

Uterine transplantation research: laboratory protocols for clinical application

Díaz-García C, Johannesson L, Enskog A, Tzakis A, Olausson M, Brännström M

Instituto Valenciano de Infertilidad, and b La Fe University Hospital, Valencia, Spain.

Mol Hum Reprod 2011;17(9).

Investigación en transplante de útero: protocolos para aplicación clínica

Comentado por Stella Lancuba y Constanza Branzini

CIMER (Centro de Investigaciones en Medicina Reproductiva), Buenos Aires, Argentina

Reproducción 2012;27:41-44

Los autores del presente *review* realizaron una búsqueda a través de las palabras claves “transplante uterino” y han incluido dicha bibliografía en la presente revisión basados en el desarrollo del transplante uterino en diferentes modelos animales como metodología futura.

El desarrollo de nuevas tecnologías va dando respuesta terapéutica a distintas problemáticas de infertilidad. En la actualidad la patología severa del útero se acompaña de bajas tasas de implantación embrionaria, y frente a la ausencia de útero, puede surgir la indicación de útero subrogado. Debido a toda la problemática que históricamente este aspecto frecuentemente plantea, la subrogación no ha sido aceptada en la mayor parte del mundo. Por otra parte, la experiencia ha demostrado que transplantes de diferentes tejidos u órganos mejoran la calidad de vida de los pacientes y los avances en este campo de la medicina proveen un escenario favorable para que el transplante uterino pueda tener lugar en los próximos años. Para muchas mujeres la experiencia de dar a luz es un aspecto importante en sus vidas justificando de esta manera el transplante de útero para estas pacientes.

En el presente *review* se describen los protocolos basados en la experimentación en animales en la

última década. Los mismos proveen una guía científica hacia el transplante uterino para humanos.

Durante 1970 se realizaron intentos de transplante útero-tubario en modelos animales logrando embarazos (Winston Browne, 1974), pero la experiencia en humanos fracasó (Sillo Seidi, 1975). El transplante del útero en conjunto con el oviducto sugeriría ser el método más eficaz debido a una mayor anastomosis que permita una correcta irrigación al implante. La literatura muestra embarazos en ratones en el año 2002 (Racho El-Akouri y col, 2002), en perros, ovejas (11%) y ratas (Wranning CA.Y col, 2011). No hay reportes de gestaciones en primates ni humanos (Kisu I y col, 2011; Ramirez ER y col, 2011; Del Priore G y col 2011).

El primer reporte bibliográfico de transplante de útero en humanos fue realizado en el año 2000 en una mujer de 26 años a partir de una donante de 46 años (Fageen, 2002), intento que fracasó luego de 99 días por trombosis y necrosis. En el año 2010 se realizó en Turquía un segundo transplante de útero. En este último caso la cirugía fue exitosa debido a una optimización de la técnica de la anastomosis, la cual permite mejorar la irrigación sanguínea del útero. Sin embargo, desde el punto de vista reproductivo no se puede hablar de eficacia del procedimiento hasta el logro de un embarazo en estas pacientes. El riesgo que implica esta técnica durante la gestación podría vincular a malformaciones fetales por inmunosupresores al igual que riesgos de un parto prematuro, entre otros.

Indicaciones

Los grupos potenciales o con indicación para la realización de transplante de útero son:

1. *Malformaciones uterinas congénitas:*

Aparecen en la población femenina con una prevalencia de 6,7%. Estas patologías traen apare-

Correspondencia: Stella Lancuba
E-mail: slancuba@cimer.com

jadas pérdidas de embarazo, nacimientos antes de término o complicaciones obstétricas. Los tipos de malformaciones de mayor prevalencia son: el útero septado comprendiendo el 35% de las malformaciones uterinas, seguido por el útero bicorne con un 25%. Si bien estas pacientes son fértiles, la cirugía no demuestra un claro beneficio. Otras pacientes que podrían beneficiarse con el transplante de útero son las que presentan malformaciones en conductos müllerianos, específicamente el síndrome Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser.

2. *Histerectomías:*

Un grupo de mujeres con infertilidad absoluta debida a factor uterino son pacientes jóvenes. El 50% de las mujeres que participan del programa de útero subrogado fueron histerectomizadas (Gold Farb, 2000).

3. *Cáncer ginecológico:*

El carcinoma del cuello uterino constituye la entidad patológica más frecuente con menor incidencia en países desarrollados. Más del 30% de los mismos se presentan antes de los 40 años y en mujeres nulíparas.

4. *Leiomioma:*

Se estima que el 1% de mujeres entre 30 y 34 años y el 2,5% de las mujeres entre 35 y 39 realizan histerectomía por esta causa.

5. *Adherencias intrauterinas o síndrome de Asherman:* Su prevalencia es del 1,5% (Al Inany, 2001) y puede ser mayor en países en desarrollo vinculado a tuberculosis pelviana y a raspadados agresivos.

6. *La radioterapia* sobre la pelvis, además de ser gonadotóxica, causa una reducción irreversible del tamaño uterino en un 60%.

El grupo de pacientes potenciales para transplante de útero se estima que en el Reino Unido podría incluir 12.000 a 15.000 mujeres. Según el autor, la siguiente tabla presenta las potenciales indicaciones y su prevalencia.

Aspectos técnicos del transplante de útero:

Las metodologías utilizadas en el transplante de órganos en la actualidad involucran aspectos relacionados a la donación en sí, ablación, isquemia, preservación, reperfusión, anastomosis, inmunosupresión, embarazo y aspectos éticos (Brännström M y col, 2010). Se analizan los siguientes aspectos:

a) Recuperación del útero: Ablación.

En siete pacientes fueron realizados experimentos de ablación de donantes, habiendo demostrado en los resultados que se requiere un mayor desarrollo y conocimiento de los aspectos técnicos de la ablación uterina (Del Priore y col, 2007). La selección del donante probablemente involucre considerar un donante vivo relacionado. Se deberá considerar que la edad de la donante para este tejido, según los registros de ovodonación, no es excluyente ya que se sugiere que la tasa de embarazo en receptoras jóvenes es similar a pacientes de edad avanzada. Las técnicas de ablación han sido desarrolladas en los modelos animales de primates (Scott y col, 1970), perros (Eraslan, 1966), cerdos (Wranning, 2005), ovejas (Mc Cracken, 1971; Baird, 1976), conejos (Confino, 1986) y ratas (Jiga 2003; Lee y col, 1995). El procedimiento requiere de una disección retroperitoneal y de ligamentos de vasos pélvicos compleja que solicita equipos multidisciplinarios y de cirujanos con alto entrenamiento en dicha área. En humanos el flujo arterial para el tejido se logra a través de las arterias uterinas asegurando una perfecta perfusión. En donantes fallecidos, el pedículo vascular puede ser ampliado para incluir el árbol superior arterial a la aorta abdominal inferior, con la ruptura de todas las demás ramas arteriales, incluyendo las ilíacas externas, y también las glúteas. En donantes vivos, se deberá lograr un compromiso entre la longitud razonable y el ancho de las arterias que serán anastomosadas con la prevención de hacer el menor daño posible con un mínimo riesgo para la donante. El sitio estándar de la ruptura de la arteria uterina es justo por debajo de las ramas de la arteria umbilical y la arteria vesical inferior de la porción anterior de la arteria ilíaca interna.

b) Daños por isquemia y reperfusión:

La injuria del transplante durante la isquemia representa uno de los mayores problemas. Existe isquemia inicial durante la recuperación del útero en la donante y una segunda isquemia en la receptora cuando se establecen las anastomosis. El procedimiento involucra el daño isquémico del parénquima, disfunción microcirculatoria, rechazo, vasoconstricción, stress oxidativo, alteración de los complementos de las citoquinas, inflamación y muerte celular. La isquemia, y su consecuente daño celular, genera una cascada de eventos inflamatorios que podrían inducir una respuesta

inmune en la receptora aumentando el riesgo al rechazo del órgano.

Para minimizar el daño isquémico y prolongar el tiempo de isquemia, se utiliza una solución fría de buffer para proteger al tejido. Las soluciones comúnmente utilizadas son University of Wisconsin (UW), Celsior, Histidina-triptofano-ketoglutarato (HTK) y Perfadex. El tiempo de preservación de la isquemia depende del tipo de tejido. En ratones (Racho El-Akouri y col, 2003) hasta 24 horas de preservado el tejido muestra funcionalidad con normal preñez. En estudios histológicos realizados en humanos, con tejido proveniente de donante fallecido, muestra una isquemia normal hasta las 12 horas de protección en buffer frío UW. Los autores consideran que es más recomendable utilizar un protocolo similar de preservación isquémica como se utiliza en el trasplante de corazón, ya que el corazón y el útero son órganos de composición tisular similar. La solución de preservación más utilizada actualmente en el transplante cardíaco (Lee y col, 2010) es la histidina-triptófano-cetoglutarato (HTK). Esta solución de preservación (a 4° C) se debe administrar in situ, preferentemente a través de la arteria femoral, en la situación de donantes fallecidos, y por la canalización de la arterial en su extremo final, en la situación de donantes vivos.

c) Técnica quirúrgica del transplante

En humanos se considera como criterio de inclusión a receptoras jóvenes que gocen de buena salud. La edad límite dependerá de la reserva ovárica de la receptora. La integridad estructural y los aspectos técnicos vinculados a la anastomosis es una cualidad crucial que deberá tenerse en cuenta a los efectos de sostener el embarazo. Los cambios estructurales que experimentan el útero y modificaciones en el flujo sanguíneo durante el embarazo necesitan que el transplante se realice asegurando los sitios de anastomosis vascular. Se deben evitar efectos de la isquemia, procesos degenerativos y el rechazo. Hasta el presente, la técnica y el sitio de la anastomosis vascular requieren ser optimizados debido a la existencia de un alto porcentaje de trombosis en todas las experiencias con las diferentes especies animales.

d) Impacto inmunológico del transplante: El rechazo.

El objetivo del transplante de útero en las pa-

cientes infértiles es el logro de embarazos a término, como así también el nacimiento de niños libres de patología.

Históricamente el útero ha sido considerado inmunológicamente privilegiado debido a su capacidad de acarrear embarazo semialogénico. Habitualmente el feto es protegido por el sistema inmune materno. La inmunosupresión sistemática post-transplante genera mayor riesgo fetal. Durante este procedimiento, además de la habilidad para establecer el embarazo, se requiere determinar ausencia de efectos negativos sobre el bebé nacido.

En las pacientes transplantadas el embarazo se consideraría aceptable luego de un año donde no han existido episodios de rechazo (Mc Kay, 2006). El rol del sistema inmune materno es fundamental para la protección del feto. En estos casos, se genera un rechazo por la respuesta inmune de la receptora ante antígenos de histocompatibilidad en el órgano transplantado. Para minimizar el efecto descrito, se utilizan sistemáticamente inmunosupresores. Habitualmente, durante el ciclo ovárico espontáneo la respuesta inmune en el útero muestra una expresión diferente de respuesta durante el embarazo y la tolerancia al desarrollo fetal.

Conclusiones

Hasta hoy no existe en la literatura reporte de embarazo post-transplante en primates ni humanos. Tampoco existe evidencia sobre la utilización de protocolos experimentales exitosos de larga sobrevivencia y funcionalidad del transplante. Es difícil estimar el riesgo potencial del feto y de la madre luego del transplante uterino. Es fundamental un mayor conocimiento de los fenómenos inmunológicos para la supervivencia en el tiempo del órgano transplantado y la conservación de su función antes de su implementación de rutina en los pacientes, como así también saber tomar medidas preventivas con el fin de minimizar riesgos. Entre estas medidas se podrían considerar criterios de inclusión y exclusión de las receptoras evitando patologías que puedan comprometer la viabilidad del tejido y del embarazo.

En el abordaje integral de esta terapéutica futura, como estrategia, podría indicarse la realización de un tratamiento de fertilización in vitro previo al transplante. El mismo permite la criopreser-

vación electiva de todos los embriones, evitando así las posibles complicaciones observadas en los modelos experimentales tales como disminución del potencial de fertilización natural, infecciones, hipercoagulabilidad por SHEO y trombosis de los sitios de anastomosis.

El trabajo que comentamos muestra los resultados de estudios experimentales sobre el estado actual del transplante de útero. A futuro deberán desarrollarse nuevos modelos animales apropiados para la metodología descripta. En relación a las técnicas quirúrgicas actuales se sugieren modificaciones que deben ser optimizadas para su implementación en humanos. Sin embargo, la experiencia desarrollada hasta el presente es promisorio en cuanto ha demostrado que el útero puede mostrar resistencia a la isquemia, reperfusión, injuria y después del transplante lograr un funcionamiento normal, demostrando así habilidad para llevar adelante embarazo, como sucede en especies inferior-

res. Los autores consideran que, según la evidencia descripta, se podría predecir que en los próximos 5 años el transplante de útero en humanos podría realizarse. Sin embargo, si bien los avances en el campo de los trasplantes de órganos en general y avances en los trasplantes de útero en particular proveen un escenario favorable para pacientes con infertilidad por factor uterino, la utilización de terapéutica inmunosupresora en la receptora continúa planteando un riesgo potencial fetal.

La gran ventaja del transplante de útero es descubrir un tratamiento que permita la descendencia genética de la pareja y encontrar una alternativa a la adopción o subrogancia, únicas opciones terapéuticas actuales. Pero, por otra parte, la controversia se plantea porque este nuevo tratamiento nos enfrenta a dilemas éticos que se irán resolviendo con el avance de la investigación y la experiencia en esta nueva temática durante su desarrollo futuro.

ESHRE consensus on the definition of 'poor response' to ovarian stimulation for *in vitro* fertilization: the Bologna criteria

A P Ferraretti,¹ A La Marca,² BCJM Fauser,³ B Tarlatzis,⁴ G Nargund,⁵ L Gianaroli¹ and on behalf of the ESHRE working group on Poor Ovarian Response Definition

Human Reproduction 2011;26(7):1616-1624.

Consenso de ESHRE sobre la definición de "pobre respuesta" a la estimulación ovárica en fertilización *in vitro*: Criterio de Bologna

Comentado por Marcela Irigoyen

Hospital de Clínicas
Reproducción 2012;27:45-47

Introducción

Existen innumerables publicaciones sobre pobre respuesta ovárica (PRO), su patogénesis, caracterización clínica y posibilidades terapéuticas. Las conclusiones de los autores en todos los trabajos son siempre las mismas: hay insuficiente evidencia para identificar el uso de alguna particular intervención y para mejorar los resultados de los tratamientos en PRO debido al pequeño número de participantes y a la heterogeneidad entre los trabajos.

Una definición internacionalmente aceptada es necesaria, la cual debería ser universalmente usada en futuros trabajos para poder comparar resultados e intervenciones relevantes en fertilización *in vitro* (FIV) en la PRO.

Fue organizado un *workshop* en Bologna, en marzo de 2010, involucrando a todos los grupos de especial interés de ESRHE (SIGs) y otros grupos de investigación que han contribuido en este campo.

El principal objetivo fue alcanzar un consenso en la definición y diagnóstico de PRO.

Consenso de Bologna sobre la nomenclatura

Varios son los términos utilizados en la literatura que indican la reducción de la respuesta folicular y un reducido número de ovocitos recuperados luego de la estimulación ovárica. Los más frecuentes son "mala", "lenta", "inadecuada" y "subóptima". El término "pobre" debe ser considerado como el mejor. "Baja" se refiere a un número bajo de ovocitos, que a la luz de la nueva tendencia de usar una estimulación moderada o baja, puede ser considerado como un resultado óptimo para esa estrategia.

Evaluación crítica de los criterios predictivos

1. Edad y otros factores asociados a PRO. La edad avanzada, $\geq$ a 40 años, puede ser considerada el factor de riesgo más relevante, pero ello necesita ser confirmado con otros *test*. Así también, si una mujer joven presenta PRO durante su primer ciclo de estimulación, la verdadera "pobre respuesta" debe ser confirmada usando un *test* de reserva ovárica o realizando la siguiente estimulación con dosis máximas.

Otros factores de riesgo asociados, tanto genéticos como adquiridos, son:

- Aberraciones cromosómicas estructurales o numéricas y algunas mutaciones génicas específicas que pueden implicar disminución de la reserva ovárica primaria con una respuesta disminuida a las gonadotrofinas. Ejemplos típicos pueden ser el síndrome de Turner y la premutación del FMR1.

- Infección pélvica, como daño tubario y *test* de anticuerpos positivos a Chlamydias, están asociados a pobre respuesta.

- Pacientes con endometriomas ováricos, así como también cirugías ováricas son potenciales

Correspondencia: Marcela Irigoyen
E-mail: maiirigoyen@arnet.com.ar

pobres respondedoras.

- Quimioterápicos, especialmente agentes alquilantes, reducen en forma importante el *pool* de folículos y están asociados con distintos grados de riesgo de insuficiencia ovárica.

- Ciclos menstruales cortos pueden representar otra condición asociada al aumento de riesgo de PRO.

2. Test de reserva ovárica (TRO)

Incluyen FSH basal, inhibina B, conteo de folículos antrales (CFA), volumen ovárico, *test* dinámicos y más recientemente la hormona antimülleriana (HAM).

El *test* ideal debería poder medir la cantidad de folículos primordiales (la verdadera reserva) y reflejarla. Tanto la cantidad como calidad de los folículos primordiales son difíciles de establecer, ya que el desarrollo entre los folículos primordiales a antrales lleva de 6 a 8 meses, durante los cuales las gametas desarrollan su competencia reproductiva y la esteroidogénesis folicular.

Por lo tanto, los *test* de reserva ovárica proveen de una medición indirecta de la cohorte de los folículos antrales reclutables, presentes en la ventana de FSH al comienzo de cada ciclo menstrual.

De todos los *test*, el CFA y la HAM tuvieron la mejor sensibilidad y especificidad para predecir respuesta ovárica.

Para la HAM los valores de corte están en el rango entre 0,5 y 1,1 ng/ml; mientras que para CFA el rango es < de 5 a 7 folículos antrales.

Sin embargo, aún el mejor marcador de reserva ovárica está asociado a una tasa de 10-20% de falsos positivos.

Para el propósito de este consenso, se considera suficiente un único *test* y el CFA parece ser el más usado en la práctica clínica diaria.

3. PRO.

Por definición el término PRO está relacionado al número de folículos detectados por ecografía durante la estimulación ovárica. Sin embargo, la falta de uniformidad en el monitoreo ovárico, ha llevado a usar el número de ovocitos recuperados como criterio diagnóstico. Para definir como PRO se ha utilizado en la literatura el criterio de < 3 a < 6 ovocitos.

Por otra parte, la mayoría de los trabajos identifican a las PRO después de un solo ciclo de estimulación. Un único episodio de PRO puede ser

un hallazgo ocasional y puede no repetirse si se aumenta la dosis de gonadotropinas o incluso con el mismo protocolo. Clínicamente la ocurrencia de una pobre respuesta en un 2^{do} ciclo es de solo 62,4%, por lo que un tercio de las PRO previas van a tener una subsecuente buena respuesta.

La PRO está representada por un ciclo cancelado (cuando hubo un desarrollo de menos de 3 folículos) o la recuperación de menos de 4 ovocitos en respuesta a un protocolo de estimulación ovárica de al menos 150 UI de FSH por día. No están incluidos en esta definición parámetros de madurez ovocitaria.

Resultados: definición de PRO

Siguiendo el mismo criterio que el utilizado en el diagnóstico de síndrome de ovario poliquístico (SOP) (*The Rotterdam ESHRE/American Society for Reproductive Medicine (ASRM) Sponsored PCOS Consensus Workshop Group*, 2004), se llegó a un consenso de los criterios mínimos necesarios para definir como PRO.

Al menos dos de las siguientes tres características deben estar presentes:

1. Edad materna avanzada (≥ 40 años) o algún otro factor de riesgo para PRO.
2. Una PRO previa (≤ 3 ovocitos con un convencional protocolo de estimulación).
3. Un *test* de reserva ovárica anormal (por ejemplo, RFA <5–7 folículos o HAM <0,5–1,1 ng/ml).

Dos episodios de PRO después de una estimulación máxima son suficientes para definir a una paciente pobre respondedora, en ausencia de edad materna avanzada o *test* de reserva ovárica anormal.

Por definición, el término PRO se refiere a la respuesta ovárica y, por lo tanto, un ciclo de estimulación es considerado esencial para su diagnóstico. Sin embargo, en pacientes mayores de 40 años con TRO anormal podrían ser definidas como “probables PRO”.

Conclusiones

La definición presentada en este artículo representa el primer intento real de la comunidad científica de estandarizar la definición de PRO de una manera simple y reproducible.

Si se adoptara de manera uniforme como criterio mínimo necesario para futuros trabajos, se podría testear una población más homogénea para

cualquier nuevo protocolo de investigación, pudiendo de este modo comparar mejor los resultados y llegar a verdaderas conclusiones.

Una definición estándar, además, permitirá estimar la verdadera incidencia de PRO.

Finalmente, los autores quisieron destacar que el objetivo de este trabajo fue identificar las pacientes con PRO solo con propósitos de investigación y para incluir una población más homogénea en futuros trabajos y estudiar nuevas estrategias de tratamientos, y no para excluir pacientes con pobre pronóstico de los programas de FIV. Además, señalan que esta definición adoptada no tiene un valor predictivo absoluto, ya que está bien demostrado que aún aquellas pacientes con PRO (en particular aquellas jóvenes) pueden lograr embarazos exitosos.

Comentarios

El objetivo de este Consenso fue estandarizar un criterio para identificar una población homogénea de pobres respondedoras, criterio más amplio que aquellas pacientes que han tenido una

respuesta con una baja recuperación de ovocitos en un intento de estimulación ovárica.

Es importante tener en cuenta la presencia de factores asociados que disminuyen la reserva ovárica, así como también los factores pronósticos, y rever el esquema de estimulación recibido, antes de rotular a las pacientes como pobres respondedoras.

Probablemente los puntos más polémicos de este Consenso son los valores de corte utilizados, tanto para la edad (40 años), así como también la gran variabilidad en los valores de la HAM y el CFA, estos últimos debido al uso de diferentes *kits* (HAM) o las diferentes técnicas ecográficas para valorar CFA.

Tomando como punto de partida este Consenso de la Sociedad Europea, sería interesante debatir desde nuestra Sociedad sobre la necesidad de unificar criterios diagnósticos, como en este caso el de Pobres Respondedoras, así como también discutir sobre los valores de corte según nuestros propios laboratorios y técnicas ecográficas utilizadas. Eso estimularía y daría mayor marco científico a las futuras investigaciones y posibilidad de realizar estudios multicéntricos hablando el mismo idioma.