

CONSIDERACIONS SOBRE LA CRIOPRESERVACIÓ DE GÀMETES

**Comissió Assessora de Tècniques
de Reproducció Humana Assistida**

25 de gener de 2002

Aquest document, que ha estat encarregat al grup de treball per la Comissió Assessora de Tècniques de Reproducció Humana Assistida, pretén plantejar un conjunt de consideracions i elaborar una proposta perquè el Servei Català de la Salut (CatSalut) consideri la inclusió de la criopreservació de gàmetes entre les prestacions que s'ofereixen dins del sistema d'assegurament públic. Tot i que encara es troba en una fase d'avaluació, la possibilitat de criopreservar oòcits i teixit ovàric és una realitat; és per això que aquest informe s'estén més en aquest apartat.

Lluís Bassas
Irene Boiso
Josep Maria Busquets
Josep Maria Calafell
Adela Miralles

Gener de 2002

1. CONSIDERACIONS ESPECÍFIQUES SOBRE LA CRIOPRESERVACIÓ DE SEMEN

- 1.1. Introducció
- 1.2. Aproximació a la situació actual
- 1.3. Consideracions socials i ètiques a favor que el sistema públic es faci càrrec d'aquesta prestació
- 1.4. Possibles criteris per beneficiar-se d'aquesta prestació

2. CONSIDERACIONS ESPECÍFIQUES SOBRE LA CRIOPRESERVACIÓ DE TEIXIT OVÀRIC

- 2.1. Situació actual i perspectives de futur
- 2.2. Consideracions respecte a oferir aquesta possibilitat a totes les pacients amb tractaments de quimioteràpia
- 2.3. Criteris bàsics que ha d'incloure el consentiment informat dels protocols d'investigació clínica
- 2.4. Estimació de les possibles beneficiàries

3. CONSIDERACIONS ESPECÍFIQUES SOBRE LA CRIOPRESERVACIÓ D'OÒCITS

- 3.1. Situació actual i perspectives de futur
- 3.2. Estimació de les possibles beneficiàries

CONCLUSIONS

REFERÈNCIES BIBLIOGRÀFIQUES

1. CONSIDERACIONS ESPECÍFIQUES SOBRE LA CRIOPRESERVACIÓ DE SEMEN

1.1. Introducció

Algunes malalties greus que afecten homes joves requereixen tractaments agressius basats en fàrmacs citostàtics i/o radioteràpia que produeixen alta toxicitat gonadal i que conseqüentment poden ocasionar azoospermia temporal o permanent (Forman, 1996; Rowley, 1974). D'altra banda, certes intervencions urològiques i retroperitoneals freqüentment causen ejaculació retrògrada o anejaculació.

En totes aquestes situacions la criopreservació preventiva de semen constitueix una reserva de fertilitat en casos de desig reproductiu (Sherman, 1973). Gràcies a les tècniques de reproducció humana assistida, les gàmetes criopreservades prèviament poden ser utilitzades més tard per aconseguir descendència amb resultats similars als d'altres causes d'esterilitat (Bassas, 2000; Rhodes, 1985; Mahadevan, 1983). Actualment la majoria dels metges informen els pacients afectats de tumors testiculars, malaltia de Hodgkin, altres limfomes, leucèmies i tumors sòlids d'origen sarcomatós o epitelial, de la possibilitat de preservar semen. Es tracta, doncs, d'una mesura que forma part ja de la bona pràctica mèdica.

Però tot i que la criopreservació de semen constitueix una eina tecnològica molt important per als homes que requereixen tractaments amb efectes adversos sobre l'espermatogènesi o la funció ejaculadora, només una minoria d'ells utilitzarà en el futur els espècimens conservats, ja que en molts casos es produirà una recuperació espontània de la fertilitat, un cop superat l'efecte del tractament i resolta la malaltia de base. També cal tenir en compte els homes que no desitgen procrear i els casos en què es produeix la defunció del pacient.

Per les raons esmentades en aquests pacients es fa necessari el seguiment clínic i analític perquè els ajudarà a orientar la conducta a seguir a cada moment i els oferirà consell reproductiu. Així serà possible decidir si cal continuar conservant les mostres congelades, o bé sospesar les possibilitats de gestació mitjançant procreació natural, i també l'elecció de la tècnica de reproducció més adequada.

