Biol Reprod*. 1995;52:365-72
30. Kishk EA, Mohammed Ali MH. Effect of a gonadotropin-releasing hormone analogue on cyclophosphamide-induced ovarian toxicity in adult mice. *Arch Gynecol Obstet*. 2013;287:1023-9
31. Li X, Kang X, Deng Q, Cai J, Wang Z. Combination of a GnRH agonist with an antagonist prevents flare-up effects and protects

- primordial ovarian follicles in the rat ovary from cisplatin-induced toxicity: a controlled experimental animal study. *Reprod Biol Endocrinol.* 2013;11:16
32. Meirow D, Assad G, Dor J, Rabinovici J. The GnRH antagonist cetrorelix reduces cyclophosphamide-induced ovarian follicular destruction in mice. *Hum Reprod.* 2004;19:1294-9
33. Badawy A, Elnashar A, El-Ashry M, Shahat M. Gonadotropin-releasing hormone agonists for prevention of chemotherapy-induced ovarian damage: prospective randomized study. *Fertil Steril.* 2009;91:694-7
34. Elgindy EA, El-Haieg DO, Khorshid OM, Ismail EI, Abdelgawad M, Sallam HN, et al. Gonadotrophin suppression to prevent chemotherapy induced ovarian damage: a randomized controlled trial. *Obstet Gynecol.* 2013;121:78-86
35. Oktay K, Rodriguez-Wallberg K, Munster P. Ovarian protection during adjuvant chemotherapy. *N Engl J Med.* 2015;372:2268-9
36. Hsueh AJ, McGee EA, Hayashi M, Hsu SY. Hormonal regulation of early follicle development in the rat ovary. *Mol Cell Endocrinol.* 2000;163:95-100
37. Cox E, Takov V. Embryology, ovarian follicle development. *StatPearls* [Internet]. 2018 [consultado 5 de mayo 2020]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK532300/>

38. Frydman R, Grynberg M. Introduction: Female fertility preservation: innovations and questions. *Fertil Steril*. 2016;105:4-5
39. Cobo A, Serra V, Garrido N, Olmo I, Pellicer A, Remohí J. Obstetric and perinatal outcome of babies born from vitrified oocytes. *Fertil Steril*. 2014;102:1006-15.
40. Cakmak H, Rosen MP. Ovarian stimulation in cancer patients. *Fertil Steril*. 2013;99:1476-1484
41. Cobo A, Garcia-Velasco JA, Domingo J, Remohí JA, 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
42. Sonmezer M, Oktay K. Fertility preservation in young women undergoing breast cancer therapy. *The Oncologist*. 2006;11:422-436
43. Gonçalves V, Sehovic I, Quinn G. Childbearing attitudes and decisions of young breast cancer survivors: a systematic review. *Hum Reprod Update*. 2014;20(2):279-292
44. Doyle P, Maconochie N, Beral V, Swerdlow AJ, Tan SL. Cancer incidence following treatment for infertility at a clinic in the UK. *Hum Reprod*. 2002;17(8):2209-13

45. Brinton LA, Scoccia B, Moghissi KS, Westhoff CL, Althuis MD, Mabie JE, et al. Breast cancer risk associated with ovulation stimulating drugs. *Hum Reprod.* 2004;19:2005-2013
46. Lerner-Geva L, Rabinovici J, Lunenfeld B. Ovarian stimulation: is there a long-term risk for ovarian, breast and endometrial cancer? *Womens Health (Lond Engl).* 2010;6(6):831-9
47. Brinton LA, Scoccia B, Moghissi KS, Westhoff CL, Niwa S, Ruggieri D. Long-term relationship of ovulation-stimulating drugs to breast cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2014; 23:584-593
48. Siristatidis C, Sergentanis TN, Kanavidis P, Trivella M, Sotiraki M, Mavromatis I, et al. Controlled ovarian hyperstimulation for IVF: impact on ovarian, endometrial and cervical cancer - a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update.* 2013;19(2):105-112
49. Leeuwen FE, Klip H, Mooij TM, van de Swaluw AM, Lambalk CB, Kortman M, et al. Risk of borderline and invasive ovarian tumours after ovarian stimulation for in vitro fertilization in a large Dutch cohort. *Hum Reprod.* 2011;26:3456-465
50. Rizzuto I, Behrens RF, Smith LA. Risk of ovarian cancer in women treated with ovarian stimulating drugs for infertility. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2013, Issue 8. Art. No.:CD008215. DOI: 10.1002/14651858.CD008215.pub2.

51. Sönmezer M, Cil AP, Oktem O, Oktay K. Breast cancer diagnosis following ovarian stimulation: Are the tumours different? *Reprod Biomed Online*. 2010;21:266-271
52. Oktay K, Hourvitz A, Shanin G, Oktem O, Safro B, Cil A, et al. Letrozole reduces estrogen and gonadotropin exposure in women with breast cancer undergoing ovarian stimulation before chemotherapy. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006;91:3885-90
53. Reddy J, Oktay K. Ovarian stimulation and fertility preservation with the use of aromatase inhibitors in women with breast cancer. *Fertil Steril*. 2012;98:1363-69
54. Oktay K, Buyuk E, Davis O. Fertility preservation in breast cancer patients: IVF and embryo cryopreservation after ovarian stimulation with tamoxifen. *Hum Reprod*. 2003;18:90-95
55. Checa M, Robles A, Sastre i Cuadrado M, Gonzalez M, Brasseresco M, Carreras R. The effects of letrozole on ovarian stimulation for fertility preservation in cancer-affected women. *Reprod Biomed Online*. 2012;24:606-10
56. Oktay K. Further evidence on the safety and success of ovarian stimulation with letrozole and tamoxifen in breast cancer patients undergoing in vitro fertilization to cryopreserve their embryos for fertility preservation. *J Clin Oncol*. 2005;23:3858-3859

