

Chapter 9

Nederlandse samenvatting

Dit proefschrift is het resultaat van het promotieonderzoek van H.E. Peters, met de naar het Nederlands vertaalde titel: 'Intra-uteriene uitwisseling: chimerisme en hormonen'.

In dit proefschrift heb ik onder andere onderzoek gedaan naar een mogelijke oorzaak van het Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser (MRKH) syndroom. Het MRKH-syndroom is een aangeboren aandoening bij vrouwen waarbij de baarmoeder en het bovenste gedeelte van de vagina (van de schede) niet is aangelegd. Het is onbekend waardoor dit wordt veroorzaakt. In koeien bestaat er een zelfde soort aandoening, deze koeien worden ook zonder baarmoeder geboren. Zo'n koe wordt een 'kwee' genoemd, in het Engels een 'freemartin'. Deze koeien worden meestal samen geboren met een tweelingbroer. Bij twee-eiige tweelingparen in koeien bestaat er vaak een gedeelde placenta (de moederkoek) met vaatverbindingen, waarbij er bloeditwisseling tussen de tweeling kan plaatsvinden. In de mannelijke stier-embryo wordt al vroeg in de zwangerschap het anti-Müller hormoon (AMH) geproduceerd door de testes van de stier. Dit hormoon zorgt ervoor dat tijdens de embryonale ontwikkeling de buis van Müller in regressie gaat. Dit zorgt ervoor dat de stier, zoals gebruikelijk, zonder baarmoeder wordt geboren. Echter de bloeditwisseling via de placenta zorgt ervoor dat het hormoon AMH kan worden overgedragen naar de vrouwelijke koe-embryo. Blootstelling aan dit hormoon zorgt ervoor dat er in de koe geen baarmoeder en geen vagina wordt aangelegd. Naast de uitwisseling van AMH worden ook stamcellen uitgewisseld via het bloed, dit leidt tot *chimerisme* in deze koeien. Chimerisme betekent dat er een genetisch aparte cellijn te vinden is naast het eigen genetische materiaal. Freemartin-koeien hebben naast de vrouwelijke XX cellijn, ook mannelijke XY-cellen in hun bloed. In dit proefschrift heb ik onderzocht of het 'Freemartin-effect' aanwezig is bij mensen. Onze hypothese was dat de baarmoederontwikkeling bij het MRKH syndroom op dezelfde manier wordt geremd door blootstelling aan AMH tijdens de embryonale ontwikkeling.

In deel één van dit proefschrift hebben we de aanwezigheid van chimerisme, in het bijzonder als gevolg van een tweelingzwangerschap, bij mensen geëvalueerd. In **hoofdstuk 2** wordt een systematisch overzicht gegeven van alle twee-eiige tweelingen met een gedeelde placenta die in de wetenschappelijke literatuur gerapporteerd zijn in mensen. In principe was bij mensen lange tijd het idee dat twee-eiige tweelingen altijd twee aparte placenta's hebben en dat tweelingen met één gedeelde placenta dus altijd identieke tweelingen moeten zijn (in tegenstelling tot bij koeien). Het is belangrijk om te bedenken dat er als gevolg van een gedeelde placenta in de baarmoeder bloeditwisseling mogelijk is tussen de tweeling, en bij twee aparte placenta's in principe niet. In ons literatuuroverzicht rapporteren we 31 twee-eiige tweelingparen mét een gedeelde placenta. In 90% van deze tweelingen was er sprake van chimerisme. Een groot gedeelte van deze tweelingen waren van verschillend geslacht, en in 15% van deze tweelingparen werd er een genitale afwijking gevonden bij één van de tweeling. Dit zou verband kunnen houden met uitwisseling van hormonen via de placenta. Er wordt aanbevolen dat hier aandacht voor moet zijn bij chimerische tweelingen. Ook laten we zien dat geassisteerde voortplantingstechnieken (zoals een IVF-behandeling) in 82% ten grondslag lagen aan het ontstaan van deze tweelingzwangerschappen. Hoewel de precieze oorzaak niet duidelijk

is, worden geassisteerde voorplantingstechnieken beschreven als risicofactor. De exacte prevalentie van dit soort tweelingzwangerschappen is niet duidelijk. Echter blijkt uit ons review dat deze tweelingen meestal per toeval worden ontdekt en er kan worden gesteld dat het vaker voorkomt dan tot nu toe werd aangenomen. Bewustzijn van dit zeldzame type tweelingzwangerschap en het resulterende chimerisme is essentieel tijdens de beoordeling van prenatale testen en zwangerschapscomplicaties bij tweelingen.

Microchimerisme is de term die gebruikt wordt indien er een kleine hoeveelheid chimerische cellen aanwezig is. Dit kan verschillende bronnen hebben, bijvoorbeeld door uitwisseling van bloed tijdens de zwangerschap, van moeder naar foetus en andersom. Ook een tweelingbroer of zus, een oudere broer of zus of miskramen worden verondersteld mogelijke bronnen voor microchimerisme te zijn. De aanwezigheid van een kleine hoeveelheid mannelijke cellen in vrouwelijk bloed wordt mannelijk microchimerisme genoemd. Dit is voornamelijk bestudeerd bij vrouwen die zwanger zijn geweest van een jongen. In **hoofdstuk 3** hebben wij mannelijk microchimerisme bestudeerd bij vrouwelijke tweelingen met een tweelingbroer of een tweelingzus, hun eenling zussen en hun moeders. We hebben onderzocht of een tweelingbroer een bron is voor mannelijke chimerische cellen. Met deze studie konden we ook verschillende mechanismen voor het ontstaan van microchimerisme onderzoeken (bijvoorbeeld het hebben van zonen of oudere broers en genetica). De deelnemers aan dit onderzoek waren afkomstig van de Nederlands Tweeling Register (NTR). De studie omvatte 446 volwassen vrouwen met een gemiddelde leeftijd van 34 jaar: 62 vrouwen met een (twee-eiige) tweelingbroer, 68 vrouwen met een twee-eiige tweelingzus, 80 vrouwen met een eeneiige tweelingzus, 130 eenling zussen en 106 moeders. Van alle proefpersonen werd DNA uit bloed getest op de aanwezigheid van mannelijk microchimerisme. Hiervoor werd een kwantitatieve PCR-methode uitgevoerd gebruikmakend van een Y-chromosomale marker (DYS14).

We vonden een prevalentie van mannelijk microchimerisme van 26.9% in de hele groep vrouwen. Van de vrouwen met een twee-eiige tweelingbroer was 27.4% positief voor mannelijk microchimerisme, vergeleken met 23.5% van de vrouwen met een twee-eiige tweelingzus ($P = 0.61$). De prevalentie was 16.3% in vrouwen van eeneiige tweelingparen, en 25.3% in de eenling zussen. De prevalentie was het hoogst bij de moeders van een tweeling (38.7%). Leeftijd had een positieve relatie met de aanwezigheid van mannelijk microchimerisme. De prevalentie van mannelijk microchimerisme werd niet verklaard door het hebben van een zoon of een oudere broer. Er kan dus geconcludeerd worden dat, ondanks de directe aanwezigheid van een mannelijke foetus in de baarmoeder, vrouwen met een tweelingbroer een vergelijkbare prevalentie van mannelijk microchimerisme hebben in vergelijking met vrouwen met een tweelingzus of hun eenling zussen. Dit impliceert dat de aanwezigheid van een tweelingbroer het risico op mannelijk microchimerisme niet verhoogt. Ook tonen deze bevindingen een hoge prevalentie van mannelijk microchimerisme aan bij volwassen vrouwen, die prominenter is naarmate ze ouder worden, maar niet verklaard wordt door de aanwezigheid van broers of zonen, wat de noodzaak van verder onderzoek naar de oorsprong van microchimerisme benadrukt.

In het tweede deel van dit proefschrift heb ik onze hypothese over het ontstaan van het MRKH-syndroom bestudeerd. We hebben onderzocht of intra-uteriene bloeditwisseling met een tweelingbroer (mogelijk een 'vanished twin') de regressie van de buis van Müller heeft veroorzaakt door blootstelling aan AMH. De term 'vanished twin' wordt gebruikt om een zwangerschap te beschrijven die is begonnen als tweelingzwangerschap, waarbij er uiteindelijk toch een eenling geboren wordt doordat er een miskraam optreedt bij één foetus, meestal in het eerste trimester. In **hoofdstuk 4** hebben we de resultaten beschreven van een observationele case-control studie waarin

we de aanwezigheid van mannelijk microchimerisme bij vrouwen met MRKH-syndroom en controlevrouwen hebben vergeleken. Het mannelijk microchimerisme wordt gebruikt als bewijs van foetale blootstelling aan mannelijk bloed (eventueel afkomstig van een tweelingbroer). Via de Nederlandse patiëntenvereniging van vrouwen met MRKH hebben we de vrouwen gevonden voor deelname in de MRKH groep. De controlegroep bestond uit vrouwen die zich vrijwillig hadden aangemeld om deel te nemen aan een eerdere studie in ons ziekenhuis, en hadden gerapporteerd nooit zwanger te zijn geweest. Bij alle vrouwen werd er DNA verkregen uit bloed. Mannelijk microchimerisme werd onderzocht met een kwantitatieve PCR-methode, gebruikmakend van een Y-chromosomale marker (DYS14). De studie omvatte 194 vrouwen: 95 vrouwen met het MRKH-syndroom, met een gemiddelde leeftijd van 41 jaar, en 99 controle vrouwen, met een gemiddelde leeftijd van 30 jaar. De prevalentie van mannelijk microchimerisme was significant hoger in de controlegroep dan in de MRKH-groep (17.2% versus 5.3%, $P = 0.009$).

Afwezigheid van mannelijk microchimerisme bij vrouwen met het MRKH-syndroom ondersteunt niet onze hypothese, dat intra-uteriene bloeditwisseling met een (verdwenen) tweelingbroer de verklaring is voor het ontstaan van dit syndroom. Het onverwacht gevonden hoge percentage microchimerisme in de controlegroep, kan erop wijzen dat een aanzienlijk deel van het microchimerisme kan worden verklaard door andere bronnen, zoals niet-herkende zwangerschappen of het opslaan van microchimere cellen na geslachtsgemeenschap.

In **hoofdstuk 5** veronderstelden we dat mannelijke hormonen mogelijk aanwezig waren in de vroege embryonale ontwikkeling bij het MRKH-syndroom. We hebben twee biomarkers van prenatale blootstelling aan androgenen onderzocht: de meting van de anogenitale afstand (AGD) en de verhouding tussen de lengte van de wijs- en ringvinger (2D: 4D ratio). Eerdere resultaten van een langere AGD bij vrouwen met polycysteus ovariumsyndroom (PCOS) hebben bijgedragen aan het idee dat PCOS een intra-uteriene oorsprong heeft en mogelijk wordt beïnvloed door prenatale blootstelling aan androgenen. Bij vrouwen met ernstige endometriose is juist het tegenovergestelde beschreven, de aanwezigheid van een kortere AGD zou de prenatale oestrogene invloed weerspiegelen. We voerden een observationele case-control studie uit waarbij in totaal 172 vrouwen werden geïnccludeerd: 43 vrouwen met MRKH-syndroom, 43 vrouwen met PCOS, 43 vrouwen met endometriose en 43 vrouwen in de controlegroep. De anogenitale afstand werd gemeten van de anus tot de clitoris (AGDac) en van de anus tot de commissura posterior (AGDaf). Voor de 2D:4D ratio hebben we een directe meting met liniaal en een computer-meting gebruikt om de lengte van de wijs- en ringvinger te meten. Onze onderzoeksresultaten laten zien dat bij vrouwen met het MRKH-syndroom de AGDaf significant langer is in vergelijking met de andere drie groepen. De andere biomarkers vertoonden geen associatie met MRKH. Dit laat enig bewijs zien voor prenatale blootstelling aan androgenen bij het MRKH-syndroom. De AGDac was het kortste in vrouwen met endometriose en het langste bij vrouwen met PCOS. Dit volgt de bestaande literatuur en suggereert een prenatale androgene omgeving in PCOS en een prenatale oestrogene omgeving bij endometriose. Voor de 2D: 4D-ratio werden geen associaties gevonden.

In het derde deel van dit proefschrift beschrijf ik de therapeutische mogelijkheden voor het krijgen van kinderen voor vrouwen met het MRKH-syndroom. **Hoofdstuk 6** rapporteert over de hoogtechnologisch-draagmoederschap (HTDM) behandelingen in het VU medisch centrum over een periode van 10 jaar. Deze behandeling houdt in dat er een IVF behandeling wordt uitgevoerd bij de beoogde moeder, waarbij er eicellen worden verkregen die buiten het lichaam worden bevrucht met zaadcellen van de vader. Het resulterende embryo wordt geplaatst in de baarmoeder van een

draagmoeder. Verschillende medische aandoeningen kunnen leiden tot de noodzaak van deze behandeling, zoals aangeboren (MRKH) of verworven (na een operatie) afwezigheid van de baarmoeder, een ernstige medische aandoening die een contra-indicatie is voor een zwangerschap of een niet-functionerende baarmoeder. Door de wetgeving in Nederland zijn de beoogde ouders zelf verantwoordelijk voor het vinden van een geschikte draagmoeder (bijvoorbeeld een zus of een vriendin), die gezond is en zelf een zwangerschap en vaginale bevalling heeft doorgemaakt die zonder grote problemen is verlopen. De HTDM-behandeling is maar in een aantal Europese landen wettelijk toegestaan. Van 2006 tot en met maart 2017 was het VU medisch centrum in Amsterdam het enige ziekenhuis in Nederland dat deze HTDM behandelingen uitvoerde. Wij hebben de uitkomsten van al deze HTDM behandelingen onderzocht.

Na een uitgebreide medische en psychologische screening zijn er in deze periode 60 wensouders gestart met de behandeling, met 63 draagmoeders (3 ouders hadden verschillende draagmoeders). In deze groep zijn er 93 IVF behandelingen gestart, en hebben er 184 embryo-terugplaatsingen plaatsgevonden. Er zijn 34 kinderen geboren, waarbij 55.0% van de koppels die aan deze behandeling begon, ten minste één baby kreeg. In 26% van de zwangerschappen bleek de draagmoeder een hoge bloeddruk te hebben ontwikkeld aan het einde van de zwangerschap, waardoor de bevalling moest worden ingeleid. Geen van de zwangerschappen werd gecompliceerd door vroeggeboorte. Daarnaast had 23.5% van de draagmoeders ruim bloedverlies (>500ml) na de bevalling, in de meeste gevallen was hier geen bloedtransfusie of extra operatie voor nodig. 8.8% draagmoeders zijn bevallen met een keizersnede. In dit onderzoek laten we zien dat, met behulp van een uitgebreide intakeprocedure in ons centrum inclusief medische en psychologische beoordeling, de HTDM behandeling in Nederland goede resultaten geeft. Er is wel een iets verhoogd risico op complicaties tijdens de zwangerschap en bevalling. Dit vereist goede counseling tijdens de intakeprocedure en zorgvuldige begeleiding tijdens de zwangerschap en bevalling.

In **hoofdstuk 7** beschrijven wij een haalbaarheidsonderzoek naar de baarmoedertransplantatie. Deze behandeling wordt momenteel wereldwijd onderzocht. De procedure houdt in dat een baarmoeder van een hersendode donor of een levende donor (bijvoorbeeld van een familielid) operatief wordt verwijderd en getransplanteerd. Zweden begon meer dan 20 jaar geleden met experimentele baarmoedertransplantaties bij muizen en ontwikkelde deze techniek tot een succesvolle behandeling, waarbij de eerste baby in 2014 werd geboren uit een getransplanteerde baarmoeder. Circa vijf jaar nadien zijn er wereldwijd 19 kinderen gerapporteerd in de medische literatuur die geboren zijn na baarmoedertransplantatie. In Nederland is deze behandeling nog nooit uitgevoerd. We hebben een onderzoek uitgevoerd om de ethische, medische en financiële ondersteuning voor deze procedure te onderzoeken in het Amsterdam UMC, locatie VUmc. Ook hebben we, in samenwerking met de patiëntenvereniging, vrouwen met het MRKH-syndroom gevraagd een vragenlijst in te vullen over deze experimentele behandeling. Hieruit blijkt dat de meerderheid (64.8%) van deze vrouwen positief staat tegenover een baarmoedertransplantatie met levende donor, en bijna 70% van deze vrouwen wisten zelfs al een potentiële donor die haar baarmoeder zou willen afstaan. Om de haalbaarheid van de procedure te onderzoeken bespraken we de ethische principes, de chirurgische risico's en de financiële aspecten van de procedure. Het omvat twee complexe operaties met nog onbekende gevolgen voor het ongebooren kind. De kosten zijn rond de €100.000 en worden niet vergoed door een ziektekostenverzekering. Deze 'niet-levensreddende transplantatie' vereist een zorgvuldige afweging van risico's en voordelen. Bovendien zijn er in Nederland alternatieven voor het krijgen van kinderen, zoals adoptie of draagmoederschap. We hebben geconcludeerd dat het op dit moment niet haalbaar

is om de procedure van een baarmoedertransplantatie in ons ziekenhuis uit te voeren. We blijven de ontwikkelingen volgen en evalueren de haalbaarheid in de toekomst opnieuw.

In **hoofdstuk 8** van dit proefschrift worden alle resultaten bediscussieerd. Het onderzoek beschreven in dit proefschrift is begonnen met onze 'Freemartin'-hypothese over het ontstaan van het MRKH-syndroom. De beschreven langere anogenitale afstand bij vrouwen met MRKH biedt enige ondersteuning voor onze algemene hypothese dat dit syndroom mogelijk is ontstaan door overmatige blootstelling aan AMH, samen met androgenen, vroeg in de embryonale ontwikkeling. De meeste resultaten van onze studies ondersteunen onze hypothese over AMH-overdracht van een tweelingbroer echter niet. Dit betekent dat we slechts beperkt bewijs hebben gevonden voor het Freemartin-effect bij het MRKH-syndroom. Ook laten we zien dat mannelijk microchimerisme even vaak voorkomt in vrouwen met een tweelingbroer, vergeleken met vrouwen met een tweelingzus of vergeleken met hun eenling zussen, wat impliceert dat de prevalentie van tweeling-chimerisme bij mensen laag is. Echter de prevalentie van microchimerisme in een algemene populatie is ongeveer 25%. Deze hoge prevalentie onderstreept de noodzaak van verder onderzoek naar de oorsprong en mogelijke bronnen van microchimerisme.

Tijdens de begeleiding van vrouwen met het MRKH-syndroom speelt een kinderwens een belangrijke rol. Op dit moment kunnen MRKH-vrouwen in Nederland alleen hun eigen biologische kinderen krijgen door hoogtechnologisch draagmoederschap. Een belangrijke hindernis bij deze behandeling is dat de MRKH vrouw zelf verantwoordelijk is voor het vinden van een draagmoeder. Recent is er een voorstel gedaan voor een nieuwe wet waarin er een bemiddeling mogelijk is tussen wensouders en draagmoeders. Dit kan de behandeling voor een breder publiek toegankelijk maken. Daarnaast is de nieuwe techniek van baarmoedertransplantatie een baanbrekende chirurgische techniek. Wij geloven dat internationale samenwerking met meer ervaren klinieken mogelijk ook Nederlandse vrouwen toegang zou kunnen geven. Het is belangrijk om te beseffen dat deze techniek nog steeds wordt onderzocht en niet kan worden beschouwd als reguliere vruchtbaarheidsbehandeling. Bovendien spelen de ethische aspecten een belangrijke rol, welke mogelijk zullen veranderen bij de ontwikkeling en vooruitgang van de techniek.