

Simposio Serono Buenos Aires, Argentina

Presentación

Organizadas por SAMER y con el auspicio de Serono Symposia Foundation, entre el 13 y el 15 de marzo de 2008 se realizaron en Buenos Aires las jornadas de "Criopreservación de oocitos humanos, tejido ovárico y maduración in vitro (IVM)", realizadas en el Hotel Hilton de la ciudad de Buenos Aires.

El programa científico se desarrolló en dos días con conferencias plenarias a cargo de los Dres Carlos Sueldo (Argentina) y Roger Gosden (EE.UU), y cuatro sesiones científicas a cargo de destacados profesionales en el área.

La primera sesión se dedicó a criopreservación de tejido ovárico y ovocitos con la colaboración de los Dres Masachige Kuwayama (Japón) y Kagawa (Japón), la segunda a trasplante ovárico, con las presentaciones de los Dres Roger Gosden y S Samuel Kim (EE.UU), la tercera versó sobre fertilidad y cáncer con presentaciones a cargo de los Dres Kim (EE.UU), Guillermo Marconi (Argentina), Guadalupe Rey (Argentina) y Jorge Novelli (Argentina),

siendo la cuarta y última sesión dedicada a maduración in vitro de ovocitos con la presencia de los Dres Renato Fanchin (Francia) y Ariel Ahumada (Argentina).

Dado que la asistencia estuvo determinada por las invitaciones cursadas por el auspiciante, no todos pudimos disfrutar de este evento. En un intento de acercarnos lo expuesto transcribimos el material presentado al menos por los colaboradores argentinos. Lo hicimos corregir por ellos mismos y se los presentaremos en los sucesivos números.

Esperamos que el material que publicamos, si bien no reemplaza exactamente al evento, les acerque las novedades que se presentaron. La imposibilidad de publicarlo antes se debió a compromisos con autores de trabajos de investigación presentados en SAMER y al tiempo necesario para procesar el material y hacerlo corregir por sus autores.

Los saluda afectuosamente,

Dra Claudia Rodari
Directora de Publicaciones

Técnicas quirúrgicas en preservación de la fertilidad

Guillermo Marconi

Ex-Presidente de SAMER. Miembro de la ASRM (*American Society for Reproductive Medicine*) ESHRE (*European Society for Human Reproduction and Embryology*), la Sociedad Uruguaya de Reproducción Humana, la Sociedad Chilena de Fertilidad, Ex-miembro de la Sociedad Argentina de Cirugía Laparoscópica, Ex-miembro del Comité Ejecutivo de la *International Federation of Fertility Societies* (IFFS) y del *Scientific Comitee* de la Federación Latinoamericana de Sociedades de Esterilidad y Fertilidad (FLASEF). Director del Instituto de Ginecología y Fertilidad de Buenos Aires (IFER), institución afiliada a la Escuela de Medicina de la Universidad de Buenos Aires.

Reproducción 2009;24:31-34

Objetivo

Proteger al tejido ovárico de la acción agresiva del tratamiento oncológico: radiológico y quimioterápico.

Con la ooforopexia se consigue que los ovarios queden por fuera del área de irradiación.

Mediante la criopreservación y el injerto ovárico se protege a la gónada de la acción deleté-

rea de la quimioterapia.

Ooforopexia

- El procedimiento se hace por vía laparoscópica.
- Tiene efectos secundarios adversos: dolor crónico pélvico, formación de adherencias, posibilidad de metástasis (rara).
- No permite evaluar la injuria ovárica ni el futuro reproductivo (Morice 2000).
- El ovario recibe entre un 5 a un 10% de la dosis radiactiva.
- Asociada a la criopreservación permitiría maximizar las opciones futuras en pacientes que reciben radiación pélvica (J Ryan Martin, Fert Steril 2007).
- De acuerdo a Tulandi y Al Took, la transposición ovárica en mujeres menores de 40 años está asociada a restauración de la función ovárica en el 88.6% de los casos (J Ryan Martin, Fert Steril 2007).