1.2. Aproximació a la situació actual

És difícil conèixer el nombre de mostres criopreservades perquè existeixen diferents bancs que conserven mostres i no totes són per causa de malaltia oncològica. Hi ha molts bancs que criopreserven mostres de donants, o bé mostres de pacients que faran tractaments amb tècniques de reproducció assistida però que no pateixen malalties el tractament de les quals produeixi azoospermia. El FIVCAT (Fecundació *in vitro* de Catalunya), el registre que recull l'activitat de les tècniques de reproducció humana assistida a Catalunya, solament permet conèixer el nombre de donants que van fer ús d'aquestes tècniques de reproducció, i que l'any 1997 van ser 321 persones.

Per estimar el nombre de casos s'ha fet l'estudi de les mostres existents en tres bancs que pel fet de pertànyer a hospitals que atenen patologia oncològica suposen un percentatge molt important sobre el nombre global. Aquests tres bancs pertanyen a l' Institut de Recerca Oncològica (IRO), l' Hospital Clínic i la Fundació Puigvert.

D'acord amb la informació d'aquests bancs, els procediments de criopreservació de semen s'apliquen a pacients susceptibles d'esterilitat definitiva, i en un 95% de casos corresponen a pacients oncològics.

Anualment els metges responsables de l'IRO envien uns cinquanta o seixanta pacients, en el cas de l'Hospital Clínic uns altres seixanta, i una xifra semblant de la Fundació Puigvert.

Suposant que el gruix de la patologia oncològica que motiva la criopreservació es realitzi en centres públics i que solament un 20% de malalts criopreservin en bancs privats, podrien deduir que les sol·licituds ateses no van més enllà de les 200 anuals .

Entre un 10 i un 15% de pacients tramesos no inicia la criopreservació per no poder afrontar el cost del procés ni el futur manteniment de les mostres. Cal afegir, a més, que fins a un 15% de les mostres no compleixen uns mínims de qualitat com per ser acceptades, tot i que amb la introducció de la tècnica d'ICSI (*Intracytoplasmic Sperm Injection*) es poden obtenir molt bons resultats de mostres de molt baixa qualitat, i fins i tot de mostres de biòpsies testiculars congelades.

El perfil dels pacients que consulten correspon majoritàriament a homes d'entre 15 i 37 anys afectats per alteracions hematològiques (limfomes, leucèmies) i neoplàsies (tumors testiculars malignes, sarcomes) i que habitualment criopreserven dues mostres i com a màxim quatre.

El temps d'emmagatzematge fins a la descongelació i posterior ús en tècniques de reproducció assistida oscil·la entre els quatre i els quinze anys.

1.3. Consideracions, socials i ètiques a favor que el sistema públic es faci càrrec d'aquesta prestació

- El Reial Decret 63/1995 sobre el catàleg de prestacions cobertes pels serveis públics inclou els tractaments d'infertilitat. En aquest sentit es podria argumentar que la criopreservació forma part d'aquests tractaments, almenys en alguns supòsits particulars, com ara el cas de pacients amb una neoplàsia en els quals hi ha la certesa que el tractament amb quimioteràpia comportarà la pèrdua permanent o temporal de gàmetes. El fet de criopreservar esdevé l'única possibilitat de poder accedir més tard a aquest tractament d'infertilitat amb una alta eficàcia evidenciada.
- Un altre argument és el tractament discriminatori que suposa que el sistema públic es faci càrrec de la criopreservació de diferents teixits (vegeu el quadre adjunt), encara que el benefici que se'n pugui derivar per a la salut de les persones no tingui una evidència tan contrastada com el de la criopreservació de gàmetes amb finalitats reproductives en el cas de persones amb problemes d'infertilitat.
- Els arguments anteriors cal emmarcar-los en un hipotètic suport respecte a les pràctiques de foment de la natalitat en què haurien

LA SITUACIÓ d'ALTRES BANCS DE TEIXITS NO GERMINALS

La criopreservació de cèl·lules i teixits per a utilització clínica, tant per a ús autòleg com al·logènic, és una pràctica mèdica coberta pel Servei Català de la Salut en el nostre entorn i pels diferents serveis de salut a la resta de l'Estat espanyol. Per a ús autòleg s'estan criopreservant, entre d'altres, precursors hematopoètics de moll de l'os, de sang perifèrica i de cordó umbilical, paratiroides, semen, embrions. Per a ús al·logènic, s'estan criopreservant precursors hematopoètics de moll de l'os, de sang perifèrica i de cordó umbilical, vàlvules cardíaques, segments vasculars, còrnies, pell i teixit osteotendinós, entre d'altres.