57. Oktay K, Türküoğlu I, Rodriguez-Wallberg KA. GnRH agonist trigger for women with breast cancer undergoing fertility preservation by aromatase inhibitor/FSH stimulation. *Reprod BioMed Online*. 2010;20:783-788
58. REAL DECRETO 1015/2009, de 19 de junio B.O.E. nº 174 de 20 de julio de 2009
59. Von Wolff M, Thaler CJ, Frambach T, Zeeb C, Lawrenz B, Popovici RM, et al. Ovarian stimulation to cryopreserve fertilized oocytes in cancer patients can be started in the luteal phase. *Fertil Steril*. 2009;92:1360-1365
60. Quintero RB, Helmer A, Huang JQ, Westphal LM. Ovarian stimulation for fertility preservation in patients with cancer. *Fertil Steril*. 2010;93:865-867
61. Speroff L, Fritz M. *Clinical gynecologic endocrinology and infertility*. 8<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 2011
62. Friedler S, Koc O, Gidoni Y, Raziell A, Ron R. Ovarian response to stimulation for fertility preservation in women with malignant disease: a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril*. 2012;97:125-133
63. Oktay K, Kim Y, Barad D, Babayev SN. Association of BRCA1 mutations with occult primary ovarian insufficiency: a possible



explanation for the link between infertility and breast/ovarian cancer risks. *J Clin Oncol.* 2010;28:240-244

64. Domingo J, Guillén V, Ayllon Y, Martínez M, Muñoz E, Pellicer A, et al. Ovarian response to controlled ovarian hyperstimulation in cancer patients is diminished even before oncological treatment. *Fertil Steril.* 2012;97:930-934
65. Knopman JM, Noyes N, Talebian S, Krey LC, Grifo JA, Licciardi F. Women with cancer undergoing ART for fertility preservation: a cohort study of their response to exogenous gonadotropins. *Fertil Steril.* 2009;91:1476-8
66. 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;23:4347-53
67. Dahan T, Balkenende E, van Welwy M, Linn S, Goddijin M. Tamoxifen or letrozole versus standard methods for women with estrogen-receptor positive breast cancer undergoing oocyte or embryo cryopreservation in assisted reproduction. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2013, Issue11. Art. No.:CD010240. DOI:10.1002/14651858.CD010240.pub2.
68. Turan V, Bedoschi G, Moy F, Oktay K. Safety and feasibility of performing two consecutive ovarian stimulation cycles with the use of letrozole-gonadotropin protocol for fertility preservation in breast cancer patients. *Fertil Steril.* 2013;100:1681-685

69. Lee S, Oktay K. Does higher starting dose of FSH stimulation with letrozole improve fertility preservation outcomes in women with breast cancer? *Fertil Steril*. 2012;98:961-964
70. Yager JD, Davidson N. Estrogen carcinogenesis in Breast Cancer. *N Engl J Med*. 2006;354:270-82
71. Boukaidi SA, Cooley A, Hardy A, Matthews L, Zelivianski S, Jeruss J. Impact of infertility regimens on breast cancer cell: follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone lack a direct effect on breast cell proliferation in vitro. *Fertil Steril*. 2012;97:440-4
72. Lohrisch C, Paltiel C, Gelmon K, Speers C, Taylor S, Barnett J, et al. Impact on survival of time from definitive surgery to initiation of adjuvant chemotherapy for early-stage breast cancer. *J Clin Oncol*. 2006;24:4888-94
73. Cooley A, Matthews L, Zelivianski S, Hardy A, Jeruss JS. Effect of infertility and pregnancy-related hormones on breast cell proliferation in vitro. *Hum Reprod*. 2012;27:146-152
74. Moosdorff M, van Roozendaal LM, Strobbe LJ, Aebi S, Cameron DA, Dixon JM, et al. Maastricht Delphi consensus on event definitions for classification of recurrence in breast cancer research. *J Natl Cancer Inst*. 2014;7:106
75. Daum H, Peretz T, Laufer N. BRCA mutations and reproduction. *Fertil Steril*. 2018;109:33-38

76. Gross SW. A practical treatise of tumors of the mammary gland. New York: D. Appelton & Co; 1880
77. Bloom HJG. Survival of women with untreated breast cancer-past and present. In: Forrest APM, Kunkler PB, editors. Prognostic factors in breast Cancer. Edinburgh: E. & S. Livingston Ltd; 1968
78. Halsted WS. The results of operations for the cure of cancer of the breast performed at The Johns Hopkins Hospital from June 1889 to January 1894. Johns Hopkins Hosp Rep. 1894;4:297-350
79. Brinkley D, Haybittle JL. The curability of breast cancer. Lancet. 1975;2:9-14
80. Fisher B. Laboratory and clinical research in breast cancer: a personal adventure: the David A. Karnofsky memorial lecture. Cancer Res. 1980;40:3863
81. Retsky M, Demicheli R, Hrushesky W, Baum M, Gukas I. Surgery triggers outgrowth of latent distant disease in breast cancer: an inconvenient truth? Cancers. 2010;2:305-37
82. Baum M. Modern concepts of the natural history of breast cancer: A guide to the design and publication of trials of the treatment of breast cancer. Eur J Cancer. 2013;49:60-4
83. Demaria S, Pikarsky E, Karin M, Coussens LM, Chen YC, El-Omar EM, et al. Cancer and inflammation: promise for biologic therapy. J Immunother. 2010;33(4):335-51

84. Pellegrini I, Rapti M, Extra JM, Petri-Cal A, Apostolidis T, Ferrero JM, et al. Tailored chemotherapy based on tumour gene expression analysis: breast cancer patients' misinterpretations and positive attitudes. *Eur J Cancer Care (Engl)*. 2012;21(2):242-50
85. Hortobagyi GN. Toward individualized breast cancer therapy: translating biological concepts to the bedside. *Oncologist*. 2012;17(4):577-84
86. Haldar R, Shaashua L, Lavon H, Lyons YA, Zmora O, Sharon E, et al. Perioperative inhibition of  $\beta$ -adrenergic and COX2 signaling in a clinical trial in breast cancer patients improves tumor Ki-67 expression, serum cytokine levels, and PBMCs transcriptome. *Brain Behav Immun*. 2018;73:294-309
87. SEOM [Internet]. Las cifras del cáncer en España. SEOM: Sociedad Española de Oncología Médica. 2020 [citado el 10 de Marzo de 2020]. Disponible en: [https://seom.org/seomcms/images/stories/recursos/Cifras del cancer\\_2020.pdf](https://seom.org/seomcms/images/stories/recursos/Cifras_del_cancer_2020.pdf)
88. Autier P, Boniol M, Gavin A, Vatten LJ. Breast cancer mortality in neighboring European countries with different levels of screening but similar access to treatment: trend analysis of WHO mortality database. *BMJ*. 2011;343:d4411
89. Burton RC, Bell RJ, Thiagarajah G, Stevenson C. Adjuvant therapy, not mammographic screening, accounts for most of the observed