Criopreservación de tejido ovárico

- Es un procedimiento apropiado para pacientes que necesitan urgentemente tratamiento quimioterápico (Gosden 1996; Donnez 1998, 2000, 2005; Oktay 1998).
- Debe considerarse la única técnica aceptable para niñas premenárquicas y adolescentes (Maltaris T, et al; The effect of cancer treatment on female fertility and strategies for preserving fertility. Eur J Obst Gynecol & Rep Biol. REVIEW. 2006), (-Simon B, et al; Preserving fertility after cancer. CA Cancer J Clin 2005).
- Técnica rápida y fácil.
- Tiene el riesgo de implantar células tumorales en las leucemias, neuroblastomas y el tumor de Burkitt (Sonmerzer M, et al; Ovarian tissue cryo preservation: benefits and risks. Cell Tissue Res 2005); (Kim SS, et al; Fertility preservation in female cancer patients: current developments and future directions. Fert Steril 2006).
- Fundamento: los folículos primarios son más resistentes que los ovocitos maduros a la crioinjuria. Aparentemente por no tener el uso meiótico y presentar una zona pelúcida más dura protegerían la cromatina nuclear (Donnez, Lancet 2004:365; Meiorow, NEJM 2005:353; Oktay FS 2003:69).

Obtención de tejido ovárico

Método:

- Biopsias múltiples.
- Lonjas de corteza ovárica parcial o total.
- Ooforectomía.

Trasplante de ovario criopreservado

Opciones:

Posición ortotópica (Oktay 2000; Kim 2006):

- Corteza ovárica (Redford 2001).
- Fosa ovárica peritoneal cercana a los vasos ováricos (Donnez 2004; Meiorow 2004; Tryde 2004). En esta posición se lograron 2 nacidos vivos (Donnez 2004; Oktay 2004).

Posición heterotópica (Callejo 2001; Kiran 2004):

- Tejido celular subcutáneo en antebrazo, abdomen, peritoneo.

El trasplante de múltiples trozos pequeños de tejido ovárico parece ser el mejor método para la reposición porque permite la mejor entrada de crioprotector y permite un íntimo contacto con la circulación sanguínea circundante, lo cual evita los daños de la isquemia (Xiao-hui Deng, Hum Reprod 2007).

Conceptos sobre criopreservación de ovario

- ✓ Aumento significativo en la proporción de folículos en crecimiento (<20->70%), antes y después del injerto 7, 30 y 60 días más tarde (Baird 2004).
- ✓ Caída en el N° de folículos primordiales (50-60%) como consecuencia de la hipoxia y demora en la revascularización (Nisolle 2000).
- ✓ En ratones el sitio de implante afecta el N° y la calidad de los ovocitos recuperados (Yang 2005).
- ✓ La corteza ovárica puede tolerar isquemia por lo menos 3 horas a 4° C (Kim 2004).
- ✓ La presencia de neovascularización activa en el injerto se ve aproximadamente a los 7 días del implante (Israely 2006).
- ✓ Si el trasplante es hecho dentro de un tejido de granulación donde la angiogénesis está aumentada, se acorta el intervalo de isquemia que tanto afecta al tejido trasplantado (Israely 2006).

Conceptos sobre xenotrasplante

- ✓ Recipientes: ratones inmunodeficientes SCID

Simposio

(peritoneo, cápsula renal).

- ✓ Existe desarrollo folicular hasta estadio antral en cápsula renal (Oktay 1998).
- ✓ Obtención de ovocitos MII (Gook 2005).
- ✓ Formación de cuerpo lúteo normal y progesterona elevada (Kim 2002, Gook 2000).
- ✓ No se estableció que los ovocitos humanos obtenidos sean ultraestructuralmente normales y funcionalmente competentes (Donnez 2006).

Conceptos sobre trasplante ortotópico

- ✓ Existe desarrollo folicular con la estimulación gonadotrófica (Oktay 2000).
- ✓ En corteza ovárica congelada 7 años antes se observaron cambios en los niveles de FSH, LH y E2 5-9 meses después del injerto (Donnez 2004).
- ✓ Embarazo espontáneo 11 meses más tarde (Donnez 2004).
- ✓ Luego de un ciclo natural modificado -inducción leve con gonadotropinas- logró 1 ovocito, 1 embrión y embarazo (Meirow 2005).
- ✓ Schmidt en 2005 logró 3 ovocitos MII, 2 embriones, no embarazo.
- ✓ Demeestre en 2006 logró un embarazo espontáneo luego de implantar tejido ovárico en forma orto-heterotópico (combinado). En el heterotópico obtuvo muy pobre respuesta folicular, no así en el ortotópico.
- ✓ Folículos capaces de producir ovocitos maduros podrían observarse 4-6 meses luego del reimplante.
- ✓ Se observaron altas concentraciones de FSH (>25 mUI/ml) hasta el momento de la ovulación con una caída brusca luego de ella (menos <15 mUI/ml). Esto se justificaría por el bajo número de folículos sobrevivientes luego del trasplante.
- ✓ Se observaron altos niveles de Fsh (>35 mUI/ml) inmediatamente luego de la menstruación. Se cuestiona la ausencia de mecanismos inhibitorios como la inhibina y/o AMH en el tejido trasplantado.
- ✓ El 50% de los folículos primordiales se pierden debido a la hipoxia (Donnez 2006; Gougeon 1996).

Conceptos sobre trasplante heterotópico

Kim en 2004 logró restaurar la función endó-

crina a las 14 semanas posteriores al trasplante en los músculos recto y pectoral, sin embargo, a las 28 semanas se observó falla ovárica.

Oktay en 2004 colocó el injerto debajo de la piel abdominal, obtuvo 20 ovocitos, 1 embrión, no embarazo.

Wolner-Hansen en 2005 logró un pobre desarrollo folicular colocando el tejido en antebrazo, pero luego de 7 meses el injerto se atrofió.

La mayoría de los trabajos describen un pobre desarrollo folicular: como máximo se logró un tamaño de 15 mm (Dones 2006). La causa estaría relacionada con diferencias en la temperatura o en la presión que el tejido trasplantado sufre al estar tan superficial (Oktay 2004; Wolner - Hansen 2005).

Riesgo de metástasis ovárica de acuerdo al tipo de cáncer

Table 2. *The risk of ovarian metastasis according to cancer types.*

Cancers with low risk of ovarian involvement

Wilm's tumour
Ewing's sarcoma
Breast cancer
Stage I-III
Infiltrative ductal histological subtype
Non-Hodgkin's lymphoma
Hodgkin's lymphoma
Non-genital rhabdomyosarcoma
Osteogenic sarcoma
Squamous cell carcinoma of the cervix

Cancer with moderate risk of ovarian involvement

Adenocarcinoma/adenosquamous carcinoma of the cervix
Colon cancer
Breast cancer
Stage IV
Infiltrative lobular histological subtype

Cancers with high risk of ovarian involvement

Leukaemia
Neuroblastoma
Burkitt lymphoma

Chu et al, 1981; Wylid et al, 1983; Yada-Hashimoto et al, 2003.

La experiencia del IFER es de 27 pacientes con tejido ovárico criopreservado por diferentes causas oncológicas. Aún ninguna ha pedido su restitución.

En estudios experimentales que se realizaron en el IFER se ha visto que la calidad del tejido ovárico no se daña con la criopreservación en términos histológicos.

Aunque los resultados en términos de embarazo parecen tener un futuro promisorio, algunos autores sugieren:

1) Las tasas de embarazos no son suficientemente altas para implementar estas técnicas en forma rutinaria.

2) La Sociedad Americana de Medicina Reproductiva (ASRM) concluyó que por el momento ovocitos y tejido ovárico no deben ser ofrecidos como tratamiento o comercializados. (Stachecki 2004; Falcone 2004, ASRM 2004)

Fertilidad en pacientes con cáncer de mama

Jorge E Novelli

Profesor Titular de Ginecología, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires. Ex-presidente de la Sociedad Internacional de Senología; Miembro del Comité Científico de la Sociedad Internacional de Senología, Miembro Honorario de la Sociedad Argentina de Mastología, de la Sociedad Croata de Senología, de la Sociedad de Obstetricia y Ginecología de Buenos Aires, de la Sociedad de Obstetricia y Ginecología de la Provincia de Buenos Aires; Miembro Correspondiente Extranjero de la Sociedad Ginecotológica del Uruguay y del Centro Broca para la Investigación en Ginecología, Facultad de Medicina, Universidad de París, Francia. Ex-presidente de la Sociedad Argentina de Mastología, de la Sociedad de Obstetricia y Ginecología de Buenos Aires. Ex-profesor Titular de Ginecología, Facultad de Medicina, Universidad del Salvador y Universidad Favaloro. Buenos Aires, Argentina.

Reproducción 2009;24:34-36

El tratamiento del cáncer de mama se basa fundamentalmente en dos premisas:

a) *El control local de la enfermedad*, que se obtiene con la cirugía, ya sea ésta: 1) en forma conservadora donde la tumorectomía con información del estado axilar (linfadenectomía o investigación del ganglio centinela) es la práctica de elección corriente cuando el estadio tumoral lo permite, o 2) la ablación de la mama, entendiendo por ello la mastectomía radical oncológica o la adenomastectomía con ahorro de piel y la posibilidad de reconstrucción inmediata.

La mayoría de las veces es necesario indicar radioterapia local a fin de evitar las recidivas.

b) *El tratamiento sistémico* que se basa en la quimioterapia, la hormonoterapia (si el tumor se expresa como respondedor al tratamiento hormonal) y la más moderna terapia Molecular (dirigida a blancos específicos).

El tratamiento del cáncer de mama ha evolucionado en los últimos treinta años desde la concepción anatómica al conocimiento biológico a punto tal que prácticamente en todos los casos es lógico preguntarse: **quimioterapia**

¿cuándo no? - **hormonoterapia** ¿por qué no?

En base a estos conceptos, es la terapia sistémica la que puede comprometer la fertilidad, dada la toxicidad que presentan algunas drogas sobre las gónadas.

Dada la tendencia reflejada por estadísticas, según la cual los índices de fertilidad se han acrecentado en la última década en mujeres entre 35 y 40 años a cifras que duplican datos anteriores, y dado que el diagnóstico de cáncer de mama se observa en pacientes cada vez más jóvenes, esto hace que confluyan dos variables que justifican el análisis que nos proponemos.

- Cómo afecta la fertilidad la terapia sistémica.
- Embarazo luego del tratamiento del cáncer.
- Embarazo en el momento del diagnóstico.

Afectación de la fertilidad con el tratamiento sistémico

En un trabajo publicado en 2007 en el *American Journal of Clinical Oncology* por YL Tham y col, sobre un análisis retrospectivo de 191 pacientes menores de 50 años, las tasas de amenorrea inducidas por quimioterapia en base a doxorubicina

na y ciclofosfamida fue del 55%. Cuando se agregaron taxanos se elevó al 64%.

Los índices de amenorrea fueron más altos en mayores de 40 años (82%) que en menores de esa edad (55%). La reversibilidad espontánea del fenómeno se observó más frecuentemente en este último grupo de mujeres (40%) y no fue afectada por el agregado de taxanos.

En el mismo sentido un análisis publicado por SM Swain y col, en febrero de 2008 en *Breast Cancer Research and Treatment* como parte del protocolo NSABP B-30, demuestra que sobre 708 pacientes tratadas por cáncer de mama con el mismo esquema quimioterápico el 83% informó más de un episodio de amenorrea que duró, por lo menos, seis meses, siendo que el 43.5% de las menores de 40 años reanudó sus ciclos espontáneamente en un lapso de 24 meses.

En esa revista, en el mes de mayo de 2008, HS Han y col, publican un estudio de cohorte prospectivo sobre 122 pacientes premenopáusicas con diferentes esquemas de quimioterapia conteniendo antraciclinas, taxanos y tamoxifeno, concluyendo que los taxanos producen más amenorrea durante el primer año, que la edad de las mujeres y el tamoxifeno fueron determinantes en la persistencia de amenorrea y que los niveles séricos de estradiol y FSH se relacionaron con el *status* menstrual, la edad y el uso de tamoxifeno.

En base a estos y otros datos concordantes en distintas presentaciones, se puede concluir que la incidencia de la disfunción ovárica se relaciona con la edad de las pacientes, la droga utilizada (siendo la ciclofosfamida la más deletérea) y la dosis total administrada.

Entonces, si el embarazo es una opción viable para una paciente joven tratada por un cáncer de mama en estadios iniciales y dado que el tratamiento sistémico no parecería ser perjudicial para la madre o el feto, sería oportuno establecer parámetros de predicción de amenorrea en estas mujeres.

En 2005 en la reunión que anualmente se realiza en San Antonio, Texas, EE.UU, Carey Anders de la *Duke University* de Carolina del Norte presentó una comunicación sobre los niveles de Inhibina A en 30 pacientes antes y luego la quimioterapia, demostrando que los niveles bajos de Inhibina A previos al tratamiento sistémico dis-

minuyen dramáticamente las chances de fertilidad dada la alta tasa de amenorrea en ese grupo.

C Anders y col, publican en mayo de 2008 en *Cancer Investigation* sus resultados sobre un estudio prospectivo en 44 mujeres donde demuestran que niveles bajos de Inhibina B y Hormona Antimülleriana pre-quimioterapia pueden ser predictores de las tasas de amenorrea producidas por la quimioterapia.

Como estrategia para preservar al ovario del efecto deletéreo de la quimioterapia se ha propuesto la utilización de análogos de GnRH. Si bien no está dicha la última palabra al respecto, caben dos reflexiones:

- 1) Dado que los análogos crean un medio hormonal similar al estado pre-puberal y las niñas de esa edad no están protegidas contra los daños potenciales de la quimioterapia, el hipogonadismo no sería un recurso para preservar la fertilidad.
- 2) Desde el punto de vista oncológico, si fuera que la protección de los GnRH fuera dada vía reducción del flujo hemático, es razonable esperar el mismo efecto en otros órganos, inclusive en el tumor, resultando en una disminución de la efectividad de la droga.

Por lo antedicho, las estrategias para preservar la fertilidad deben plantearse en dos situaciones distintas:

- a) Si existe alto riesgo de compromiso ovárico o la quimioterapia no puede demorarse, sería aconsejable la criopreservación o vitrificación del tejido gonadal.
- b) Si el riesgo de compromiso ovárico fuera bajo o se pudieran instrumentar medios para demorar la quimioterapia, podría indicarse la preservación de ovocitos o embriones.

Algunas publicaciones recientes dan cuenta de estrategias para demorar brevemente el inicio del tratamiento sistémico con el empleo de inhibidores de aromatasas.

AA Azim y col, comparando el uso de Anastrozol o Letrozol para suprimir los niveles de estradiol bajo estimulación ovárica controlada, demostraron en 54 pacientes que ambas drogas fueron efectivas, aunque el Letrozol demostró niveles más bajos de la hormona, siendo remarcable que los objetivos en el tratamiento por fertilidad fueron similares.

K Oktay y A Hourvitz en un estudio prospectivo en 47 pacientes con cáncer de mama, combinando Letrozol con gonadotrofinas, demostraron que los niveles de estradiol fueron significativamente menores, necesitando un 44% menos de FSH que en un programa de fertilización asistida convencional.

En un estudio prospectivo de Azim y Oktay sobre 215 pacientes donde se utilizó el mismo esquema terapéutico (Letrozol más gonadotrofinas), se demostró que el inicio de la quimioterapia se demora un promedio de 12 días, por lo que se vislumbra una perspectiva importante en el objetivo de preservar la fertilidad en mujeres jóvenes con diagnóstico de cáncer de mama.

Es importante destacar que el laboratorio productor del Letrozol difundió un comunicado internacional con el objetivo de aclarar que la droga es de indicación para el tratamiento del cáncer de mama hormonodependiente en mujeres postmenopáusicas, contraindicando su utilización durante el embarazo y la lactancia por las consecuencias potenciales de malformaciones del aparato locomotor, anomalías cardíacas y bajo peso al nacer (*Miranda Hitti-WebMDHealth News*, Nov 30, 2005).

Embarazo luego del tratamiento del cáncer

La evolución del cáncer de mama es independiente de la ocurrencia de un embarazo, pero dado que en los tratamientos conservadores de la glándula la probabilidad de recidiva o eventualmente persistencia tumoral no detectable con los métodos habituales es marcadamente más acentuada en los dos años que suceden al tratamiento primario, se desaconseja el embarazo durante ese lapso de tiempo para no entorpecer el seguimiento y eventual tratamiento de rescate.

Embarazo en el momento del diagnóstico

Sólo el 31% de las mujeres embarazadas presentan tumores menores a los 2 cm. Esto se debe a la demora en detectar una masa mamaria por parte de la paciente y fundamentalmente a la omisión por parte del médico del examen mamario en las consultas habituales durante la gestación.

Ambas circunstancias dan como resultado que existe mayor proporción de diagnósticos en estadios avanzados, lo que clásicamente hizo sospechar por error que el embarazo empeora el pronóstico.

De hecho, el porvenir es idéntico si se comparan estadios y edad con pacientes no embarazadas. Interrumpir el embarazo no ha demostrado ningún efecto beneficioso en el resultado del tratamiento y, por lo tanto, no debe ser considerado como una opción terapéutica.

Conclusiones

- Por medio de campañas de concientización y *screening* se diagnosticarán, y de hecho sucede, cánceres de mama en mujeres cada vez más jóvenes.
- De acuerdo a los resultados obtenidos con los tratamientos indicados en la actualidad, la mayoría de las pacientes con diagnóstico de cáncer de mama en estadios iniciales tiene un excelente pronóstico a largo plazo.
- La falla ovárica permanente o prematura es consecuencia de la quimioterapia adyuvante, cuyo exacto mecanismo no ha sido determinado, aunque estudios preclínicos, no confirmados en el ser humano, sugieren que se produce como consecuencia de una serie de cambios apoptóticos en células de la pre-granulosa que subsecuentemente se traducen en una pérdida de folículos.
- La tasa de amenorrea, más alta a mayor edad de las mujeres, puede deberse al menor número relativo de ovocitos.
- Los ovarios post-quimioterapia muestran fibrosis y cambios similares a los observados en la menopausia natural.
- El daño citotóxico parece ser progresivo e irreversible.
- Toda paciente que ingrese en un programa de fertilidad debe hacerlo antes del tratamiento sistémico de su cáncer de mama.