Respecte als bancs de semen per a ús autòleg, els costos de la criopreservació i emmagatzematge van anar a càrrec de la Seguretat Social durant anys, però a principi dels anys 90 va passar a ser un acte mèdic no cobert pel Servei Català de la Salut. Des de llavors, els pacients que han volgut fer ús d'aquesta tècnica, han hagut d'assumir els costos que implica.

d'estar emmarcades totes les polítiques d'un país com Catalunya amb una de les taxes de natalitat més baixes del món.

- Finalment cal dir que la situació que es dona a Catalunya contrasta amb la de països del nostre entorn, com França, Itàlia i Alemanya entre d'altres, on aquesta prestació està coberta pels sistemes públics.

1.4. Possibles criteris per beneficiar-se d'aquesta prestació

Tenint en compte el possible volum de pacients beneficiaris d'aquesta prestació i el perfil homogeni que presenten (<40 anys sense descendència o sense haver vist complert el desig de paternitat) creiem que mèdicament no caldria establir criteris per seleccionar els beneficiaris de la congelació de gàmetes masculins per a criopreservació davant d'una malaltia que pugui eliminar la capacitat reproductiva.

L'únic criteri que en determinats casos podria prevaler seria l'edat reproductiva del pacient, tot i que seria molt difícil establir un límit màxim mèdic i/o ètic vàlid.

D'altra banda, aquesta prestació no seria escaient quan no hi hagués una indicació mèdica; per exemple, en el cas que hi hagués el propòsit d'aplicar-se un mètode d'anticoncepció definitiva, com ara la vasectomia.

Ara bé, com ja s'ha dit a l'inici d'aquest informe, solament una part dels pacients que fan criopreservació de semen acaben necessitant i sol·licitant les mostres per a alguna de les tècniques de reproducció humana assistida. Per tant, es considera molt important que el contracte que es pogués establir entre el pacient que vol criopreservar i el banc de semen preveïés el compromís per part del primer de sotmetre's a un seguiment clínic i analític periòdic per valorar si ha recuperat l'espermatogènesi. En cas que es recuperés la fertilitat o bé que per altres motius no es complissin els compromisos subscrits en el contracte, el banc podria descongelar les mostres.

Respecte al període de temps que el Servei Català de la Salut hauria de fer-se càrrec dels costos de manteniment de les mostres criopreservades, cal recordar que la legislació espanyola limita el termini de conservació de semen a cinc anys (article 11 de la Llei 35/1988). La Llei no menciona les raons d'aquesta limitació, però possiblement en el moment en què es va redactar no es disposava de la certesa sobre la

seguretat i viabilitat de la criopreservació després de cinc anys de què es disposa actualment. De fet, legislacions d'altres països redactades amb posterioritat no limiten el temps d'aquesta durada.

De l'evidència científica disponible actualment es desprèn que no existeixen problemes ètics per ampliar els terminis establerts per la Llei, però caldrà establir un control estricte de les mesures i els procediments que minimitzin el risc d'oscil·lacions tèrmiques dels recipients de criopreservació i la prevenció de la contaminació encreuada d'agents infecciosos.

Tot i amb això, per poder establir un accés equitatiu a aquesta prestació és factible fixar el temps màxim que actualment estableix la Llei en els cinc o deu anys per a pacients molt joves; el temps suplementari, en cas de no voler utilitzar la mostra, hauria d'anar a càrrec de l'usuari.