- breast cancer specific mortality reductions in Australian women since the national screening program began in 1991. *Breast Cancer Res Treat.* 2012;131(3):949-955
90. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group. Effect of radiotherapy after mastectomy and axillary surgery on 10-year recurrence and 20-year breast cancer mortality: meta-analysis of individual patient data for 8135 women in 22 randomised trials. *Lancet.* 2014;383:2127-35
91. Gradishar WJ. Adjuvant endocrine therapy for early breast cancer: the story so far. *Cancer Invest.* 2010;28(4):433-442
92. Hassan MS, Ansari J, Spooner D, Hussain SA. Chemotherapy for breast cancer. *Oncol Rep.* 2010;24(5):1121-1131
93. Howlader N, Noone A, Krapcho M, Neyman N, Aminou R, Waldron W, et al. SEER Cancer Statistics Review, 1975-2008. Bethesda: National Cancer Institute, 2011. Available at [http://seer.cancer.gov/csr/1975\\_2008/index.html](http://seer.cancer.gov/csr/1975_2008/index.html). Accessed 15 June 2011
94. Sankaranarayanan R, Swaminathan R, Brenner H, Chen K, Chia KS, Chen JG, et al. Cancer survival in Africa, Asia, and Central America: a population-based study. *Lancet Oncol.* 2010;11(2):165-173
95. Zuo T, Zeng H, Li H, Liu S, Xia C, Zheng R, et al. The influence of stage at diagnosis and molecular subtype on breast cancer

- patient survival: a hospital-based multi-center study. *Chin J Cancer*. 2017;36(1):84
96. Ferlay J, Soerjomataram I, Ervik M, Dikshit R, Eser S, Mathers C, et al. GLOBOCAN 2012 v1.0, cancer incidence and mortality worldwide: IARC CancerBase No. 11 [Internet]. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2013. Available from: <http://globocan.iarc.fr>
97. Dibden A, Offman J, Duffy SW, Gabe R. Worldwide review and meta-analysis of cohort studies measuring the effect of mammography screening programmes on incidence-based breast cancer mortality. *Cancers*. 2020;12(4):976
98. Anderson BO, Yip CH, Smith RA, Shyyan R, Sener SF, Eniu A, et al. Guideline implementation for breast healthcare in low-income and middle-income countries: overview of the Breast Health Global Initiative Global Summit 2007. *Cancer*. 2008;113(8 Suppl):2221-2243
99. Yankaskas BC. Epidemiology of breast cancer in young women. *Breast Dis*. 2005;23:3-8
100. DeSantis CE, Ma J, Gaudet MM, Newman LA, Miller KD, Goding Sauer A, et al. Breast Cancer Statistics, 2019. *Ca Cancer J Clin*. 2019;69:438-451
101. Azim HA Jr, Partridge AH. Biology of breast cancer in young women. *Breast Cancer Res*. 2014;16(4):427

102. Canello G, Maisonneuve P, Rotmensz N, Viale G, Mastropasqua MG, Pruneri G, et al. Prognosis and adjuvant treatment effects in selected breast cancer subtypes of very young women (<35 years) with operable breast cancer. *Ann Oncol.* 2010;21(10):1974e81
103. Rosen A, Rodriguez-Wallberg KA, Rosenzweig L. Psychosocial distress in young cancer survivors. *Semin Oncol Nurs.* 2009;25(4):268e77
104. Partridge AH, Gelber S, Peppercorn J, Sampson E, Knudsen K, Laufer M, et al. Web-based survey of fertility issues in Young women with breast cancer. *J Clin Oncol.* 2004;22(20):4174-83
105. Stensheim H, Cvancarova M, Moller B, Fossa SD. Pregnancy after adolescent and adult cancer: a population-based matched cohort study. *Int J Cancer.* 2011;129:1225-1236
106. Anderson RA, Brewster DH, Wood R, Nowell S, Fischbacher C, Kelsey TW, et al. The impact of cancer on subsequent chance of pregnancy: a population-based analysis. *Hum Reprod.* 2018;33:1281-1290
107. Ruddy KJ, Gelber SI, Tamimi RM, Ginsburg ES, Schapira L, Come SE, et al. Prospective study of fertility concerns and preservation strategies in young women with breast cancer. *J Clin Oncol.* 2014;32:1151-1156

108. 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
109. Lambertini M, Anserini P, Levaggi A, Poggio F, Del Mastro L. Fertility counseling of young breast cancer patients. *J Thorac Dis.* 2013;5:S68-S80
110. Pursche T, Bauer J, Hammersen F, Rody A, Waldmann A, Fische D. Early-onset breast cancer: effect of diagnosis and therapy on fertility concerns, endocrine system, and sexuality of young mothers in Germany. *Breast Care (Basel).* 2019;14:23-9
111. Levine JM, Kelvin JF, Quinn GP, Gracia CR. Infertility in reproductive-age female cancer survivors. *Cancer.* 2015;121:1532-1539
112. Kim J, Oktay K, Gracia C, Lee S, Morse C, Mersereau JE. Which patients pursue fertility preservation treatments? A multicenter analysis of the predictors of fertility preservation in women with breast cancer. *Fertil Steril.* 2012;97:671-676
113. Shnorhavorian M, Harlan LC, Smith AW, Keegan TH, Lynch CF, Prasad PK, et al. Fertility preservation knowledge, counseling, and actions among adolescent and young adult patients with cancer: a population-based study. *Cancer.* 2015;121:3499-3506



