

REVISIÓN

Estado actual de la criopreservación de la fertilidad en varones prepúberes



Jose V. Medrano^{a,*}, Saturnino Luján^a, María del Mar Andrés^b y Antonio Pellicer^a

^a Unidad de Medicina Reproductiva, Instituto de Investigación Sanitaria La Fe (IIS La Fe), Valencia, España

^b Unidad de Oncología pediátrica, Hospital Universitario y Politécnico La Fe, Valencia, Spain

Recibido el 8 de enero de 2018; aceptado el 25 de julio de 2018

Disponible en Internet el 23 de noviembre de 2018

PALABRAS CLAVE

Preservación de la fertilidad;
Criopreservación de tejido testicular inmaduro;
Trasplante de células germinales;
Injerto testicular;
Espermatogénesis in vitro

KEYWORDS

Fertility preservation;
Cryopreservation of immature testicular tissue;
Germ cell transplantation;
Testicular grafting;
In vitro spermatogenesis

Resumen Algunos tratamientos empleados para tratar el cáncer y enfermedades hematológicas poseen efectos secundarios gonadotóxicos que pueden producir infertilidad. Por lo tanto, la criopreservación de esperma se ofrece rutinariamente a los pacientes como estrategia para preservar su fertilidad. Sin embargo, existen muchos casos en los que el banco de esperma no es una estrategia aplicable, como es el caso de pacientes prepúberes y otros incapaces de producir gametos maduros en el momento del diagnóstico. En relación con ello, recientes avances han llamado la atención de la sociedad sobre las opciones de preservación de la fertilidad que la Medicina Regenerativa puede ofrecer a estos pacientes. En esta revisión, tratamos de compilar y discutir los últimos avances en estas estrategias alternativas desde un punto de vista crítico. © 2018 Asociación Española de Andrología, Medicina Sexual y Reproductiva. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

Current state regarding fertility cryopreservation in pre-pubertal boys

Abstract Some treatments for any cancer therapy and hematological diseases may have gonadotoxic side effects that can result in infertility, and thus sperm cryopreservation is routinely offered to patients as the strategy to preserve their fertility. However, there are many cases where sperm banking cannot be applied, as is the case of pre-pubertal cancer patients and others unable to produce mature gametes at the moment of diagnosis. Regarding this, recent breakthroughs have gained public attention to the fertility preservation options that Regenerative Medicine can offer to these patients. In this review, we tried to compile and discuss the latest updates about all these strategies from a critical point of view. © 2018 Asociación Española de Andrología, Medicina Sexual y Reproductiva. Published by Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: jomepla@gmail.com (J.V. Medrano).

Introducción

Importantes avances en los últimos años en los tratamientos contra el cáncer han conseguido mejorar las tasas de supervivencia en cáncer infantil por encima del 80%^{1,2}. Sin embargo, la quimioterapia y la radioterapia comúnmente empleadas para combatir las células neoplásicas, o para destruir la médula ósea en pacientes con enfermedades hematológicas de cara a un trasplante de progenitores hematopoyéticos, suelen tener efectos secundarios a largo plazo, entre los cuales destaca su efecto gonadotóxico que puede provocar infertilidad. Siendo la calidad de vida de los pacientes una cuestión importante a tener en cuenta, incluidas sus opciones reproductivas y de planificación familiar, la crioconservación de gametos y embriones son las estrategias de preservación de la fertilidad que generalmente son ofrecidas a los pacientes antes de comenzar un tratamiento potencialmente gonadotóxico.

Sin embargo, estas estrategias no son posibles cuando los pacientes no pueden producir sus propios gametos, como es el caso de los pacientes prepúberes. Para estos pacientes, entre las diferentes estrategias que se están desarrollando actualmente, las aplicaciones derivadas del uso de células madre espermatogoniales (SSC, del inglés Spermatogonial Stem Cell)³ como fuente de gametos maduros funcionales han progresado de manera importante, y su traslación a la clínica puede ocurrir en los próximos años.

En esta revisión, destacaremos y discutiremos los avances más recientes con respecto a la preservación de la fertilidad en niños prepúberes, destacando sus ventajas e inconvenientes, así como algunas cuestiones que deben ser resueltas antes de su implantación clínica.

Riesgo gonadotóxico y criterios de selección de pacientes que podrían beneficiarse de la preservación de fertilidad

Los efectos adversos de las terapias antineoplásicas en los órganos reproductivos son el resultado del daño de la cirugía o la radioterapia en el eje hipotálamico-pituitario-gonadal, o el daño a las gónadas por parte de la quimioterapia y la radioterapia. Así, aunque la administración exógena de gonadotropinas puede restaurar la deficiencia de gonadotropinas causada por el daño al eje hipotálamico-hipofisario-gonadal, el daño en las gónadas puede perjudicar el desarrollo puberal, produciendo insuficiencia hormonal, disfunción sexual y problemas de fertilidad⁴. En los hombres, la espermatogénesis es especialmente sensible a los efectos dañinos de los agentes alquilantes, siendo los diagnósticos de oligozoospermia o azoospermia comunes en pacientes con cáncer⁵. En la [tabla 1](#) se resumen los principales factores que afectan el resultado reproductivo de los pacientes con cáncer y las estrategias biotecnológicas destinadas a mejorarlo.