2. CONSIDERACIONS ESPECÍFIQUES SOBRE LA CRIOPRESERVACIÓ DE TEIXIT OVÀRIC

2.1. Situació actual i perspectives de futur

En la dona, la dotació de cèl·lules germinals està constituïda per un nombre finit representat pels fol·licles primordials. Aquest nombre assoleix el pic durant el desenvolupament fetal i va disminuint a partir de la pubertat i al llarg de la vida, a través dels processos de maduració, ovulació i atresia. Quan la reserva fol·licular declina per sota de cert nivell (al voltant dels 35 anys d'edat), la fecunditat es redueix (Faddy i Gosden, 1995).

El tractament del càncer mitjançant quimioteràpia i radioteràpia té un efecte esterilitzant sobre l'ovari i implica, per tant, una disminució notable de la reserva fol·licular. La disminució de la reserva fol·licular és proporcional a l'agressivitat del tractament i a l'edat de la pacient, i pot conduir eventualment a l'esterilitat total (Apperley i Reddy, 1995).

Estudis recents demostren que el teixit ovàric humà resisteix el procés de congelació i descongelació (Hovatta i col., 1996). La viabilitat del teixit ovàric humà congelat ha estat comprovada empeltant els fragments de teixit descongelat a la càpsula renal de ratolins immunodeficients i recuperant després els empelts per a l'anàlisi histològica (Newton i col., 1996), la qual cosa demostra la capacitat d'integració i el potencial de desenvolupament *in vivo* del teixit ovàric descongelat.

Els encoratjadors resultats obtinguts sobre la supervivència de teixit ovàric a la criopreservació, plantegen el repte de com utilitzar el teixit una vegada descongelat de la forma més eficaç possible amb finalitats reproductives. Es presenten dues opcions, ambdues amb problemes tècnics per resoldre: d'una banda, hi ha la possibilitat d'empeltar el teixit una vegada que la pacient assoleixi la remissió de la malaltia; d'una altra, els fol·licles podrien aïllar-se i fer-los madurar *in vitro*. Si el teixit pogués ser criopreservat abans que la pacient rebés tractament, i fos retornat en forma d'empelt quan assolís la remissió, podria restaurar-se el cicle ovulatori natural, llavors seria possible la concepció *in vivo* amb les seves pròpies cèl·lules germinals. En canvi, en els casos en els quals l'empelt estigués contraindicat, el teixit es podria fer madurar i fecundar *in vitro*, i els embrions resultants transferits a la pacient. En aquesta darrera opció, s'hauria de recórrer a la fecundació *in vitro* (FIV) per aconseguir un embaràs.

La possibilitat de dur a terme autotrasplantaments de teixit ovàric criopreservat ha estat provada ja en espècies com ara el ratolí (Harp i col., 1994) i l'ovella (Gosden i col., 1994). Les experiències de trasplantaments de teixit ovàric congelat en humans són escasses i molt recents. El primer trasplantament ortotòpic de teixit ovàric congelat-descongelat es va dur a terme el 1999 (Oktay i col.). Després del trasplantament, es va observar revascularització del teixit tres setmanes després i resposta ovulatòria (verificada per ecografia i analítica hormonal) a l'estimulació amb gonadotrofines exògenes tres mesos més tard. S'ha comunicat l'any 2001 un segon trasplantament d'aquestes característiques (Radford i col., 2001). En aquest cas es va realitzar un seguiment de nou mesos; al cap de set mesos des del trasplantament es va detectar estradiol a la sang i descens de les hormones FSH i LH, així com un cicle menstrual en una pacient que havia quedat menopàusica a conseqüència de la quimioteràpia; tanmateix, passats nou mesos des del trasplantament la pacient va tornar a presentar signes de menopausa. De manera que encara que la viabilitat fisiològica del teixit ovàric humà ha estat demostrada, la longevitat d'eventuals trasplantaments encara s'ha de determinar (Moomjy i Rosenwaks, 1998). S'ha descrit alguna experiència de trasplantaments heterotòpics en què després de quatre mesos des del trasplantament de teixit a l'avantbraç la pacient ha presentat desenvolupament de fol·licles antrals i producció d'estradiol (Oktay, 2000; Callejo i col., 2001).

S'ha de tenir en compte el risc de criopreservar teixit amb cèl·lules canceroses, ja que en ser reempeltat en una pacient en remissió pot fer reiniciar la malaltia. Un estudi realitzat en ratolins ha demostrat que és possible transferir un limfoma a ratolins sans receptors de trasplanta-

ments de teixit ovàric d'un ratolí afectat de la mateixa soca (Shaw i col., 1996). Per aquest motiu la selecció de les pacients ha de fer-se en funció del tipus de malignitat i la seva activitat (Meirow i col., 1998). Una mesura de precaució que cal considerar és l'ús de marcadors moleculars i citogenètics per determinar si el teixit criopreservat conserva alguna cèl·lula maligna (Gosden i col., 1997).

Per eliminar tota possibilitat de reintroduir cèl·lules malignes, seria desitjable fer créixer els fol·licles i posteriorment els oòcits *in vitro* de manera que només es poguessin transferir a la pacient embrions lliures de contaminació. La tecnologia per al cultiu de fol·licles primordials aïllats es troba encara en una fase experimental inicial. Recentment s'ha aconseguit el cultiu *in vitro* de fol·licles primordials de ratolí (Eppig i O'Brien (1996) i és possible que l'aplicació d'aquests mètodes en humans no sigui realitat fins dins d'alguns anys. Tanmateix, en el futur les pacients joves que actualment congelen teixit podran beneficiar-se dels avenços tècnics quan considerin la possibilitat d'un embaràs.

En conclusió, la tècnica de criopreservació de teixit ovàric està a punt per ser aplicada clínicament en casos seleccionats, si bé queda per resoldre la destinació que es donarà al teixit ovàric emmagatzemat una vegada descongelat.

2.2. Consideracions sobre el fet d'oferir aquesta possibilitat a totes les pacients amb tractaments de quimioteràpia

- Tant si es considera la possibilitat d'un trasplantament de teixit ovàric congelat per restablir la funció endocrina com per restablir la funció reproductiva, ha de tenir-se en compte la patologia de la pacient. No hi ha restriccions respecte a oferir-la a pacients a les quals s'ha extirpat teixit ovàric per causes benignes. Però en el cas de pacients amb malalties malignes ha de valorar-se tenint en compte el tipus de càncer, el grau de malignitat i la possibilitat que el teixit criopreservat contingui cèl·lules canceroses que poguessin reiniciar la malaltia en una pacient sana. Ja s'ha assenyalat la importància de la utilització de marcadors de malignitat en els casos d'eventuals trasplantaments. Quan el teixit ovàric està afectat de forma directa ha de deixar-se clar que la possibilitat de fer créixer i madurar teixit *in vitro* no és ni de bon tros una alternativa immediata.
- Des del punt de vista reproductiu ha de tenir-se en compte que la dotació fol·licular, i per tant la fecunditat, es redueix dràsticament a partir dels 35 anys. Per aquesta raó, quan s'ofereixi com a opció la

tècnica a pacients majors d'aquesta edat cal alertar del descens del percentatge d'èxit.

- D'altra banda, tenint en compte que es tracta d'una tècnica nova amb incògnites per resoldre, com més jove sigui la pacient, més grans seran les possibilitats que pugui beneficiar-se dels avenços de la tècnica quan consideri l'opció de tenir un embaràs.

2.3. Criteris bàsics que ha d'incloure el consentiment informat dels protocols d'investigació clínica

- Ha d'informar-se la pacient del caràcter experimental de la tècnica, de les limitacions actuals quant a la utilització del teixit i de l'escassa experiència que hi ha en aquest sentit a escala mundial.
- Tots els centres que vulguin realitzar aquest tècnica haurien de seguir un protocol d'investigació clínica i ser autoritzats per un comitè ètic d'investigació clínica.

2.4. Estimació de les possibles beneficiàries

Són candidates potencials totes les pacients amb risc de sofrir una menopausa precoç, per causes benignes, endometriosis greus o oncològiques.

Actualment, en els centres que realitzen aquesta tècnica s'han congelat mostres de quinze pacients. Com que es tracta d'una tècnica relativament nova, cal suposar que en la mesura que es difongui la possibilitat de posar-la en pràctica el nombre de peticions augmentarà.

3. CONSIDERACIONS ESPECÍFIQUES SOBRE LA CRIOPRESERVACIÓ D'OÒCITS

3.1. Situació actual i perspectives de futur

La criopreservació rutinària d'oòcits és una de les eines que manquen en el laboratori de reproducció assistida. Un protocol de congelació fiable, reproducible i eficient contribuiria a resoldre diverses situacions clíniques i evitaria els problemes ètics i legals que comporta la criopreservació d'embrions.

La criopreservació d'oòcits humans va iniciar-se amb entusiasme a començament dels anys 80. El reduït nombre d'embarassos procedents d'oòcits prèviament congelats (Chen 1986; van Uem i col., 1987; Al-Hasani i col., 1987) va provocar l'abandonament relatiu de la tècnica. L'avaluació dels efectes dels diversos passos involucrats en un protocol de congelació-descongelació sobre les estructures de l'ovòcit va crear una visió pessimista sobre les possibilitats d'aplicació de la tècnica. En particular, l'efecte de la criopreservació sobre la integritat del fus meiótic i la placa metafàsica va fer plantejar el risc que suposava la fecundació d'oòcits prèviament congelats per la possibilitat d'induir aneuploidies en els embrions resultants (Trounson, 1986).

Les taxes de supervivència dels oòcits humans a la congelació són relativament baixes si es comparen amb les taxes de supervivència d'embrions congelats (que oscil·len entre un 35 i un 93%, depenent de l'estadi embrionari en el moment de la congelació) (Veeck, 1993). En un treball molt recent Fabbri i col. (2001) informen d'un notable increment en les taxes de supervivència després de la realització d'algunes modificacions tècniques en el protocol de congelació. S'ha de demostrar encara si aquest increment en la taxa de supervivència va acompanyat d'un increment en el desenvolupament adequat *in vitro* i *in vivo* dels embrions resultants.

Els oòcits que sobreviuen presenten taxes de fecundació relativament baixes, si bé s'ha observat un increment notable en les taxes de fecundació normal gràcies a la introducció de la microinjecció espermàtica (ICSI) (Palerm, 1992) com a tècnica d'inseminació (Gook i col., 1995; Kazem i col., 1995; Porcu i col., 1997). Aquest fet ha fet revifar recentment l'interès per la congelació d'oòcits. En els últims anys s'han produït nous embarassos i el naixement de nens sans (aproximadament uns trenta a tot el món), tots ells gràcies a l'aplicació de l'ICSI en oòcits

criopreservats, a partir d'un nombre indeterminat però presumiblement gran d'intents (Porcu i col., 1997; Porcu i col., 1997; Fabbri i col., 1998; Tucker i col., 1998; Polak de Fried i col., 1998; Young i col., 1998; Borini i col., 1998; Antinori i col., 1998; Kuleshova i col., 1999; Yang i col., 1999; Porcu i col., 1999).

L'aplicació clínica del procediment està prohibida en alguns països entre els quals hi ha Espanya, ja que encara s'ha d'establir la innocuïtat de la tècnica respecte a la inducció d'aneuploïdies. L'única forma de respondre a la incògnita que es planteja respecte a la normalitat cromosòmica dels embrions obtinguts per FIV d'òcits prèviament congelats és l'anàlisi genètica preimplantacional per detectar possibles aneuploïdies. Cobo i col. (2001) van analitzar cromosòmicament 15 embrions procedents d'òcits criopreservats i van arribar a la conclusió que no hi havia un increment en la taxa d'aneuploïdies respecte del grup de control. Seria necessari un estudi controlat i amb un elevat nombre de casos per determinar la innocuïtat de la tècnica en aquest sentit.

El nombre creixent de nens sans nascuts a partir d'òcits criopreservats indica que la tècnica pot ser aplicable en situacions clíniques ben seleccionades, sempre que s'informi la pacient de les limitacions, riscos i incerteses que planteja. Segons el nostre parer, la tècnica no està a punt per a la seva aplicació clínica de forma rutinària.

3.2. Estimació de les possibles beneficiàries

Serien candidates potencials totes les pacients que se sotmetin a un cicle de FIV i les pacients amb risc de sofrir una menopausa precoç en què l'edat (pacients pediàtriques) o la condició clínica no sigui un impediment per rebre l'estimulació hormonal necessària per a l'obtenció d'òcits.