114. Venn A, Watson L, Bruinsma F, Giles G, Healy D. Risk of cancer after use of fertility drugs with in-vitro fertilization. *Lancet*. 1999;354(9190):1586-1590
115. Sonmezer M, Akar M, Oktay K. Strong family history in women who were diagnosed with breast cancer after in vitro fertilization. *Fertil Steril*. 2005;84:S233-S234
116. Siegelmann-Danieli N, Tamir A, Zohar H, Papa MZ, Chetver LL, Gallimidi Z, et al. Breast cancer in women with recent exposure to fertility medications is associated with poor prognostic features. *Ann Surg Oncol*. 2003;10:1031-1038
117. Pappo I, Lerner-Geva L, Halevy A, Olmer L, Friedler S, Raziell A, et al. The possible association between IVF and breast cancer incidence. *Ann Surg Oncol*. 2008;15(4):1048-1055
118. Reigstad MM, Larsen IK, Myklebust TA, Robsahm TE, Oldereid NB, Omland AK, et al. Risk of breast cancer following fertility treatment-a registry based cohort study of parous women in Norway. *Int J Cancer*. 2015;136(5):1140-1148
119. Stewart LM, Holman CD, Hart R, Bulsara MK, Preen DB, Finn JC. In vitro fertilization and breast cancer: is there cause for concern? *Fertil Steril*. 2012;98(2):334-340
120. Katz D, Paltiel O, Peretz T, Revel A, Sharon N, Maly B, et al. Beginning IVF treatments after age 30 increases the risk of breast

cancer: results of a case-control study. *Breast J.* 2008;14(6):517-522

121. Lerner-Geva L, Pappo I, Olmar L, Friedler S, Raziell A, Ron-El R. Breast cancer incidence in infertile women with and without IVF treatment as compared with the general population. *Fertil Steril.* 2006;86(2):S110-S110
122. Zreik TG, Mazloom A, Chen Y, Vannucci M, Pinnix CC, Fulton S, et al. Fertility drugs and the risk of breast cancer: a meta-analysis and review. *Breast Cancer Res Treat.* 2010;124:13-26
123. Sergentanis TN, Diamantaras AA, Perlepe C, Kanavidis P, Skalkidou A, Petridou ET. IVF and breast cancer: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update.* 2014;20(1):106-123
124. van den Belt-Dusebout AW, Spaan M, Lambalk CB, Kortman M, Laven JSE, van Santbrink EJP, et al. Ovarian stimulation for in vitro fertilization and long-term risk of breast cancer. *JAMA.* 2016;316(3):300-312
125. Derks-Smeets IAP, Schrijver LH, de Die-Smulders CEM, Tjan-Heijnen VCD, van Golde RJT, Smits LJ, et al. Ovarian stimulation for IVF and risk of primary breast cancer in BRCA1/2 mutation carriers. *Br J Cancer.* 2018;01:357-63

126. Yue W, Yager JD, Wang JP, Jupe ER, Santen RJ. Estrogen receptor-dependent and independent mechanisms of breast cancer carcinogenesis. *Steroids*. 2013;78:161-170
127. Chung K, Hovanesian-Larsen LJ, Hawes D, Taylor D, Downey S, Spicer DV, et al. Breast epithelial cell proliferation is markedly increased with short-term high levels of endogenous estrogen secondary to controlled ovarian hyperstimulation. *Breast Cancer Res Treat*. 2012;132:653-60
128. Santen RJ. Menopausal hormone therapy and breast cancer. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2014;142,52-61
129. Fournier A, Berrino F, Riboli E, Avenel V, Clavel-Chapelon F. Breast cancer risk in relation to different types of hormone replacement therapy in the E3N-EPIC cohort. *Int J Cancer*. 2005;114:448-54
130. Marjoribanks J, Farquhar C, Roberts H, Lethaby A, Lee J. Long-term hormone therapy for perimenopausal and postmenopausal women. *Cochrane Database Systematic Review* 2017, Issue 1. Art. No.:CD004143. DOI: 10.1002/14651858.CD004143.pub5.
131. Mawson A, Lai A, Carroll JS, Sergio CM, Mitchell CJ, Sarcevic B. Oestrogen and insulin/IGF-1 co-operatively stimulate cell cycle progression in MCF-7 breast cancer cells through differential regulation of c-Myc and cyclin D1. *Mol Cell Endocrinol*. 2005;229:161-173

132. Froehlich K, Schmidt A, Heger JI, Al-Kawlani B, Aberl CA, Jeschke U. Breast cancer, placenta and pregnancy. *Eur J Cancer*. 2019;115:68-78
133. Jeruss JS, Woodruff TK. Preservation of fertility in patients with cancer. *N Engl J Med*. 2009;360:902-911
134. Brinton L, Moghissi K, Soccia B, Westhoff CL, Lamb EJ. Ovulation induction and cancer risk. *Fertil Steril*. 2005;83:261-274
135. Harper MJ, Walpole AL. Contrasting endocrine activities of cis and trans isomers in a series of substituted triphenylethylenes. *Nature*. 1966;212:87
136. Klopper A, Hall M. New synthetic agent for the induction of ovulation: Preliminary trials in women. *BMJ*. 1971;1:152-154
137. Jordan VC. Effect of tamoxifen (ICI 46,474) on initiation and growth of DMBA induced rat mammary carcinomata. *Eur J Cancer*. 1979;12:419-424
138. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group. Systemic treatment of early breast cancer by hormonal, cytotoxic, or immune therapy: 133 randomised trials involving 31,000 recurrences and 24,000 deaths among 75,000 women. *Lancet*. 1992;339:1-15