Es importante destacar que la combinación precisa de fármacos quimioterapéuticos y la frecuencia y duración de su administración son factores clave que pueden determinar sus efectos gonadotóxicos, dificultando en gran medida

un pronóstico reproductivo a largo plazo. Teniendo esto en cuenta, como medida de precaución y siempre que no implique un retraso significativo en términos clínicos en el inicio del tratamiento, la congelación de esperma debe ser aconsejada a todos los pacientes que vayan a ser sometidos a tratamientos potencialmente gonadotóxicos. Con respecto a esto, las [tablas 2 y 3](#) resumen los principales datos publicados sobre el riesgo gonadotóxico de distintos agentes en hombres.

Sin embargo, los criterios de selección de pacientes para técnicas de preservación de la fertilidad más agresivas o experimentales es un desafío para los médicos^{6,7}, siendo el buen pronóstico clínico y el propósito curativo (no paliativo) del tratamiento los indicadores más realistas a la hora de seleccionar pacientes potencialmente beneficiarios de estas técnicas.

El banco de esperma como estrategia de referencia para la preservación de la fertilidad en los varones

La crioconservación de espermatozoides es un método bien establecido y efectivo que se realiza rutinariamente en los centros de fertilidad desde que se logró por primera vez el primer embarazo humano exitoso con esperma congelado/descongelado en 1953⁸. El almacenamiento de esperma en nitrógeno líquido a -196°C es una estrategia fácil, de bajo coste y efectiva para la preservación de la fertilidad, con tasas de éxito de fecundación que oscilan entre el 60 y 93%⁹. Además, es una técnica exitosa para la crioconservación a largo plazo, como demuestran los nacimientos a partir de esperma congelado por más de 40 años¹⁰. En base a esto, la crioconservación de espermatozoides obtenidos mediante eyaculado antes del inicio de un tratamiento potencialmente gonadotóxico es actualmente la estrategia de referencia para la preservación de la fertilidad en pacientes varones cuyo tratamiento implique riesgo gonadotóxico. Alternativamente, también es una técnica viable para crioconservar esperma obtenido mediante aspiración del epidídimo o biopsia de testículo en aquellos pacientes que sean incapaces de eyacular por causas físicas (azoospermia obstructiva) o psicológicas (estrés, inhibición psicógena...)¹¹.

Sin embargo, la crioconservación de esperma no es una opción viable para pacientes prepúberes, incapaces de producir esperma en el momento del diagnóstico antes de iniciar cualquier tratamiento potencialmente gonadotóxico. Además, en el caso de pacientes adultos, la fiebre, el hipermetabolismo y alteraciones nutricionales comúnmente asociadas al cáncer en sí pueden afectar negativamente a la producción de esperma. Estas complicaciones, unidas al hecho de que la enfermedad en sí también puede alterar indirectamente la espermatogénesis por endocrinopatías en el caso del linfoma de Hodgkin¹², dan lugar a que en muchos casos los pacientes no puedan producir una muestra de semen válida para congelar antes del inicio de su terapia antineoplásica.

Tabla 1 Factores que afectan al pronóstico reproductivo de los pacientes y estrategias para mejorarlo

Factor	Efecto	Estrategias
Tamaño del tumor	Invasión y daño directo en: • Testículo • Eje hipotálamo-hipofisario (deficiencia gonadotrópica)	Mejora de técnicas de diagnóstico precoz del cáncer para localizar y reducir el tamaño de los tumores
Cirugía	Orquiectomía	Fomento de cirugías conservadoras con la integridad anatómica gonadal
	Disrupción anatómica gonadal (obstrucción de vías urogenitales)	Fomento de cirugías mínimamente invasivas
Radioterapia y quimioterapia (moduladas por la dosis, régimen y combinación de agentes)	Muerte de células espermáticas y daño al epitelio germinal (espermatozonias y células de Sertoli) y células de Leydig	Protección de área pélvica de la irradiación
		Preservación de la fertilidad antes de iniciar protocolos potencialmente gonadotóxicos: • Congelación de esperma • Criopreservación de tejido testicular inmaduro
		Adaptación de los tratamientos antineoplásicos para reducir su gonadotoxicidad en la medida de lo posible
		Fomento de protocolos de radioterapia de intensidad moderada de alta precisión (IMRT) que reducen la radiación dispersada a otros tejidos
Radioterapia craneal	Daño en el eje hipotálamo-hipofisario (deficiencia gonadotrópica)	Fomento de protocolos de radioterapia de intensidad moderada de alta precisión (IMRT) que reducen la radiación dispersada a otros tejidos
Tipo de cáncer	Baja calidad seminal asociada con cáncer testicular, linfoma de Hodgkin, leucemia y cáncer gastrointestinal	Mejora de técnicas de diagnóstico precoz
Otros factores	Situación clínica del paciente (dolor, pirexia, anorexia, estrés...)	Mejorar la situación clínica del paciente
	Secuelas psicológicas del cáncer pueden afectar a relaciones sexuales futuras	Asesoramiento psicológico
	Edad del paciente	
	Fertilidad previa del paciente	
	Perfil genético	