CONCLUSIONS

- Considerem que, atès l'estat actual de les tècniques de reproducció humana assistida, la bona pràctica clínica aconsella oferir la possibilitat de criopreservar semen en els pacients que s'han de sotmetre a tractaments que eliminin temporalment o permanentment la seva fertilitat.

- En aquests pacients la criopreservació forma part del tractament de la infertilitat que segons el Reial Decret 63/1995, sobre el catàleg de prestacions, està cobert per l'assegurament públic. Per tant, no és raonable que se n'exigeixi el pagament, i menys quan això no es fa amb altres tipus de teixits criopreservats.
- Entenem que la cobertura d'aquesta prestació ha d'estar condicionada a la necessitat de continuar mantenint el semen congelat. Per tant, cal establir un compromís amb el pacient mitjançant un contracte, que permeti un seguiment periòdic, per avaluar la funció reproductora i l'interès que té a continuar mantenint la congelació.
- En la nostra opinió ni la tècnica de criopreservació oocitària ni la criopreservació de teixit ovàric estan a punt per a la seva aplicació clínica de forma rutinària; però si s'apliquen correctament les metodologies descrites pels grups pioners en el tema, podrien oferir-se dins d'assaigs clínics controlats sota la supervisió d'un comitè ètic d'investigació clínica en determinades pacients sotmeses a FIV. En el cas que els resultats d'aquests assaigs fossin favorables, podrien ser una alternativa real a la criopreservació d'embrions i també facilitar el procés de donació d'òcits amb la creació de bancs d'òcits.

OBRES DE REFERÈNCIA

Al-Hasani S, Diedrich K, vans der Ven H, Reinecke A, Hartje H, Krebs D. Cryopreservation of human oocytes. Hum Reprod 1987; 2(8): 695-700.

Antinori S, Dani G, Selman HA, Vidali A., Antinori M, Cerusico C, Versaci C. Pregnancies after sperm injection into cryopreserved human oocytes. Hum Reprod 1998; 13 (Abst Book 1): P-055.

Bassas L, Mata A, Navas M, García A, López O. Criopreservación preventiva de semen en hombres sometidos a tratamientos inductores de esterilidad: seguimiento clínico y reproductivo. Urol Integr Invest 2000; 5: 20-26.

Borini A, Bafaro MG, Bonu MA, Di Stratis V, Sereni E, Sciajno R, Serrao L. Pregnancies after oocyte freezing and thawing. Preliminary data. Hum Reprod 1998; 13 (Abst book 1): O-241.

Callejo i col. Long-term ovarian function evaluation after autografting by implantation with fresh and frozen-thawed human ovarian tissue. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86(9): 4489-94.

Chen C. Pregnancy after human oocyte cryopreservation. *Lancet* 1986; 1(8486): 884-6.

Cobo AC, Requena A, Neuspiller F, Aragonés M, Mercader A, Navarro J, Simón C, Remohí J, Pellicer A. Maturation in vitro of human oocytes from unstimulated cycles: selection of the optimal day for ovum retrieval based on follicular size. *Hum Reprod* 1999; 14(7): 1864-8.

Cobo A, Rubio C, Gerli S, Ruiz A, Pellicer A, Remohi J. Use of fluorescence in situ hybridization to assess the chromosomal status of embryos obtained from cryopreserved oocytes. *Fertil Steril* 2001; 75(2): 354-60.

Fabbri R, Porcu E, Marsella T, Primavera MR, Seracchioli R, Ciotti PM, Magrini O, Venturoli S, Flamigni C. Oocyte cryopreservation. *Hum Reprod* 1998; 13 (Suppl 4): 98-108.

Fabbri R, Porcu E, Marsella T, Rocchetta G, Venturoli S, Flamigni C. Human oocyte cryopreservation: new perspectives regarding oocyte survival. *Hum Reprod* 2001; 16(3): 411-6.

Forman R, Gilmour-White S, Forman N. Drug-induced infertility and sexual dysfunction. Cambridge: Cambridge University Press, 1996.

Gook DA, Schiewe MC, Osborn SM, Asch RH, Jansen RPS, Johnston WI. Intracytoplasmic sperm injection and embryo development of human oocytes cryopreserved using 1,2-propanediol. *Hum Reprod* 1995; 10 (10): 2637-41.

Kazem R, Thompson LA, Srikantharajah A, Laing MA, Hamilton MP, Templeton A. Cryopreservation of human oocytes and fertilization by two techniques: in-vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod* 1995; 10(10): 2650-4.

Kuleshova L, Gianaroli L, Magli C, Ferraretti A, Trounson A. Birth following vitrification of a small number of human oocytes. *Hum Reprod* 14(12): 3077-9.

Mahadevan MM, Trounson AO, Leeton JF. Successful use of human semen cryobanking for in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1983; 40(3): 340-3.

Palermo G, Joris H, Devroey P, Van Seirteghem AC. Pregnancies after intracytoplasmic injection of a single spermatozoon into an oocyte. *Lancet* 1992; 340(8810): 17-8.

Polak de Fried E, Notrica J, Rubinstein M, Marazzi A, Gómez Gonzalez M. Pregnancy after human donor oocyte cryopreservation and thawing in association with intracytoplasmic sperm injection in a patient with ovarian failure. *Fertil Steril* 1998; 69(3): 555-7.

Porcu E, Fabbri R, Seracchioli R, Ciotti PM, Magrini O, Savelli L, Ghi T, Flamigni C. Intracytoplasmic sperm injection of cryopreserved human oocytes. *Proceedings of the 10th World Congress on In Vitro Fertilization and Assisted Reproduction, Vancouver, Canada, 24-28 May, 1997*. Bologna: Monduzzi Editore, 1997: 1153-7.

Porcu E, Fabbri R, Seracchioli R, Ciotti P, Magrini O, Flamigni C. Birth of a healthy female after intracytoplasmic sperm injection of cryopreserved human oocytes. *Fertil Steril* 1997; 68(4): 724-6.

Porcu E, Fabbri R, Ciotti PM, Petracchi S, Seracchioli R, Flamigni C. Ongoing pregnancy after intracytoplasmic sperm injection of epididymal spermatozoa into cryopreserved human oocytes. *J Assist Reprod Genet* 1999; 16(5): 283-5.

Porcu E, Fabbri R, Ciotti PM, Marsella T, Balicchia B, Damiano G, Caracciolo S, Giunchi S, De Cesare R, Flamigni C. Cycles of human oocyte cryopreservation and intracytoplasmic sperm injection: results of 122 cycles. *Fertil Steril* 1999; 72 (Suppl 1): O-004.

Rodhes EA, Hoffman DJ, Kaempfer SH. Ten years of experience with semen cryopreservation by cancer patients: follow-up and clinical considerations. *Fertil Steril* 1985; 44(4): 512-6.

Rowley MJ, Leach DR, Warner GA, Heller GG. Effect of graded doses of ionizing radiation on the human testis. *Radiat Res* 1974; 59(3): 665-78.

Sherman JK. Synopsis of the use of frozen semen since 1964: state of the art of human semen banking. *Fertil Steril* 1973; 24(5): 397-412.

Trounson A. Preservation of human eggs and embryos. *Fertil Steril* 1986; 46(1): 1-12.

Tucker MJ, Wright G, Morton PC, Massey JB. Birth after cryopreservation of immature oocytes with subsequent in vitro maturation. *Fertil Steril* 1998; 70(3): 578-9.

Van Uem JF, Siebzehnrübl E, Schuh B, Koch R, Trotnow S, Lang N. Birth after cryopreservation of unfertilised oocytes. *Lancet* 1987; 1(8535): 752-3.

Veeck LL, Wortham JW, Witmyer J, Sandow BA, Acosta AA, Garcia JE, Jones GS, Jones HW Jr. Maturation and fertilization of morphologically immature human oocytes in a program of in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1983; 39(5): 594-602.

Yang DS, Blohm PL, Cramer L, Nguyen K, Zhao YL, Winslow KL. A successful human oocyte cryopreservation regime: survival, implantation and pregnancy rates are comparable to that of cryopreserved embryos generated from sibling oocytes. *Fertil Steril* 1999; 72 (Suppl 1): O-224.

Young E, Kenny A, Puigdomenech E, Van Thillo G, Tiverón M, Piazza A. Triplet pregnancy after intracytoplasmic sperm injection of cryopreserved oocytes: case report. *Fertil Steril* 1998; 70(2): 360-1.