139. Mourits MJ, De Vries EG, Willemse PH, Ten Hoor KA, Hollema H, Van der Zee AG. Tamoxifen treatment and gynecologic side effects: A review. *Obstet Gynecol.* 2001;97:855-866
140. Meirow D, Raanani H, Maman E. Tamoxifen co-administration during controlled ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization in breast cancer patients increases the safety of fertility preservation treatment. *Fertil Steril.* 2014;102:488-95
141. Smith IE, Dowsett M. Aromatase inhibitors in breast cancer. *N Engl J Med.* 2003;348:2431-2442
142. Mouridsen H, Gershanovich M, Sun Y, Perez-Carrion R, Boni C, Monnier A, et al. Phase III study of letrozole versus tamoxifen as first-line therapy of advanced breast cancer in postmenopausal women: Analysis of survival and update of efficacy from the International Letrozole Breast Cancer Group. *J Clin Oncol.* 2003;21:2101-2109
143. Shetty G, Krishnamurthy H, Krishnamurthy HN, Bhatnagar S, Moudgal RN. Effect of estrogen deprivation on the reproductive physiology of male and female primates. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 1997;61:157-166
144. Mitwally MF, Casper RF. Aromatase inhibitors in ovulation induction. *Semin Reprod Med.* 2004;22:61-78

145. Kim J, Turan V, Oktay K. Long-term safety of letrozole and gonadotropin stimulation for fertility preservation in women with breast cancer. *J Clin Endocrinol Metab.* 2016;101:1364-1371
146. Klijn JGM, Beex LV, Mauriac L, van Zijl JA, Veyret C, Wildiers J, et al. Combined treatment with buserelin and tamoxifen in premenopausal metastatic breast cancer: A randomized study. *J Natl Cancer Inst.* 2000;92:903-911
147. Sonmezer M, Turkcuoglu I, Coskun U, Oktay K. Random-start controlled ovarian hyperstimulation for emergency fertility preservation in letrozole cycles. *Fertil Steril.* 2011;95:e2129-e2111
148. Azim AA, Costantini-Ferrando M, Oktay K. Safety of fertility preservation by ovarian stimulation with letrozole and gonadotropins in patients with breast cancer: a prospective controlled study. *J Clin Oncol.* 2008;26:2630-34
149. J Kim, V Turan, K Oktay. Safety of fertility preservation by ovarian stimulation with letrozole and gonadotropin in patients with breast cancer: a prospective controlled study with subgroup analysis. *Fertil Steril.* 2014;102(3),e32
150. Rodgers RJ, Reid GD, Koch J, Deans R, Ledger WL, Friedlander M, et al. The safety and efficacy of controlled ovarian hyperstimulation for fertility preservation in women with early breast cancer: a systematic review. *Hum Reprod.* 2017;32(5):1033-45

151. Marklund A, Eloranta S, Wikander I, Kitlinski ML, Lood M, Nedstrand E, et al. Efficacy and safety of controlled ovarian stimulation using GnRH antagonist protocols for emergency fertility preservation in young women with breast cancer—a prospective nationwide Swedish multicenter study. *Hum Reprod.* 2020;35(4):929-938
152. Rodriguez-Wallberg KA, Eloranta S, Krawiec K, Lissmats A, Bergh J, Liljegren A. Safety of fertility preservation in breast cancer patients in a register-based matched cohort study. *Breast Cancer Res Treat.* 2018;167:761-769
153. Letourneau JM, Wald K, Sinha N, Juarez-Hernandez F, Harris E, Cedars MI, et al. Fertility preservation before breast cancer treatment appears unlikely to affect disease-free survival at a median follow-up of 43 months after fertility-preservation consultation. *Cancer.* 2020;126:487-495
154. Letourneau J, Wald K, Harris E, Juarez-Hernandez F, Sinha N, Cedars M, et al. Fertility preservation in patients with breast cancer does not appear to affect long-term cancer outcomes even if performed prior to breast surgery. *Fertil Steril.* 2018;110(4):E182-E182
155. Kalich-Philosoph L, Roness H, Carmely A, Fishel-Bartal M, Ligumsky H, Paglin S, et al. Cyclophosphamide triggers follicle activation and “burnout”; AS101 prevents follicle loss and preserves fertility. *Sci Transl Med.* 2013;5(185):185ra62

156. Yang B, Shi W, Yang J, Liu H, Zhao H, Li X, et al. Concurrent treatment with gonadotropin-releasing hormone agonists for chemotherapy-induced ovarian damage in premenopausal women with breast cancer: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Breast Edinb Scotl*. 2013;22(2):150-157
157. Wang C, Chen M, Fu F, Huang M. Gonadotropin-releasing hormone analog cotreatment for the preservation of ovarian function during gonadotoxic chemotherapy for breast cancer: a meta-analysis. *PLoS ONE*. 2013;8(6):e66360
158. Lambertini M, Moore HCF, Leonard RCF, Loibl S, Munster P, Bruzzone M, et al. Gonadotropin-releasing hormone analogs during chemotherapy for preservation of ovarian function and fertility in premenopausal early breast cancer patients: a systematic review and meta-analysis of individual patient-level data. *J Clin Oncol*. 2018;36(19):1981-1990
159. Peccatori FA, Azim Jr HA, Orecchia R, Hoekstra HJ, Pavlidis N, Kesic V, et al. Cancer, pregnancy and fertility: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. 2013;24(Suppl. 6):vi60-70
160. Cakmak H, Rosen MP. Random-start ovarian stimulation in patients with cancer. *Curr Opin Obstet Gynecol*. 2015;27(3):215-21
161. von Wolff M, Capp E, Jauckus J, Strowitzki T, Germeyer A. Timing of ovarian stimulation in patients prior to gonadotoxic



- therapy: an analysis of 684 stimulations. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2016;199:146-9
162. Wald K, Cakmak H, Mok-Lin E, Cedars M, Rosen M, Letourneau J. Back-to-back random-start ovarian stimulation prior to chemotherapy to maximize oocyte yield. *J Assist Reprod Genet.* 2019;36(6):1161-8
163. Nakasuji T, Kawai K, Ishikawa T, Teraoka K, Takeuchi S, Miyagawa T, et al. Random-start ovarian stimulation with aromatase inhibitor for fertility preservation in women with Japanese breast cancer. *Reprod Med Biol.* 2019;18(2):167-72
164. Ferreiro E, de Uralde BL, Abreu R, García-Velasco JA, Muñoz E. Aromatase Inhibitors for ovarian stimulation in patients with breast cancer. *Curr Drug Targets.* 2020 Feb 20. [Epub ahead of print]. DOI: 10.2174/1389450121666200220124607
165. Ubaldi FM, Capalbo A, Vaiarelli A, Cimadomo D, Colamaria S, Alviggi C, et al. Follicular versus luteal phase ovarian stimulation during the same menstrual cycle (DuoStim) in a reduced ovarian reserve population results in a similar euploid blastocyst formation rate: new insight in ovarian reserve exploitation. *Fertil Steril.* 2016;105(6):1488-1495
166. Lee S, Ozkavukcu S, Heytens E. Value of early referral to fertility preservation in Young women with breast cancer. *Clin Oncol.* 2010;28:4683-6