La criopreservación del tejido testicular inmaduro como estrategia para preservar la fertilidad de pacientes prepúberes

Las SSC son las células madre residentes en los testículos de los mamíferos, responsables del inicio y mantenimiento de

la espermatogénesis durante la edad adulta. La población de SSC está compuesta por un subconjunto de espermatozonias localizadas en la lámina basal de los túbulos seminíferos desde el nacimiento¹³. Las SSC se describieron por primera vez utilizando un modelo de trasplante de células germinales murinas, y se definieron como «la subpoblación de SSC con la

Tabla 2 Riesgo estimado de infertilidad según los agentes quimioterapéuticos administrados

Riesgo	Agentes
Alto	Ciclofosfamida > 19 g/m ²
• Riesgo de azoospermia de larga duración > 80%	Busulfán > 600 mg/m ² Melfalán > 140 mg/m ² Procarbazina 4 g/m ² Ifosfamida > 52 g/m ² Cisplatino > 600 mg/m ² Clorambucilo 1,4 g/m ² Carmustina 1 g/m ² Lomustina 500 mg/m ² ^a
Intermedio	Tiotepa 400 mg/m ²
• 20-80% de riesgo de azoospermia de larga duración	Doxorubicina > 770 mg/m ² Cisplatino 400-600 mg/m ² Carboplatino > 2 g/m ²
• Gonadotoxicidad transitoria	Ciclofosfamida 7,5-19 g/m ² Ifosfamida 42-52 g/m ²
• Azoospermia de larga duración aumenta si se combinan con otros agentes	
Bajo	Citarabina ND
• Riesgo de azoospermia de larga duración < 20%	Bleomicina ND
• Disminución temporal de recuentos espermáticos por afectación de las espermatogonias en diferenciación	Actinomicina D ND Vincristina ND Vinblastina ND Metotrexato ND 6-Mercaptopurina ND 5-Fluoracilo ND Etopósido ND

ND: dosis no estimada.

^a Si el tratamiento es antes de la pubertad.Tabla adaptada y modificada a partir de las referencias^{4,38-44}.

capacidad de colonizar el epitelio seminífero y reconstituir por completo la espermatogénesis»¹⁴.

Debido a su potencial para restaurar la espermatogénesis al completo, existe un gran interés en el estudio y uso de las SSC como una herramienta para la restauración de la fertilidad (fig. 1). Específicamente, los pacientes que no pueden generar espermatozoides para ser congelados antes del inicio de un tratamiento gonadotóxico, como puede ser el caso de los niños prepúberes, son beneficiarios potenciales del uso de esta técnica para restaurar su fertilidad. De hecho, según datos del Oncofertility Consortium de la Northwestern University, actualmente hay al menos 16 centros hospitalarios en todo el mundo, 8 de ellos en Europa, que ofrecen la criopreservación de tejido testicular inmaduro obtenido mediante biopsia de manera experimental a pacientes oncológicos prepúberes en riesgo de azoospermia permanente como consecuencia de su tratamiento gonadotóxico¹⁵.

Basándose en que en hasta en un 50% de pacientes con un Tanner II-III para el vello púbico es posible encontrar espermatozoides móviles¹⁶, y teniendo en cuenta el carácter experimental de la criopreservación de tejido testicular inmaduro como técnica para preservar la fertilidad en humanos, es conveniente la completa evaluación física

Tabla 3 Riesgo estimado de infertilidad según la dosis de radioterapia administrada

Riesgo	Comentarios
Alto	Los efectos de la radiación en el epitelio seminífero afectan especialmente a las espermatogonias y sus efectos son dosis-dependientes:
• Irradiación corporal total previa a trasplante de progenitores hematopoyéticos	• < 1 Gy: Azoospermia prolongada/oligozoospermia (daño reversible con el tiempo).
• Irradiación testicular: > 2,5 Gy en adultos ≥ 6 Gy en prepúberes	• > 4 Gy: Infertilidad permanente (daño irreversible).
• Irradiación pélvica u abdominal total	• 30 Gy: Daño en células de células de Leydig en adultos. Dosis > 20 Gy se asocian con daño en células de Leydig en niños
Intermedio	
• Irradiación craneo-espinal ≥ 25-30 Gy	
• Irradiación testicular de 1-6 Gy dispersada de protocolos de irradiación abdominal o pélvica	

Tabla adaptada y modificada a partir de las referencias^{12,38,45-47}.

y psicológica desde un punto de vista madurativo de los pacientes, con el fin de categorizarlos como prepúberes o púberes y así priorizar en todo momento la congelación de espermatozoides en aquellos pacientes en los que haya indicios clínicos de la posibilidad de encontrar espermatozoides móviles en orina, tras vibro/electroestimulación o intratesticularmente³. Además, en el caso de los pacientes pediátricos, se debe prestar especial atención a los desafíos prácticos y éticos para los pacientes y sus familias. En este contexto, es muy conveniente una estrecha coordinación entre los equipos oncológicos, quirúrgicos y urológicos para extraer el tejido testicular al mismo tiempo que otros procedimientos quirúrgicos ya programados (toma de una vía central venosa o cirugía terapéutica) para reducir el estrés en los pacientes y evitar intervenciones adicionales innecesarias⁶. En base a todo esto, la fig. 2 esquematiza el esquema de actuación seguido en el servicio de reproducción de nuestro hospital para preservar la fertilidad en pacientes pediátricos (fig. 2).

Estrategias basadas en el uso de tejido testicular inmaduro para restaurar la fertilidad

Entre las estrategias diseñadas para restaurar la espermatogénesis en pacientes azoospermicos basadas en el uso

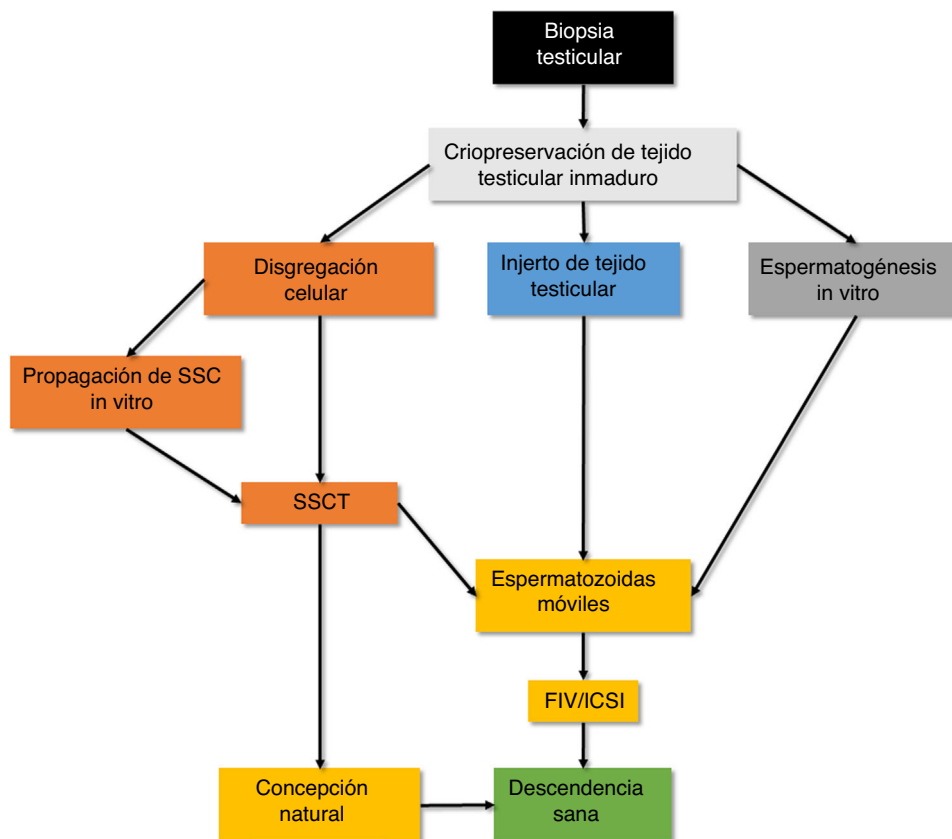


Figura 1 Diagrama esquemático de las estrategias en desarrollo para restaurar la fertilidad a partir de tejido testicular inmaduro. FIV: fecundación in vitro; ICSI: inyección intracitoplásmica de espermatozoides; SSC: Spermatogonial Stem Cell (células madre espermatozonales); SSCT: Spermatogonial Stem Cell Transplantation (trasplante de células madre espermatozonales).

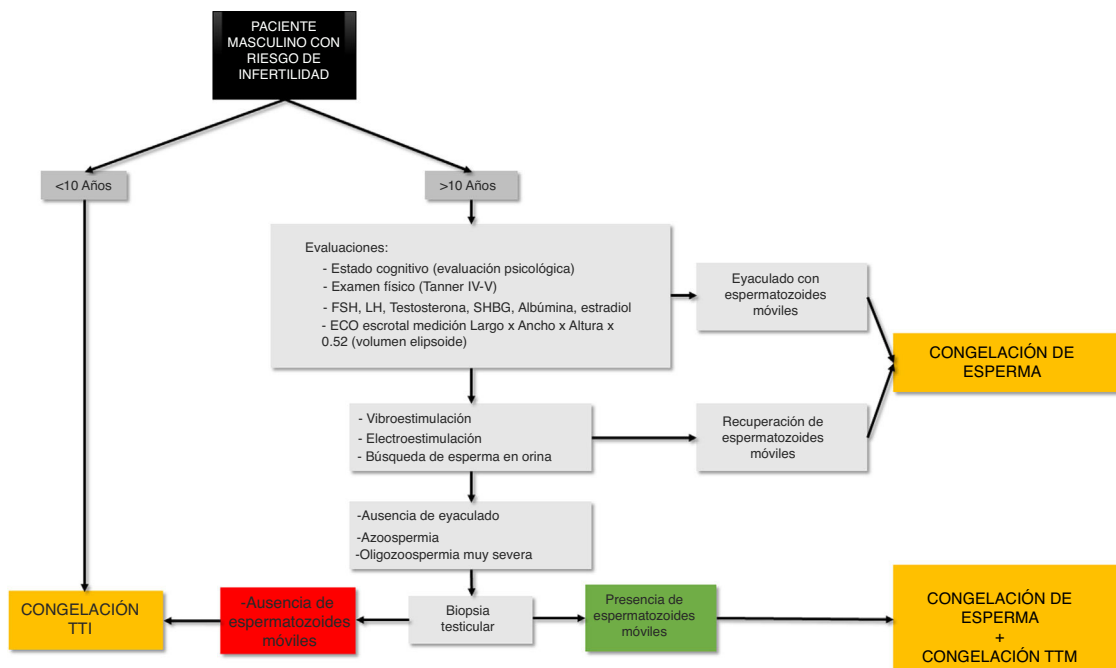


Figura 2 Esquema de actuación para la preservación de la fertilidad de pacientes masculinos que van a ser sometidos a tratamientos potencialmente gonadotóxicos. TTI: tejido testicular inmaduro; TTM: tejido testicular maduro.

de tejido testicular inmaduro (fig. 1), el trasplante de SSC (SSCT) es probablemente el enfoque más prometedor¹⁷. En el modelo murino, el trasplante de suspensiones celulares testiculares en la luz del epitelio seminífero de ratones hospedadores tratados con busulfán resulta en su colonización y restablecimiento completo de la espermatogénesis, produciendo espermatozoides capaces de dar lugar a descendencia sana¹⁴. Además, esta técnica se ha aplicado a otros modelos animales, incluidos primates no humanos, con resultados exitosos y produciendo espermatozoides capaces de fecundar ovocitos, incluso con tejido criopreservado durante años¹⁸. Sin embargo, a pesar de los resultados alentadores en modelos animales, existen problemas importantes que resolver antes de la aplicación de la técnica en humanos. El SSCT de células spermatogoniales humanas en testículos de ratón da como resultado la colonización del epitelio seminífero, pero la maduración de las SSC queda bloqueada debido a la distancia filogenética entre las especies¹⁹. Por lo tanto, existe la necesidad de modelos apropiados para la restauración espermatogénica en humanos más allá de los ensayos técnicos realizados en testículos humanos cadavéricos que demuestran la viabilidad de la técnica²⁰. Además, la eficiencia de colonización relativamente baja de las SSC, combinada con el tamaño limitado de las biopsias testiculares prepúberes, puede comprometer el éxito de la técnica. Por lo tanto, la propagación in vitro de SSC para aumentar su número es un paso necesario antes de realizar SSCT en humanos. Sin embargo, aunque la propagación in vitro a largo plazo de SSC de ratón ha sido reportada y replicada por varios grupos mediante la suplementación de Glial Cell line Derived Neurotrophic Factor (GDNF) como el principal efector para promover su autorrenovación²¹, la propagación in vitro de las SSC humanas usando el mismo enfoque^{22,23} ha sido difícil de replicar, dando lugar a una limitada capacidad de mantener las SSC humanas in vitro con baja tasa de propagación²⁴. Además, teniendo en cuenta que alrededor del 21% de las leucemias pueden presentar infiltración testicular de células malignas, existe el riesgo de reintroducirlas en futuros SSCT. Por lo tanto, con la ausencia de marcadores específicos para aislar poblaciones SSC puras de muestras testiculares humanas^{21,25,26}, la propagación in vitro de SSC puede ser una estrategia útil para enriquecerlas al mismo tiempo que elimina la presencia de células malignas contaminantes que podrían estar presentes en la biopsia testicular.

Una prometedora estrategia alternativa para restaurar la espermatogénesis es el injerto de tejido testicular. Originalmente, este enfoque consistía en el injerto de pequeñas piezas de tejido testicular prepúber bajo la piel de ratones hospedadores castrados. De este modo, los animales hospedadores actúan como biorreactores que activan la espermatogénesis del tejido injertado, manteniendo la arquitectura y las interacciones celulares dentro del tejido testicular y resultando en la producción de espermatozoides que pueden recuperarse para aplicaciones posteriores de fecundación in vitro o inyección intracitoplásmica (ICSI, del inglés Intracytoplasmic Sperm Injection)²⁷. Como ocurre con el SSCT, esta técnica ha demostrado su viabilidad dando lugar a descendencia sana en varias especies animales, incluidos primates no humanos²⁸. Sin embargo, los xenoinjertos testiculares de otras especies como el cerdo, la cabra y humanos en ratones hospedadores muestran una

supervivencia limitada de los tejidos injertados y fibrosis probablemente debido a la isquemia causada por una vascularización insuficiente. Por lo tanto, aunque los datos indican que los injertos de tejido prepúber muestran una mejor resistencia a la isquemia debido a su naturaleza quiescente, nunca se ha observado una maduración del tejido injertado más allá del estadio de espermatocito²⁹. Con el fin de prevenir la isquemia del tejido injertado, la suplementación de los injertos con factor de crecimiento endotelial vascular, así como la realización del injerto a nivel intratesticular intentando imitar el entorno natural del tejido, pueden mejorar la tasa de éxito de la técnica de xenoinjerto.

La espermatogénesis in vitro es un tercer enfoque que ha ganado interés en los últimos años. A pesar del logro de una reciente publicación que describe la producción in vitro de espermátidas humanas haploides capaces de fecundar ovocitos de ratón a partir de SSC obtenidas de pacientes con criptorquidia, mediante el tratamiento de los cultivos con factor de células madre y ácido retinoico³⁰, debido a la compleja estructura tridimensional de la espermatogénesis, las estrategias más eficientes para lograr la producción de espermatozoides a partir de SSC de ratón comprenden cocultivos tridimensionales de células germinales inmaduras y células somáticas³¹. Además, el uso de andamiajes citocompatibles de tejido testicular humano descellularizado puede ser un enfoque interesante para evaluar el potencial de las SSC humanas para madurar in vitro dentro de un nicho que imita la matriz extracelular donde lo hacen in vivo³². Sin embargo, ha sido un cultivo organotípico de tejido testicular, manteniendo las interacciones celulares y la integridad del tejido, el único modelo que ha permitido hoy en día la maduración completa de los espermatozoides funcionales capaces de ser utilizados en ICSI^{33,34}. En su trabajo, los autores usaron fragmentos testiculares de ratones recién nacidos que expresaban de GFP bajo el control de los marcadores posmeióticos Gsg2 (Haspin) y Acrosina, y los cultivaron a 34 °C en una interfase líquido-gas sobre balsas de agarosa empapadas en un medio suplementado con KOS (KnockOut Serum replacement). Después de 3 semanas de cultivo, se pudieron recuperar espermatozoides GFP, que se usaron para ICSI y dieron lugar a descendencia sana. Sin embargo, aunque esta técnica ha sido replicada en publicaciones posteriores en el modelo de ratón^{35,36}, los datos sobre la viabilidad de esta técnica con tejido humano indican un bloqueo en la maduración de las espermatogonias, acompañado de una pérdida progresiva de células germinales a lo largo del tiempo in vitro³⁷.

Conclusiones

A pesar del éxito de la criopreservación de espermatozoides para preservar la fertilidad masculina en el día a día clínico, esta técnica no es viable para los pacientes prepúberes que no pueden producir gametos funcionales en el momento del diagnóstico. En estos casos, la criopreservación de tejido testicular inmaduro puede ser una estrategia alternativa. Sin embargo, el uso de tejido testicular preservado para restaurar la fertilidad todavía se considera experimental, ya que nunca se ha demostrado su efectividad en humanos, poniendo de manifiesto la necesidad de fomentar la investigación con modelos humanos. Por tanto, la investigación

actual se está orientando a optimizar los protocolos de propagación in vitro de SSC con el fin de obtener un número suficiente de SSC que permitan mejorar las tasas de éxito de SSCT, así como en la búsqueda de estrategias que mejoren la supervivencia del tejido testicular en modelos de xenoinjerto. Del mismo modo, la optimización de protocolos de espermatogénesis in vitro con tejido humano puede ser una importante alternativa que permita producir espermatozoides funcionales evitando el riesgo de reintroducción de células malignas.

Con una experiencia de más de 15 años criopreservando biopsias testiculares inmaduras de pacientes prepúberes, parece una cuestión de tiempo que comiencen a aparecer los primeros ensayos para la restauración de la fertilidad en hombres azoospermicos. Sin embargo, a pesar del éxito de las diferentes técnicas aquí descritas para la restauración de la espermatogénesis en modelos animales, todavía hay problemas importantes que resolver antes de la aplicación de las SSC como terapia celular clínica en los próximos años, haciendo de esta posibilidad un procedimiento experimental que debería ofrecerse únicamente a pacientes con buen pronóstico, alto riesgo gonadotóxico, e incapaces de producir espermatozoides en el momento del diagnóstico (determinando su ausencia tanto en eyaculado si lo hubiera, como en la orina y en la biopsia misma) (fig. 2).

Como conclusión, por primera vez en la historia reciente, la promesa de la Medicina Regenerativa como una herramienta para tratar todo tipo de enfermedades, incluidas las enfermedades reproductivas, puede no estar tan lejos de cumplirse.

Responsabilidades éticas

Protección de personas y animales. Los autores declaran que para esta investigación no se han realizado experimentos en seres humanos ni en animales.

Confidencialidad de los datos. Los autores declaran que en este artículo no aparecen datos de pacientes.

Derecho a la privacidad y consentimiento informado. Los autores declaran que en este artículo no aparecen datos de pacientes.

Financiación

Este trabajo ha sido financiado por una donación privada de la Peña Celtic Submarí-Villarreal C.F. al Hospital Universitario y Politécnico La Fe destinada a promover la investigación científica sobre la preservación de la fertilidad en niños con cáncer, y por un proyecto AES (PI16/00931) concedido por el Instituto de Salud Carlos III.

Conflicto de intereses

Los autores no tienen ningún conflicto de intereses que declarar.

Bibliografía

- Desandes E. Survival from adolescent cancer. *Cancer Treat Rev*. 2007;33:609–15.
- Smith MA, Seibel NL, Altekruse SF, Ries LA, Melbert DL, O'Leary M, et al. Outcomes for children and adolescents with cancer: Challenges for the twenty-first century. *J Clin Oncol*. 2010;28:2625–34.
- Picton HM, Wyns C, Anderson RA, Goossens E, Jahnukainen K, Kliesch S, et al. A European perspective on testicular tissue cryopreservation for fertility preservation in prepubertal and adolescent boys. *Hum Reprod*. 2015;30:2463–75.
- Munoz M, Santaballa A, Seguí MA, Beato C, de la Cruz S, Espinosa J, et al. SEOM clinical guideline of fertility preservation and reproduction in cancer patients. *Clin Transl Oncol*. 2016;18:1229–36.
- Meistrich ML. Effects of chemotherapy and radiotherapy on spermatogenesis in humans. *Fertil Steril*. 2013;100:1180–6.
- Wallace WH, Kelsey TW, Anderson RA. Fertility preservation in pre-pubertal girls with cancer: The role of ovarian tissue cryopreservation. *Fertil Steril*. 2016;105:6–12.
- Wyns C, Collienne C, Shenfield F, Robert A, Laurent P, Roegiers L, et al. Fertility preservation in the male pediatric population: Factors influencing the decision of parents and children. *Hum Reprod*. 2015;30:2022–30.
- Bunge RG, Sherman JK. Fertilizing capacity of frozen human spermatozoa. *Nature*. 1953;172:767–8.
- Daudin M, Rives N, Walschaerts M, Drouineaud V, Szerman E, Kosciński I, et al. Sperm cryopreservation in adolescents and young adults with cancer: Results of the French national sperm banking network (CECOS). *Fertil Steril*. 2015;103:478–86 e1.
- Szell AZ, Bierbaum RC, Hazelrigg WB, Chetkowski RJ. Live births from frozen human semen stored for 40 years. *J Assist Reprod Genet*. 2013;30:743–4.
- Phillips E, Carpenter C, Oates RD. Ejaculatory dysfunction. *Urol Clin North Am*. 2014;41:115–28.
- Sabanegh ES Jr, Ragheb AM. Male fertility after cancer. *Urology*. 2009;73:225–31.
- De Rooij DG. The spermatogonial stem cell niche. *Microsc Res Tech*. 2009;72:580–5.
- Brinster RL, Avarbock MR. Germline transmission of donor haplotype following spermatogonial transplantation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1994;91:11303–7.
- Rashedi AS, Roo SF, Ataman LM, Edmonds ME, Silva AA, Scarella A, et al. Survey of fertility preservation options available to patients with cancer around the globe. *J Glob Oncol*. 2018;1–16, doi:1200/JGO. 2016.008144.
- Van Casteren NJ, Dohle GR, Romijn JC, de Muinck Keizer-Schrama SM, Weber RF, van den Heuvel-Eibrink MM. Semen cryopreservation in pubertal boys before gonadotoxic treatment and the role of endocrinologic evaluation in predicting sperm yield. *Fertil Steril*. 2008;90:1119–25.
- Medrano JV, Martinez-Arroyo AM, Sukhwani M, Noguera I, Quinonero A, Martinez-Jabaloyas JM, et al. Germ cell transplantation into mouse testes procedure. *Fertil Steril*. 2014;102:pe11–2.
- Hermann BP, Sukhwani M, Winkler F, Pascarella JN, Peters KA, Sheng Y, et al. Spermatogonial stem cell transplantation into rhesus testes regenerates spermatogenesis producing functional sperm. *Cell Stem Cell*. 2012;11:715–26.
- Nagano M, Patrizio P, Brinster RL. Long-term survival of human spermatogonial stem cells in mouse testes. *Fertil Steril*. 2002;78:1225–33.
- Faes K, Lahoutte T, Hoorens A, Tournaye H, Goossens E. In search of an improved injection technique for the clinical application of spermatogonial stem cell transplantation. *Reprod Biomed Online*. 2017;34:291–7.
- Kanatsu-Shinohara M, Ogonuki N, Inoue K, Miki H, Ogura A, Toyokuni S, et al. Long-term proliferation in culture and germline transmission of mouse male germline stem cells. *Biol Reprod*. 2003;69:612–6.

22. Sadri-Ardekani H, Mizrak SC, van Daalen SK, Korver CM, Roepers-Gajadien HL, Koruji M, et al. Propagation of human spermatogonial stem cells in vitro. *JAMA*. 2009;302:2127–34.
23. Sadri-Ardekani H, Akhondi MA, van der Veen F, Reping S, van Pelt AM. In vitro propagation of human prepubertal spermatogonial stem cells. *JAMA*. 2011;305:2416–8.
24. Medrano JV, Rombaut C, Simon C, Pellicer A, Goossens E. Human spermatogonial stem cells display limited proliferation in vitro under mouse spermatogonial stem cell culture conditions. *Fertil Steril*. 2016;106:1539–49 e8.
25. Dovey SL, Valli H, Hermann BP, Sukhwani M, Donohue J, Castro CA, et al. Eliminating malignant contamination from therapeutic human spermatogonial stem cells. *J Clin Invest*. 2013;123:1833–43.
26. Valli H, Sukhwani M, Dovey SL, Peters KA, Donohue J, Castro CA, et al. Fluorescence- and magnetic-activated cell sorting strategies to isolate and enrich human spermatogonial stem cells. *Fertil Steril*. 2014;102:566–580 e7.
27. Honaramooz A, Snedaker A, Boiani M, Scholer H, Dobrinski I, Schlatt S. Sperm from neonatal mammalian testes grafted in mice. *Nature*. 2002;418:778–81.
28. Jahnukainen K, Ehmcke J, Nurmio M, Schlatt S. Autologous ectopic grafting of cryopreserved testicular tissue preserves the fertility of prepubescent monkeys that receive sterilizing cytotoxic therapy. *Cancer Res*. 2012;72:5174–8.
29. Wyns C, Van Langendonck A, Wese FX, Donnez J, Curaba M. Long-term spermatogonial survival in cryopreserved and xenografted immature human testicular tissue. *Hum Reprod*. 2008;23:2402–14.
30. Yang S, Ping P, Ma M, Li P, Tian R, Yang H, et al. Generation of haploid spermatids with fertilization and development capacity from human spermatogonial stem cells of cryptorchid patients. *Stem Cell Reports*. 2014;3:663–75.
31. Stukenborg JB, Wistuba J, Luetjens CM, Elhija MA, Huleihel M, Lunenfeld E, et al. Coculture of spermatogonia with somatic cells in a novel three-dimensional soft-agar-culture-system. *J Androl*. 2008;29:312–29.
32. Baert Y, Stukenborg JB, Landreh M, De Kock J, Jornvall H, Soder O, et al. Derivation and characterization of a cyto-compatible scaffold from human testis. *Hum Reprod*. 2015;30:256–67.
33. Sato T, Katagiri K, Gohbara A, Inoue K, Ogonuki N, Ogura A, et al. In vitro production of functional sperm in cultured neonatal mouse testes. *Nature*. 2011;471:504–7.
34. Sato T, Katagiri K, Kubota Y, Ogawa T. In vitro sperm production from mouse spermatogonial stem cell lines using an organ culture method. *Nat Protoc*. 2013;8:2098–104.
35. Sato T, Yokonishi T, Komeya M, Katagiri K, Kubota Y, Matoba S, et al. Testis tissue explantation cures spermatogenic failure in c-Kit ligand mutant mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2012;109:16934–8.
36. Yokonishi T, Sato T, Komeya M, Katagiri K, Kubota Y, Nakabayashi K, et al. Offspring production with sperm grown in vitro from cryopreserved testis tissues. *Nat Commun*. 2014;5:p4320.
37. De Michele F, Poels J, Weerens L, Petit C, Evrard Z, Ambroise J, et al. Preserved seminiferous tubule integrity with spermatogonial survival and induction of Sertoli and Leydig cell maturation after long-term organotypic culture of prepubertal human testicular tissue. *Hum Reprod*. 2017;32:32–45.
38. Rodriguez-Wallberg KA, Oktay K. Fertility preservation during cancer treatment: Clinical guidelines. *Cancer Manag Res*. 2014;6:105–17.
39. Bramswig JH, Riepenhausen M, Schellong G. Parenthood in adult female survivors treated for Hodgkin's lymphoma during childhood and adolescence: A prospective, longitudinal study. *Lancet Oncol*. 2015;16:667–75.
40. Lee SJ, Schover LR, Partridge AH, Patrizio P, Wallace WH, Hagerty K, et al. American Society of Clinical Oncology recommendations on fertility preservation in cancer patients. *J Clin Oncol*. 2006;24:2917–31.
41. 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;31:2500–10.
42. Lambertini M, Del Mastro L, Pescio MC, Andersen CY, Azim HA Jr, Peccatori FA, et al. Cancer and fertility preservation: International recommendations from an expert meeting. *BMC Med*. 2016;14:1.
43. Hyman JH, Tulandi T. Fertility preservation options after gonadotoxic chemotherapy. *Clin Med Insights Reprod Health*. 2013;7:61–9.
44. Raciborska A, Bilska K, Filipp E, Drabko K, Rogowska E, Chaber R, et al. Ovarian function in female survivors after multimodal Ewing sarcoma therapy. *Pediatr Blood Cancer*. 2015;62:341–5.
45. Wyns C, Curaba M, Vanabelle B, Van Langendonck A, Donnez J. Options for fertility preservation in prepubertal boys. *Hum Reprod Update*. 2010;16:312–28.
46. Tournaye H, Dohle GR, Barratt CL. Fertility preservation in men with cancer. *Lancet*. 2014;384:1295–301.
47. Wallace WH, Thomson AB, Kelsey TW. The radiosensitivity of the human oocyte. *Hum Reprod*. 2003;18:117–21.