167. Cao YX, Chian RC. Fertility preservation with immature and in vitro matured oocytes. *Semin Reprod Med.* 2009;27(6):456-64
168. Fadini R, Dal Canto MB, Mignini Renzini M, Brambillasca F, Comi R, Fumagalli D, et al. Effect of different gonadotrophin priming on IVM of oocytes from women with normal ovaries: a prospective randomized study. *Reprod Biomed Online.* 2009;19(3):343-51
169. Meiorow D, Levron J, Eldar-Geva T, Hardan I, Fridman E, Zalel Y, et al. Pregnancy after transplantation of cryopreserved ovarian tissue in a patient with ovarian failure after chemotherapy. *N Engl J Med.* 2005;353:318-321
170. Donnez J, Dolmans MM. Preservation of fertility in females with haematological malignancy. *Br J Haematol.* 2011;154(2):175-84
171. Kim SS. Assessment of long term endocrine function after transplantation of frozen-thawed human ovarian tissue to the heterotopic site: 10 year longitudinal follow-up study. *J Assist Reprod Genet.* 2012;29(6):489-93
172. Salama M, Woodruff TK. New advances in ovarian autotransplantation to restore fertility in cancer patients. *Cancer Metastasis Rev.* 2015;34:807-822
173. Prasath EB, Chan ML, Wong WH, Lim CJ, Tharmalingam MD, M Hendricks, et al. First pregnancy and live birth resulting from

- cryopreserved embryos obtained from in vitro matured oocytes after oophorectomy in an ovarian cancer patient. *Hum Reprod.* 2014;29:276-278
174. Smitz J, Dolmans MM, Donnez J, Fortune JE, Hovatta O, Jewgenow K, et al. Current achievements and future research directions in ovarian tissue culture, in vitro follicle development and transplantation: implications for fertility preservation. *Hum Reprod Update.* 2010;16(4):395-414
175. Forman R, Gill S, Moretti M, Tulandi T, Koren G, Casper R. Fetal safety of letrozole and clomiphene citrate for ovulation induction. *J Obstet Gynaecol Can.* 2007;29:668-671
176. Tatsumi T, Jwa SC, Kuwahara A, Irahara M, Kubota T, Saito H. No increased risk of major congenital anomalies or adverse pregnancy or neonatal outcomes following letrozole use in assisted reproductive technology. *Hum Reprod.* 2017;32:125-132
177. ISFP Practice Committee, Kim SS, Donnez J, Barri P, Pellicer A, Patrizio P, et al. Recommendations for fertility preservation in patients with lymphoma, leukemia, and breast cancer. *J Assist Reprod Genet.* 2012;29(6):465-8
178. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Fertility preservation in patients undergoing gonadotoxic therapy or gonadectomy: a committee opinion. *Fertil Steril.* 2013;100(5):1214-23

179. Cobo A, Domingo J, Perez S, Crespo J, Remohi J, Pellicer A. Vitrification: an effective new approach to oocyte banking and preserving fertility in cancer patients. *Clin Transl Oncol Off Publ Fed Span Oncol Soc Natl Cancer Inst Mex.* 2008;10:268-73
180. Smith GD, Motta EE, Serafini P. Theoretical and experimental basis of oocyte vitrification. *Reprod Biomed Online.* 2011;23:298-306
181. Vajta G, Kuwayama M. Improving cryopreservation systems. *Theriogenology.* 2006;65:236-44
182. Martinez-Burgos M, Herrero L, Megias D, Salvanes R, Montoya MC, Cobo AC, et al. Vitrification versus slow freezing of oocytes: effects on morphologic appearance, meiotic spindle configuration, and DNA damage. *Fertil Steril.* 2011;95:374-7
183. Jadoul P, Kim SS, ISFP Practice Committee. Fertility considerations in Young women with hematological malignancies. *J Assist Reprod Genet.* 2012;29(6):479-87
184. Bianchi V, Lappi M, Bonu MA, Borini A. Oocyte slow freezing using a 0.2-0.3 M sucrose concentration protocol: is it really the time to trash the cryopreservation machine? *Fertil Steril.* 2012;97(5):1101-7
185. Rienzi L, Cobo A, Paffoni A, Scarduelli C, Capalbo A, Vajta G, et al. Consistent and predictable delivery rates after oocyte

- vitrification: an observational longitudinal cohort multicentric study. *Hum Reprod.* 2012;27(6):1606-12
186. Practice Committees of American Society for Reproductive Medicine, Society for Assisted Reproductive Technology. Mature oocyte cryopreservation: a guideline. *Fertil Steril.* 2013;99:37-43
187. Dondorp W, de Wert G, Pennings G, Shenfield F, Devroey P, Tarlatzis B, et al. Oocyte cryopreservation for age-related fertility loss. *Hum Reprod.* 2012;27:1231-7
188. Vajta G, Holm P, Greve T, Callesen H. Overall efficiency of in vitro embryo production and vitrification in cattle. *Theriogenology.* 1996;45:683-9
189. Kuwayama M, Vajta G, Kato O, Leibo SP. Highly efficient vitrification method for cryopreservation of human oocytes. *Reprod Biomed Online.* 2005;11:300-8
190. Arav A. Vitrification of oocyte and embryos. New trends in embryo transfer. In: Lauria A, Gandolfi F, editors. Cambridge, UK: Portland Press; 1992. p. 255–64
191. Vajta G, Rienzi L, Ubaldi FM. Open versus closed systems for vitrification of human oocytes and embryos. *Reprod Biomed Online.* 2015;30:325-333

192. Cobo A, Meseguer M, Morgan M, Fortuno S, Serra V, Remohi J. Obstetric and perinatal outcome of babies born after oocyte vitrification. *Fertil Steril*. 2010;94:S68
193. Noyes N, Porcu E, Borini A. Over 900 oocyte cryopreservation babies born with no apparent increase in congenital anomalies. *Reprod Biomed Online*. 2009;18:769-76
194. De Munck N, Petrusa L, Verheyen G, Staessen C, Vandekelde Y, Sterckx J, et al. Chromosomal meiotic segregation, embryonic developmental kinetics and DNA (hydroxy)methylation analysis consolidate the safety of human oocyte vitrification. *Mol Hum Reprod*. 2015;21:535-544
195. Parmegiani L, Garelo C, Granella F, Guidetti D, Bernardi S, Cognigni GE, et al. Long-term cryostorage does not adversely affect the outcome of oocyte thawing cycles. *Reprod Biomed Online*. 2009;19:374-9
196. da Motta ELA, Bonavita M, Alegretti JR, Chehin M, Serafini P. Live birth after 6 years of oocyte vitrification in a survivor with breast cancer. *J Assist Reprod Genet*. 2014;31(10):1397-400
197. Maheshwari A, Pandey S, Shetty A, Hamilton M, Bhattacharya S. Obstetric and perinatal outcomes in singleton pregnancies resulting from the transfer of frozen thawed versus fresh embryos generated through in vitro fertilization treatment: a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril*. 2012;98:368-77.e1-9

198. Maheshwari A, Bhattacharya S. Elective frozen replacement cycles for all: ready for prime time? *Hum Reprod.* 2013;28:6-9
199. Healy DL, Breheny S, Halliday J, Jaques A, Rushford D, Garrett C, et al. Prevalence and risk factors for obstetric haemorrhage in 6730 singleton births after assisted reproductive technology in Victoria Australia. *Hum Reprod.* 2010;25:265-74
200. Kansal Kalra S, Ratcliffe SJ, Milman L, Gracia CR, Coutifaris C, Barnhart KT. Perinatal morbidity after in vitro fertilization is lower with frozen embryo transfer. *Fertil Steril.* 2011;95:548-53
201. Kroman N, Jensen MB, Wohlfahrt J, Ejlersen B. Pregnancy after treatment of breast cancer--a population-based study on behalf of Danish Breast Cancer Cooperative Group. *Acta Oncol.* 2008;47:545-549
202. Azim HA Jr, Kroman N, Paesmans M, Gelber S, Rotmensz N, Ameye L, et al. Prognostic impact of pregnancy after breast cancer according to estrogen receptor status: a multicenter retrospective study. *J Clin Oncol.* 2013;31:73-79
203. Azim HA Jr, Peccatori FA, de Azambuja E, Piccart MJ. Motherhood after breast cancer: searching for la dolce vita. *Expert Rev Anticancer Ther.* 2011;11(2):287-98
204. Azim HA Jr, Santoro L, Pavlidis N, Gelber S, Kroman N, Azim H, et al. Safety of pregnancy following breast cancer diagnosis: a meta-analysis of 14 studies. *Eur J Cancer.* 2011;47:74-83

205. Sankila R, Heinavaara S, Hakulinen T. Survival of breast cancer patients after subsequent term pregnancy: "healthy mother effect". *Am J ObstetGynecol.* 1994;170:818-823
206. Goldrat O, Kroman N, Peccatori FA, Cordoba O, Pistilli B, Lidegaard O, et al. Pregnancy following breast cancer using assisted reproduction and its effect on long-term outcome. *Eur J Cancer.* 2015;51:1490-1496
207. Cardoso F, Loibl S, Paganì O, Graziottin A, Panizza P, Martincich L, et al. The European Society of Breast Cancer Specialists recommendations for the management of young women with breast cancer. *Eur J Cancer.* 2012;48(18):3355-77
208. Verkooijen HM, Lim GH, Czene K, Bhalla V, Chow KY, Yap KP, et al. Effect of childbirth after treatment on long-term survival from breast cancer. *Br J Surg.* 2010;97(8):1253-9
209. Blakely LJ, Buzdar AU, Lozada JA, Shullaih SA, Hoy E, Smith TL, et al. Effects of pregnancy after treatment for breast carcinoma on survival and risk of recurrence. *Cancer.* 2004;100(3):465-9
210. Del Mastro L, Catzeddu T, Venturini M. Infertility and pregnancy after breast cancer: current knowledge and future perspectives. *Cancer Treat Rev.* 2006;32(6):417-22
211. Saphner T, Tormey D, Gray R. Annual hazard rate of recurrence for breast cancer after primary therapy. *J Clin Oncol.* 1996;14:2738-2746



***ANEXOS***



## Anexo 1

### HOJA DE INFORMACIÓN A LA PARTICIPANTE ADULTA

**TÍTULO DEL ESTUDIO:** Estudio cohortes ambispectivo de supervivencia y periodo libre de enfermedad en pacientes con cáncer de mama sometidas a estimulación ovárica controlada.

INVESTIGADOR:

CENTRO:

Este documento tiene por objeto ofrecerle información sobre un **estudio de investigación** en el que se le invita a participar. Este estudio fue aprobado por el Comité de Ética de la Investigación de Pontevedra-Vigo-Ourense.

Si decide participar en el mismo, debe recibir información personalizada del grupo investigador, **leer antes este documento** y hacer todas las preguntas que precise para comprender los detalles sobre el mismo. Si así lo desea, puede llevar el documento, consultarlo con otras personas, y tomar el tiempo necesario para decidir si participa o no.

La participación en este estudio es completamente **voluntaria**. Ud. puede decidir no participar o, si acepta hacerlo, cambiar de parecer retirando el consentimiento en cualquier momento sin dar explicaciones. Le aseguramos que esta decisión no afectará a la relación con su médico ni a la asistencia sanitaria a la que Ud. tiene derecho.

### **¿Cuál es el propósito del estudio?**

Nuestro objetivo es evaluar si las mujeres que han preservado sus óvulos, y recibida estimulación ovárica, se ven comprometidas en la evolución futura del cáncer de mama comparadas con aquellas mujeres que no estimularon sus ovarios. Usted puede hacer parte del grupo que ha vitrificado los óvulos o del grupo que no lo ha hecho. Esta investigación es importante, porque los estudios que demuestran la seguridad de la vitrificación de los óvulos en mujeres con cáncer de mama tienen pocas pacientes incluidas, no tienen grupo de mujeres no expuestas a la vitrificación o el seguimiento se ha realizado durante muy poco tiempo. Si queremos resolver la duda acerca del efecto que pueda tener la vitrificación de ovocitos, necesitamos la participación de mujeres que como usted han sido seleccionadas por sus médicos tratantes.

### **¿Por qué me ofrecen participar a mí?**

Usted contribuirá con la información que ceda a los investigadores para mejorar la atención de pacientes con cáncer de mama y poder ofrecerles, en un futuro, la vitrificación de sus óvulos de una forma más segura. Las mujeres que se benefician de la preservación de la fertilidad son un grupo específico de menores de 40 años (al momento del diagnóstico) y con un cáncer de mama de muy buen pronóstico. Desafortunadamente, el porcentaje de pacientes que cumplen estas características es bajo, por lo tanto, la información que se obtenga de su caso específico es muy valiosa para las pacientes, que en el futuro deseen conservar sus óvulos. No existe ningún riesgo para usted por participar en el presente estudio.

### **¿En qué consiste mi participación?**

Su participación consiste en primer lugar, en autorizar el acceso a la información de su historia clínica, cuyos datos serán anónimos para el presente estudio. En segundo lugar, resolverá preguntas (en caso de ausencia de ellas en los registros médicos), acerca de la evolución de su enfermedad y si ha requerido nuevo tratamiento o si se le ha dado el alta por ausencia de enfermedad. La participación en este estudio, no varía en absoluto la práctica clínica habitual, ni modifica las pautas de intervención o seguimiento de su caso. Los datos que se van a registrar, incluyen los propios de la clasificación de su enfermedad, las pautas de tratamiento y los seguimientos llevados a cabo, una vez tratada su enfermedad inicial. El estudio no contempla contactar con usted para conseguir nuevos datos en el futuro.

#### **Su participación tendrá una duración total estimada de**

Estimamos que la toma de contacto junto con la recogida de datos será de aproximadamente 30 minutos.

#### **¿Qué molestias o inconvenientes tiene mi participación?**

Su participación no implica molestias adicionales a las de la práctica asistencial habitual. Sólo requerirá el tiempo dedicado a responder la encuesta.

#### **¿Obtendré algún beneficio por participar?**

No se espera que Ud. obtenga beneficio directo por participar en el estudio. La investigación pretende descubrir aspectos desconocidos o poco claros sobre la Supervivencia del cáncer de mama y estimulación ovárica. Esta información podrá ser de utilidad en un futuro para otras personas.

### **¿Recibiré la información que se obtenga del estudio?**

Si Ud. lo desea, se le facilitará un resumen de los resultados del estudio. En caso de que así lo desee, por favor añada un contacto o envíe un correo a [estebanfergar@yahoo.es](mailto:estebanfergar@yahoo.es) o [Elkin.munoz@ivi.es](mailto:Elkin.munoz@ivi.es)

### **¿Se publicarán los resultados de este estudio?**

Los resultados de este estudio podrán remitir a publicaciones científicas para a su difusión, pero no se transmitirá ningún dato que pueda llevar a la identificación de los participantes.

### **¿Cómo se protegerá la confidencialidad de mis datos?**

El tratamiento, comunicación y cesión de sus datos se hará conforme a lo dispuesto por la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de protección de datos de carácter personal.

Solamente el equipo investigador, y las autoridades sanitarias, que tienen deber de guardar la confidencialidad, tendrán acceso a todos los datos recogidos por el estudio. Se podrá transmitir a terceros información que no pueda ser identificada. En el caso de que alguna información sea transmitida a otros países, se realizará con un nivel de protección de los datos equivalente, como mínimo, al exigido por la normativa de nuestro país.

Sus datos serán recogidos y conservados hasta terminar el estudio de modo:

- **Anonimizados**, es decir, que se rompió todo vínculo que pueda identificar a la persona donante de los datos, no

pudiendo ser identificado ni siquiera por el equipo investigador.

El responsable de la custodia de los datos *es el Dr. Elkin Muñoz Muñoz.*

**¿Existen intereses económicos en este estudio?**

Esta investigación es realizada utilizando medios aportados por IVI Vigo.

El investigador no recibirá retribución específica por la dedicación al estudio.

Ud. no será retribuido por participar. El estudio no va a derivar en productos comerciales o patentes.

**¿Cómo contactar con el equipo investigador de este estudio?**

Ud. puede contactar con el Dr. Ferreiro en el correo electrónico [estebanfergar@yahoo.es](mailto:estebanfergar@yahoo.es) o con el Dr. Elkin Muñoz Muñoz en el teléfono 986021860 o correo electrónico [elkinmunoz@ivi.es](mailto:elkinmunoz@ivi.es)

**Muchas Gracias por su colaboración**

## Anexo 2

### DOCUMENTO DE CONSENTIMIENTO PARA LA PARTICIPACIÓN EN UN ESTUDIO DE INVESTIGACION

TÍTULO del estudio: Estudio cohortes ambispectivo de supervivencia y periodo libre de enfermedad en pacientes con cáncer de mama sometidas a estimulación ovárica controlada

Yo,.....  
.....

- Leí la hoja de información al participante del estudio arriba mencionado que se me entregó, pude conversar con: ..... y hacer todas las preguntas sobre el estudio.
- Comprendo que mi participación es voluntaria, y que puedo retirarme del estudio cuando quiera, sin tener que dar explicaciones y sin que esto repercuta en mis cuidados médicos.
- Accedo a que se utilicen mis datos en las condiciones detalladas en la hoja de información al participante.
- Presto libremente mi conformidad para participar en este estudio.



Fdo.: La participante,

Fdo.: El/la  
investigador/a que  
solicita el  
consentimiento

Nombre y Apellidos:

Nombre y Apellidos:

Fecha:

Fecha: