

# Revista de la Sociedad Argentina de Endocrinología Ginecológica y Reproductiva

AFILIADA A LA INTERNATIONAL SOCIETY OF GYNECOLOGICAL ENDOCRINOLOGY (ISGE)  
y a LA ASOCIACIÓN LATINOAMERICANA DE ENDOCRINOLOGÍA GINECOLÓGICA (ALEG)

VOLUMEN XX - NÚMERO 2 - AGOSTO DE 2013 - www.sae gre.org.ar - sae gre@sae gre.org.ar



SAEGRE

## COMISIÓN DIRECTIVA 2012-2013

*Presidenta*

*Dra. Nora Moses*

*Vicepresidente*

*Dr. Damián Branca*

*Secretario*

*Dr. Gabriel Fiszbajn*

*Prosecretaria*

*Dra. Doris Rodríguez Vidal*

*Tesorera*

*Dra. Laura Mittelberg*

*Protesorera*

*Dra. Cecilia Fenili*

*Vocales Titulares*

*Dra. Sandra Demayo*

*Dra. Adriana Monastero*

*Dra. Roxana Reynoso*

*Dra. Viviana Mesch*

*Vocales Suplentes*

*Dra. Alejandra Calamari*

*Dra. Florencia Salort*

*Dra. Martina Carro*

*Dra. Liliana Galluzzo*

## COMITÉ CIENTÍFICO

*Presidenta*

*Dra. Susana Kopelman*

*Secretaria*

*Dra. Sandra Demayo*

*Integrantes*

*Dr. Sebastián Gogorza*

*Dra. Inés de la Parra*

*Dra. Marta Cortelezzi*

*Dr. Héctor Miechi*

*Dr. Carlos Nagle*

*Dr. Manuel Nölting*

*Dr. Claudio Chillik*

*Dra. Susana Pilnik*

*Dra. Cecilia Fenili*

*Dra. Claudia Peyrallo*

*Dra. Teresa Nofal*

## COMITÉ EDITORIAL

*Director de Publicaciones*

*Dra. Alicia Jawerbaum*

*Subdirector*

*Dra. Claudia Peyrallo*

*Colaboradores*

*Dra. Rosa Inés Barañao*

*Dr. Gabriel Faraj*

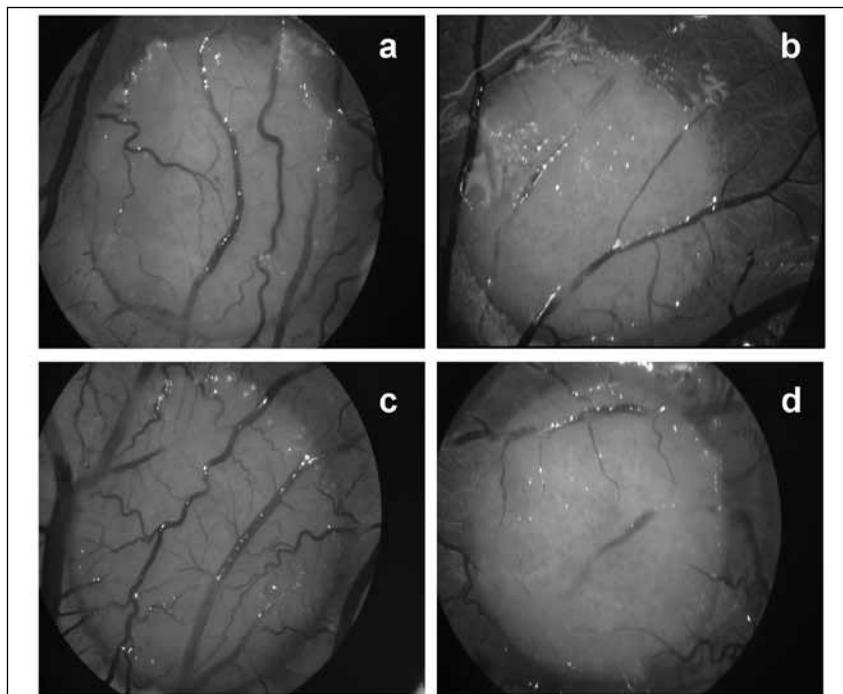
*Dra. Adriana Monastero*

*Dra. Jimena Soutelo*

*Dra. Roxana Reynoso*

*Dr. Germán Van Thillo*

## Tapa



Membrana corionantoide de codorniz incubada con (a) fluido folicular de paciente normal; (b) fluido folicular de paciente normal + anticuerpo anti angiopoyetina 1; (c) fluido folicular de paciente con alto riesgo de síndrome de hiperestimulación ovárica; (d) fluido folicular de paciente con alto riesgo de síndrome de hiperestimulación ovárica + anticuerpo anti angiopoyetina 1. Autor: Lic. Leopoldina Scotti

## SUBCOMISIONES 2013

### Comisión Revisora de Cuentas

#### Titulares

Dr. Fabián Gómez Giglio  
Dra. María Belén Pérez Lana  
Dra. Claudia Peyrallo  
Suplentes  
Dra. Marisa Geller  
Dra. María Eugenia Miranda  
Dra. Silvia Morelli

### Consejo Académico

#### Presidente

Dr. Manuel Nölting  
Integrantes  
Dr. Sebastián Gogorza  
Dr. Antonio Tempone  
Dr. Héctor Miechi  
Dr. Carlos Allami  
Dr. Claudio Chillik  
Dra. Inés de la Parra  
Dra. Marta Cortelezzi

### Informática

#### Coordinadora

Dra. Sandra Demayo  
Colaboradoras  
Dra. Laura Mitelberg  
Dra. Viviana Mesch  
Dra. Susana Pilnik  
Dra. Claudia Peyrallo  
Dra. Florencia Salort  
Dra. Valeria Servetti  
Dra. Marina Gelin

### Relaciones Institucionales y Prensa

#### Coordinadores

Dr. Damián Branca  
Dra. Dora Daldevich  
Colaboradores  
Dr. José Curto  
Dra. Irene Dall'Agnoletta  
Dr. Gabriel Faraj  
Dra. Lidia D'amato  
Dra. Viviana Mesch

### Docencia e Investigación

#### Coordinadores

Dra. Inés de la Parra  
Dr. Carlos Nagle

#### Investigación

Dra. Marta Cortelezzi  
Dr. Claudio Chillik

### Programa Nacional de Formación Superior y Educación Continua

#### Director

Dr. Carlos Allami

#### Integrantes

Dra. Nora Moses

Dra. Marta Cortelezzi

Dr. Héctor Miechi  
Dr. Gabriel Fisz bajn  
Dra. Roxana Reynoso  
Dra. Mabel Martino  
Dr. Antonio Martínez  
Dra. María Teresa Nofal  
Dr. Gabriel Faraj  
Dr. Sebastián Gogorza  
Dra. Silvia Oizerovich  
Dra. Claudia Firpo  
Dra. Graciela Galiana  
Dra. Marisa Geller  
Dra. Susana Kopelman

### Coordinadores de Cursos y Jornadas

Dr. Domingo Mugnolo  
Dra. María Alejandra Belardo  
Dra. Jimena Soutelo  
Dr. Fabián Gómez Giglio  
Dra. Claudia Firpo  
Dr. Benjamín Montenegro  
Dra. Cecilia Fenili  
Dra. Laura Mitelberg  
Dra. Fabiana Sayegh  
Dr. Ricardo Cuevas  
Dra. Paula Martínez  
Dra. Claudia Peyrallo  
Dra. Ana Herrera  
Dr. Juan Aguilera  
Dr. Natalio Kuperman

### Directores de Cursos

#### CURSO SUPERIOR PARAGUAY

Por SAEGRE

Dra. Nora Moses  
Dra. Doris Rodríguez Vidal

Por Cegip

Dr. Miguel Ruoti  
Dra. Fanny Corrales

#### CURSO DE ESPECIALIZACIÓN BUENOS AIRES

Dra. Susana Kopelman  
Dra. Claudia Peyrallo  
Dra. Claudia Firpo

#### CURSO DE ESPECIALIZACIÓN CÓRDOBA

Dr. Natalio Kuperman  
Dra. Mónica Nañez  
Dr. Domingo Mugnolo

#### CURSO DE ESPECIALIZACIÓN ROSARIO

Dra. Patricia Perfumo  
Dra. Mabel Martino

### Comité de Certificación y Recertificación

Dr. Manuel Nölting  
Dr. Héctor Miechi  
Dr. Claudio Chillik  
Dra. Graciela Lewitan  
Dra. Roxana Reynoso  
Dr. Gabriel Faraj

### Investigación

#### Coordinadores

Dra. Marta Cortelezzi  
Dr. Claudio Chillik

### Comité de Ética Independiente

#### Integrantes

Dr. Héctor Miechi  
Dr. Enrique Gadaw  
Dr. Eduardo Gago

### Delegado ante la International Society of Gynecological Endocrinology

Dr. Héctor Miechi

### Seguimiento y Contacto con el Socio

#### Coordinadora

Dra. Susana Pilnik

### Coordinación de Filiales

Dr. Damián Branca

#### Filial SUR

Director: Dr. Sergio García Ercoli

#### Filial NOA

Director: Dr. Juan José Aguilera

#### Filial Litoral

Directores: Dra. Irma Re

Dr. Sergio Ghersevich

#### Filial Cuyo

Directora: Dra. Fabiana Sayegh

#### Filial Córdoba – Centro

Director: Dr. Natalio Kuperman

### Normalización de Conductas Médicas y Bioquímicas

#### Directoras

Dra. Marta Cortelezzi  
Dra. María Alejandra Belardo  
Bioquímicos

Dra. Verónica Amaral

Dra. Laura Boero

Dra. Cecilia Fenili

Dra. Elsa Filgueira

Dra. María Rosa Mongitore

Dr. Guillermo Rossi

Dra. Mónica Saavedra

Dra. Isabel Teres

Dra. Viviana Mesch

Dra. Graciela Galiana

#### Médicos

Dra. Silvia Ciamartori

Dr. Gabriel Faraj

Dra. Gladys Fernández

Dra. Graciela Lewitan

Dra. Laura Mitelberg

Dra. Claudia Peyrallo

Dra. Susana Pilnik

Dra. Doris Rodríguez Vidal

Dra. Silvia Oizerovich

Dr. Domingo Mugnolo

**SECRETARÍA:** Viamonte 2660 6° "D"  
Ciudad Autónoma de Buenos Aires  
(1056) - Telefax: 4961-0290  
saegre@arnetbiz.com.ar-web: www.saegre.org.ar



GRÁFICA LATINA

Diseño, Composición e Impresión: Gráfica Latina S.A.  
Av. de los Constituyentes 3423 - Ciudad Autónoma de Buenos Aires  
Tel: 4522-7888  
info@graficalatina.com.ar / www.graficalatina.com.ar

2003 Sociedad Argentina de Endocrinología Ginecológica y Reproductiva

ISSN 5053701. Propietario: Sociedad Argentina de Endocrinología Ginecológica y Reproductiva

Dirección Nacional del Derecho del Autor: N° 687222. SAEGRE no se responsabiliza por las opiniones vertidas por los autores

Esta publicación ha sido seleccionada y será indizada para la base de datos LILACS - Literatura Latinoamericana en Ciencias de la Salud de publicaciones científicas y la base de datos BINACIS - Bibliografía Nacional en Ciencias de la Salud de Argentina. Estas bases de datos están accesibles desde el sitio de la Biblioteca Virtual en Salud de Argentina en <http://www.bvs.org.ar> y a nivel regional en el sitio <http://www.bireme.br>

# Índice

---

## Actualización

- Técnicas experimentales para el estudio de la angiogénesis en enfermedades reproductivas femeninas 5  
*Leopoldina Scotti, Dalbia Abramovich, Griselda Irusta, Camila Pazos, Natalia Pascuali, Luis Haro Durand, Ignacio de Zúñiga, Marta Tesone y Fernanda Parborell*
- La obesidad materna y la programación del fenotipo obeso 15  
*María Belén Mazzucco y Verónica White*

## Revisión

- Alteraciones inmunológicas en endometriosis 24  
*Rosa Inés Barañao*
- Tiroiditis posparto 44  
*Marina Gelin, Alejandra Belardo y Paola García*
- El estrés prenatal como probable factor predisponente de enfermedades en el adulto  
*Claudia Vélez*

## Análisis crítico por expertos de trabajos seleccionados

- Correlación entre tres ensayos para la determinación de hormona antimülleriana 48  
*J Assist Reprod Genet. 2012;29:1443-1446.*  
**Comentarios:** *Patricia Otero, Cecilia Zylbersztein y Ana María Sequera*

## Novedades bibliográficas

- Resultados preliminares del primer trasplante humano de útero de una donante multiórgano 52  
*Fertility and Sterility. 2013;99(2):470-476.*
- Comparación de la detección de la pubertad normal en niñas mediante test hormonal nocturno y test de agonista de la hormona liberadora de gonadotrofinas 53  
*J Clin Endocrinol Metab. 2013;98(4):1591-601.*

- Calendario de eventos** 54
- Reglamento de publicaciones** 55

## Index

---

### Updates

*Experimental techniques for the study of angiogenesis in female reproductive diseases* 5  
Leopoldina Scotti, Dalbia Abramovich, Griselda Irusta, Camila Pazos,  
Natalia Pascuali, Luis Haro Durand, Ignacio de Zúñiga, Marta Tesone and  
Fernanda Parborell

*Maternal obesity and the programming of the obese phenotype* 15  
María Belén Mazzucco and Verónica White

### Review

*Immunological abnormalities in endometriosis* 24  
Rosa Inés Barañao

*Postpartum thyroiditis* 44  
Marina Gelin, Alejandra Belardo and Paola García

### Critical analysis of selected articles: experts' opinions

*Correlation between three assay system for anti-Müllerian hormone (AMH) determination* 48  
*J Assist Reprod Genet.* 2012;29:1443-1446.  
**Comments:** Patricia Otero, Cecilia Zylbersztein and Ana María Sequera

### Novel articles

*Preliminary results of the first human uterus transplantation from a multiorgan donor* 52  
*Fertility and Sterility.* 2013;99(2):470-476.

*Comparison of detection of normal puberty in girls by a hormonal sleep test and a gonadotropin-releasing hormone agonist test* 53  
*J Clin Endocrinol Metab.* 2013;98(4):1591-601.

**Upcoming events** 54

**Instructions for authors** 55

## Actualizaciones

### Técnicas experimentales para el estudio de la angiogénesis en enfermedades reproductivas femeninas

*Experimental techniques for the study of angiogenesis in female reproductive diseases*

Lic. Scotti, Leopoldina\*; Dra. Abramovich, Dalhia\*; Dra. Irusta, Griselda\*; Lic. Pazos, Camila\*; Lic. Pascuali, Natalia\*; Lic. Haro Durand, Luis\*; Dr. de Zúñiga Ignacio E, Dra. Tesone, Marta\*\* y Dra. Parborell, Fernanda\*  
e-mail: fparborell@gmail.com

\*Instituto de Biología y Medicina Experimental (IByME)-CONICET, Buenos Aires, Argentina

& Centro Médico PREGNA Medicina Reproductiva

# Facultad de Cs. Exactas y Naturales, UBA.

#### Resumen

El desarrollo vascular en el tracto reproductivo femenino es un proceso que se encuentra restringido a la formación del cuerpo lúteo y a la proliferación del endometrio uterino durante los ciclos menstruales. Se han identificado numerosos inductores de la angiogénesis, que incluyen, entre otros, los miembros del factor de crecimiento fibroblástico (FGF) y la familia del factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF), angiopoyetinas (ANGPT), factor de crecimiento transformante (TGF) y factor derivado de plaquetas (PDGF). Los defectos en la angiogénesis ovárica contribuyen a una variedad de desórdenes, incluyendo anovulación e infertilidad, pérdida de embarazo, síndrome de hiperestimulación ovárica (SHEO), síndrome de ovario poliquístico (SOP) y neoplasmas ováricos. Es decir, el endotelio es una fuente y un blanco de sustancias vasoactivas que son secretadas debido a las condiciones que se desencadenan durante los desórdenes ya mencionados. Para evaluar los mecanismos bioquímicos y moleculares que participan en la angiogénesis, se han desarrollado métodos in vitro (migración por herida, tubulogénesis, etc.) e in vivo (implante de Matrigel, membrana corionalantoide, etc.). Los ensayos in vitro pueden ser útiles para validar los primeros pasos de la angiogénesis pero deben ser confirmados por estudios in vivo. En particular, los ensayos in vitro e in vivo descritos en este trabajo para evaluar el desarrollo de los vasos pueden ser aplicados para el estudio de desórdenes reproductivos con alteraciones en la angiogénesis (SHEO, SOP, cáncer de ovario, etc.) mediante la utilización del suero, líquido peritoneal, fluido folicular o de biopsias de distintos tejidos provenientes de las pacientes.

**Palabras clave:** angiogénesis, reproducción femenina, endotelio, pericitos.

#### Abstract

Vascular development is a process mainly limited to the female reproductive system during corpus luteum formation and proliferation of uterine endometrium in menstrual cycles. Numerous inducers of angiogenesis have been identified, including the members of the FGF-2 (Basic Fibroblast Growth Factor) and Vascular Endothelial Growth Factor A (VEGF) family, angiopoietins, transforming growth factors (TGF) and platelet-derived growth factor (PDGF).

Alterations of ovarian angiogenesis contribute to the pathophysiology of different ovarian conditions such as anovulation and infertility, Ovarian Hyperstimulation Syndrome (OHSS), Polycystic Ovary Syndrome (PCOS), pregnancy lost, uterine bleeding, subfertility, endometriosis and ovarian neoplasms. Because of the described reasons, in these pathologic situations, the endothelium would be a potential target due to be the source of vasoactive substances. For the evaluation of biochemical and molecular mechanisms involved in the angiogenesis process, in vitro (wound healing assay, tubular structures formation) and in vivo (Matrigel plug assay, chorioallantoid membrane assay) methodology has been developed. While in vitro assays are useful for the study of early angiogenesis, the observations must be confirmed with in vivo techniques. Particularly, in this review, both in vivo and in vitro assays described are those which are used for the comprehension of reproductive disorders with altered angiogenesis (OHSS, PCOS, ovarian cancer, etc.). These techniques are performed on patient's serum, peritoneal or follicular fluid or tissue biopsies.

**Key words:** angiogenesis, female reproduction, endothelium, pericites.

#### Generalidades

La angiogénesis que ocurre en el adulto es el proceso por el cual se forman vasos sanguíneos nuevos

a partir de vasculatura preexistente (1). Esta vasculatura es modificada mediante el brote y crecimiento de nuevos vasos para formar finalmente patrones de vasos interconectados característicos de los vasos sanguíneos maduros. La vasculatura previamente formada debe primero desestabilizarse para permitir la formación de nuevos vasos sanguíneos que irrigen tejidos previamente avasculares. Luego, las células endoteliales proliferan y migran para formar estructuras tubulares inmaduras que terminan siendo redes vasculares interconectadas. Esta vasculatura nueva debe madurar para ser completamente funcional. Durante este proceso, las nuevas células endoteliales se integran y se unen fuertemente a células soporte, como pericitos y células musculares lisas, y a la matriz que rodea el vaso (2) (FIGURA 1).

El desarrollo vascular, en el tracto reproductivo femenino, es un proceso que se encuentra restringido a la formación del cuerpo lúteo y a la proliferación del endometrio uterino durante los ciclos menstruales. Se han identificado numerosos inductores de la angiogénesis (3). Estos incluyen, entre otros, los miembros del factor de crecimiento fibroblástico (FGF) y la familia del factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF), angiopoyetinas (ANGPT), factor de crecimiento transformante (TGF) y el factor derivado de plaquetas (PDGF) (4).

Mientras que el VEGF es el principal iniciador de la angiogénesis, ya que estimula la proliferación de células endoteliales y aumenta la permeabilidad vascular, la formación y diferenciación de una red vascular madura y funcional requiere de la acción coordinada de varios factores. Entre estos se encuentran la angiopoyetina 1 y

2 (ANGPT-1 y ANGPT-2), que actúan a través de sus receptores tirosina-quinasa Tie1 y Tie2 (5). Contrariamente al VEGF, la ANGPT-1 es incapaz de estimular la proliferación de células endoteliales pero es indispensable para estabilizar estas células y las células de músculo liso (5). La ANGPT-1 es capaz de inducir la fosforilación de Tie-2, que desencadena su acción biológica. La ANGPT-2 se une al Tie-2 con la misma afinidad que la ANGPT-1, pero no fosforila al receptor, por lo tanto, actúa como un antagonista natural de ANGPT-1 (5). Trabajos previos han demostrado la expresión de ARNm de VEGF, ANGPT-1 y 2 en el ovario de la rata (5), bovinos (6) y monos (7), lo que sugiere el rol de estos factores en la angiogénesis ovárica. Otro factor angiogénico potente es el PDGF, que recluta las células periendotheliales (pericitos y células de músculo liso) actuando concertadamente con el sistema de ANGPT (8). En particular, se ha encontrado expresión de miembros de la familia de PDGF en ovarios de ratones, ratas y humanos (9). Los efectos biológicos de estos factores están mediados por dos receptores del tipo tirosina-quinasa, receptores PDGF $\alpha$  y  $\beta$ . Las isoformas PDGFA, PDGFB y PDGFC se unen al receptor PDGF $\alpha$ , mientras que PDGFB y PDGFD se unen al receptor PDGF $\beta$ .

En ovario de rata se ha descrito la expresión y localización celular de ANGPT-1, ANGPT-2 y de su receptor Tie-2, así como también el de VEGF y su receptor FLK-1, durante la foliculogénesis (10). Además, en nuestro laboratorio se ha demostrado que la inhibición de VEGF y ANGPT-1, mediante la administración local en el ovario de rata de Trap (inhi-

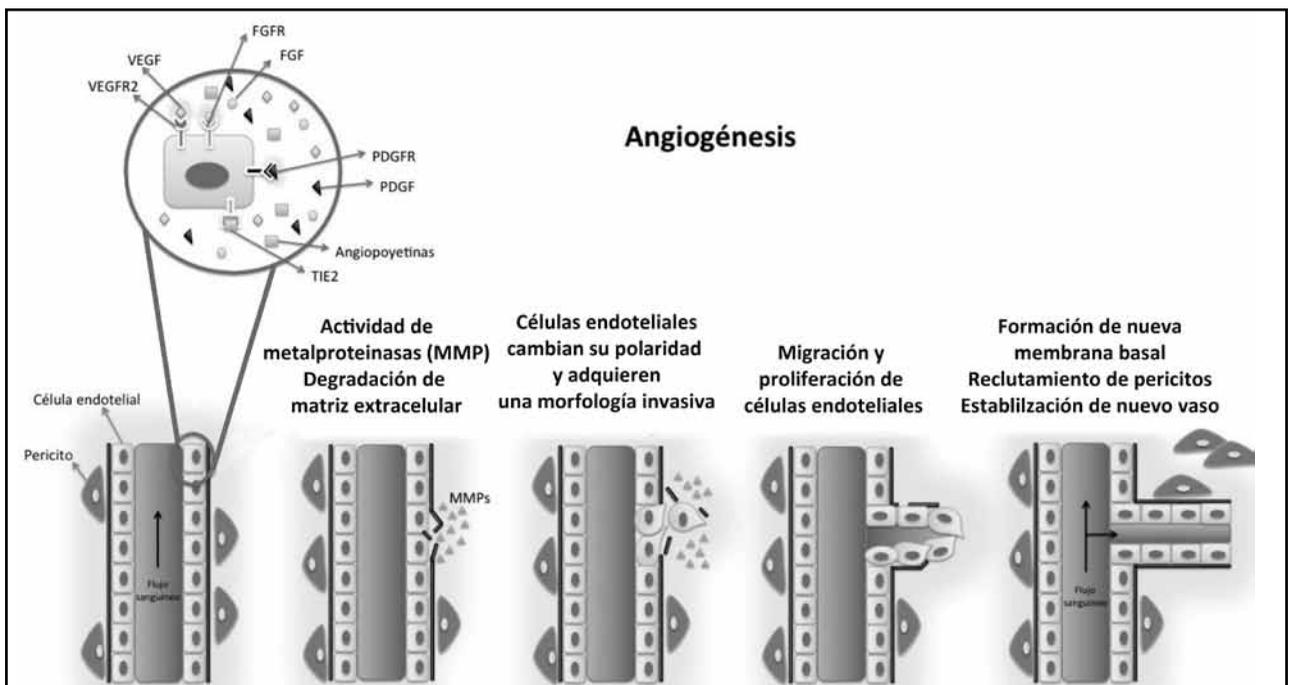


Figura 1. Descripción de los distintos pasos de la angiogenesis.

bidor de VEGF) o de un anticuerpo neutralizante anti-ANGPT-1, causa un desbalance en la relación proteínas antiapoptóticas:proapoptóticas, que lleva a un gran número de folículos a la atresia (11,12).

Por otra parte, recientemente hemos observado que un inhibidor selectivo de los receptores PDGF (AG1295) aumenta el número de folículos atrésicos en ovarios procedentes de ratas tratadas con gonadotrofinas. En este mismo modelo, el tratamiento con AG1295 provoca la aparición de folículos hemorrágicos (*resultados no publicados aún*). Estos resultados sugieren que la inhibición del sistema de PDGF provoca la falta de reclutamiento de células periendotheliales en el ovario, que son esenciales para la madurez de los vasos recién formados.

*Esto es de especial interés debido a que los defectos en la angiogénesis ovárica contribuyen a una variedad de desórdenes, incluyendo anovulación e infertilidad, pérdida de embarazo, SHEO, SOP y neoplasmas ováricos (13,14).*

### **Angiogénesis alterada I: síndrome de hiperestimulación ovárica (SHEO)**

El SHEO es una complicación iatrogénica severa del crecimiento y la maduración folicular ocasionada por la inducción de la ovulación en tratamientos de fertilización asistida (ART), en los cuales se realiza hiperestimulación ovárica con altas dosis de gonadotrofinas. La prevalencia de SHEO se encuentra entre el 5-10% de las pacientes que se someten a ART. Además, la forma severa de SHEO afecta al 0,5-5% de estas pacientes y son necesarios cuidados intensivos inmediatos. Se han descrito varios sistemas de clasificación del SHEO, si bien el más aceptado es el de Golan y cols. (1988) (15), quienes lo clasifican en tres estadios y 5 grados:

**Estadio leve:** *grado 1:* presencia de distensión/malestar abdominal; *grado 2:* igual al anterior, más vómitos o diarrea y ovarios de 5-12 cm.

**Estadio moderado:** *grado 3:* características similares al grado leve más la presencia ecográfica de ascitis.

**Estadio severo:** *grado 4:* características similares al grado moderado, más signos de ascitis/hidrotórax o dificultad respiratoria y *grado 5:* todo lo anterior, más cambios en el volumen sanguíneo, aumento de la viscosidad sanguínea por hemoconcentración, trastornos de la coagulación, alteraciones de la función renal y problemas tromboembólicos.

Actualmente, los criterios utilizados para predecir el desarrollo de SHEO son: niveles de estradiol (E2) (mayor de 4000 pg/ml), número de folículos en el día de administración de gonadotrofina coriónica humana (hCG) (más de 20 folículos mayores a 18 mm)

y la presencia de ovarios poliquísticos por ultrasonido. Las características del síndrome involucran: aumento en el tamaño del ovario, sobreproducción de hormonas esteroideas y sustancias vasoactivas, que contribuyen al aumento de permeabilidad vascular, presencia de ascitis y formación de quistes, que pueden involucrar al tejido luteínico y ser hemorrágicos. Estas características estarían indicando que la angiogénesis juega un papel importante en el desarrollo de esta patología, si bien en la actualidad es escasa la información disponible acerca de la patofisiología de la enfermedad y de sus posibles tratamientos. A pesar del monitoreo de la ovulación por ultrasonido y de la medición de los niveles de E2, estas medidas son aún insuficientes para detectar los casos de SHEO. Debido a ello, actualmente se aplican además otras medidas para evitar una respuesta ovárica exagerada; como son la cancelación del protocolo, disminución de la dosis de hCG y el reemplazo de hCG por agonistas de la GnRH como inductores de la ovulación. Se ha observado que los niveles séricos de VEGF aumentan y, por consiguiente, se incrementa la permeabilidad vascular luego de la administración de hCG en mujeres hiperestimuladas con riesgo a desarrollar SHEO (16).

### **Angiogénesis alterada II: SOP**

El SOP es un síndrome complejo caracterizado por una disfunción ovárica que frecuentemente se presenta asociado a la resistencia a la insulina como condición sistémica. Sus manifestaciones se observan no solo durante la edad reproductiva de la mujer, sino a través de toda su vida, con riesgo de padecer diabetes tipo 2, síndrome metabólico y con las consiguientes complicaciones psicológicas que genera, como ansiedad y depresión. Sus principales características son el hiperandrogenismo y la morfología de ovario poliquístico (17). Presenta como principales manifestaciones clínicas la infertilidad, ausencia o irregularidades menstruales, signos de exceso de andrógenos y obesidad (18).

A pesar de ser la alteración endocrina con mayor prevalencia entre las mujeres en edad fértil, su definición aún es controvertida y muchos aspectos de su patofisiología aún no se conocen. Se han realizado varios consensos respecto al diagnóstico de esta patología; actualmente se acepta el acordado en 2003 en Rotterdam, en el que participaron la *European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE)* y la *American Society for Reproductive Medicine (ASRM)* (19). En esa reunión se concluyó que el SOP es un síndrome caracterizado por diversos signos y síntomas, por lo que la presencia de uno solo de ellos no es suficiente para realizar un diagnóstico. Por ello, se diagnostica a una paciente con SOP cuando presenta al menos dos de los siguientes síntomas: hiperandrogenismo clínico o bioquímico, oligo o anovulación y ovarios

poliquísticos por ultrasonido. Además, el SOP continúa siendo definido como un síndrome, es decir, no existe un único criterio para su diagnóstico. Más aún, continúa siendo también un diagnóstico de exclusión, donde es necesario descartar la presencia de otras alteraciones endocrinas conocidas que puedan estar produciendo los mismos signos y síntomas para diagnosticar SOP (19).

Las pacientes con SOP tienen altos niveles de VEGF en suero (20,21), el que proviene de una elevada producción ovárica (22). Por esta razón, tienen mayor riesgo de desencadenar SHEO al ser estimuladas con gonadotrofinas (20). El VEGF es el principal candidato involucrado en la patogénesis de SHEO (23), es por esto que las pacientes con SOP, al tener niveles basales elevados de VEGF, son pacientes de riesgo en el caso de una estimulación de la ovulación.

En el SOP el mecanismo autocrino/paracrino en el ovario que culmina con la ovulación de un solo folículo se encuentra alterado. Una de las causas de esta pérdida en la regulación sería el aumento en la expresión de VEGF por las células ováricas, lo que produciría un aumento en el flujo sanguíneo de la cohorte de folículos en desarrollo, que inhibe la atresia folicular y por consiguiente, produce un crecimiento de muchos folículos en forma simultánea en estas pacientes cuando son estimuladas con gonadotrofinas (11). Esta es una de las causas por las que se trata de evitar los protocolos de inducción de la ovulación clásicos y se intenta utilizar el citrato de clomifeno (CC) como primera línea de tratamiento.

En modelos animales de SOP, se ha visto que además del aumento de VEGF en ovario, también está aumentado el sistema de ANGPT y existe un mayor recubrimiento de los vasos sanguíneos con células periendotheliales. En fluido folicular humano proveniente de pacientes con SOP, también se ha encontrado un aumento del sistema de ANGPT-1 (*resultados preliminares*). Es por esto que se propone el estudio de los factores angiogénicos como estrategia de diagnóstico y/o tratamiento para este síndrome (24).

### **Angiogénesis alterada III: neoplasmas ováricos**

Hemos nombrado las características de la angiogénesis fisiológica en cuanto a su transitoriedad y su fina regulación. Las células tumorales producen grandes cantidades de los factores angiogénicos aquí descritos, lo que causa un efecto positivo promoviendo un aumento de la angiogénesis en los tumores. La forma en la cual se da este proceso es objeto de numerosos estudios.

El cáncer de ovario es uno de los tipos de tumores sólidos cuya respuesta a los tratamientos es generalmente temporal. En la mayoría de los casos es recurrente y entre las enfermedades ginecológicas, es una de las que posee una mayor relación fatalidad/caso. Cada año

existen más de 190.000 casos de cáncer de ovario y éste representa el 4% de todos los tipos de cánceres diagnosticados en las mujeres a nivel mundial. Debido a la ausencia de síntomas específicos en los estadios tempranos de esta enfermedad, no existe una estrategia para su detección y al momento de ser diagnosticado, el 75% de los casos ya es completamente metastásico.

El 90% de los casos de cáncer de ovario ocurre de forma esporádica en la población y solo el 10% posee un componente hereditario (25). Cuando esta enfermedad se encuentra en su estadio más avanzado, el mejor tratamiento sería realizar una cirugía apropiada, pero el problema es que no se logra erradicar hasta el último residuo de tejido y por eso se hace imprescindible administrar quimioterapia en la mayoría de las pacientes. La prognosis de esta enfermedad puede estar correlacionada con numerosos factores clínicos y biológicos. El estadio tumoral, el grado de avance y el tamaño de la metástasis se correlaciona con el resultado final luego de la reducción del tumor (26,27). El grado de malignidad de los tumores se clasifica de acuerdo con la Federación Internacional de Ginecología y Obstetricia (FIGO) y abarca los estadios I a IV, que involucran crecimiento del tumor limitado a los ovarios hasta metástasis distante del sitio de origen.

Haciendo mención nuevamente a la terapéutica del cáncer de ovario, cabe destacar que los agentes quimioterapéuticos que se utilizan provocan infertilidad y pérdida en la producción de hormonas sexuales. La combinación de la radioterapia y quimioterapia es la más dañina y en casi el 100% de las pacientes tratadas se desarrolla falla ovárica (28). Además, existen pacientes que recaen y resultan ser resistentes a estas terapias y en estos casos existen limitadas opciones de tratamiento. Es por esta razón que actualmente se están buscando nuevas moléculas blanco, que generalmente consisten en factores asociados a caminos intracelulares de los cuales las células tumorales dependen en cuanto a su proliferación, invasión, metástasis y apoptosis. Debido a esto se están identificando moléculas para futuras terapias que se encuentren alteradas en las células tumorales y que favorezcan su fenotipo tumoral. Estas células poseen diversos procesos alterados, como son: el ciclo celular, caminos intracelulares de señalización, mecanismos angiogénicos y síntesis de receptores de factores de crecimiento. Los vasos sanguíneos intratumorales son muy diferentes de los vasos normales en cuanto a su estructura, función y permeabilidad, lo que dificulta la transferencia de oxígeno y nutrientes, e incluso, de los agentes quimioterapéuticos a las células tumorales (29). La angiogénesis tumoral es un proceso crítico involucrado en el crecimiento y en la metástasis del cáncer de ovario. En cuanto a la inhibición de la angiogénesis como terapia para el tratamiento del

cáncer de ovario, se han realizado diversas estrategias con diferentes blancos, como el VEGF y su receptor por medio de dos estrategias: previniendo la unión del receptor al VEGF o previniendo la activación a nivel intracelular (30). Uno de los primeros compuestos que demostraron poseer efectos significativos en carcinoma de ovario es el bevacizumab, un anticuerpo monoclonal que se une a VEGF, bloqueando su interacción con su receptor. Además, este agente mostró buenos resultados en pacientes con cáncer de ovario recurrente en el 16% de las pacientes sensibles a cisplatino y en el 18% de las pacientes resistentes a éste. Incluso en estos ensayos se ha observado un aumento del período libre de enfermedad, del tradicional 16% al 42% a los 6 meses (31). Sin embargo, en cuanto al tratamiento con bevacizumab, se han realizado distintos ensayos clínicos (GOG 218 e ICON 7) donde se analizó el tiempo y la dosis del inhibidor en combinación con la administración de los quimioterapéuticos. A pesar de los resultados beneficiosos en cuanto al aumento de los períodos libres de enfermedad al combinar bevacizumab con quimioterapia, no se observa aumento en la supervivencia global. Esto, junto con algunos efectos adversos que se observan con estos compuestos y el alto costo que poseen, hace dudar de su real beneficio (32).

### Ensayos in vitro e in vivo para estudiar la angiogénesis ovárica en el tracto reproductivo femenino

Sobre la base de lo descrito anteriormente, la angiogénesis ovárica juega un rol importante en la aparición o desarrollo de SHEO y SOP, como en el cáncer ovárico.

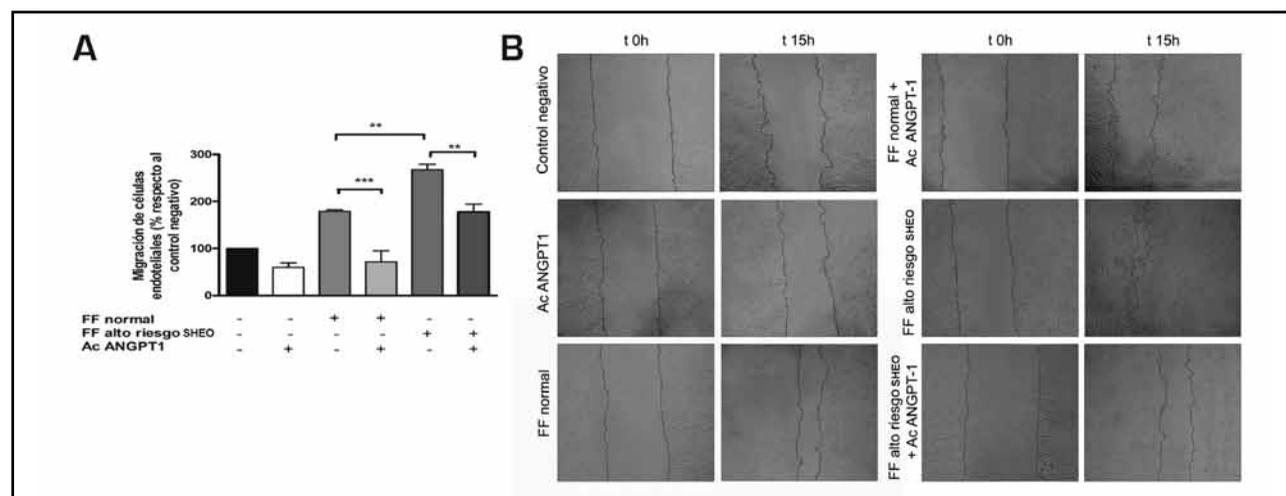
Es decir, el endotelio es una fuente y un blanco de sustancias vasoactivas que son secretadas debido a las condiciones que se desencadenan durante estas enfermedades descriptas. Para evaluar los mecanismos bioquímicos y moleculares que participan se han desarrollado métodos in vitro e in vivo.

Se detallarán a continuación los métodos más relevantes para estudiar la angiogénesis en el tracto reproductivo femenino tanto en condiciones fisiológicas como patológicas.

### Ensayos in vitro de angiogénesis

#### Cultivo de células endoteliales

La migración de células endoteliales es esencial para la angiogénesis. Este proceso de movilidad es direccionalmente regulado por quimiotaxis y estímulos mecanotácticos. Además, implica la degradación de la matriz extracelular para permitir la migración de las células. Distintas vías de señalización se activan y convergen en la remodelación del citoesqueleto. A continuación, las células endoteliales se extienden, contraen y avanzan. Se ha observado que el sistema angiogénico de ANGPT no estimula la proliferación de las células endoteliales, sin embargo, la ANGPT-1 promueve la migración de estas células (33). Una de las formas de evaluar los diferentes parámetros de la angiogénesis es la utilización de cultivos de células endoteliales y la posterior observación de la migración celular frente a distintos tratamientos (34). Sobre la base de ello, se realizó el ensayo de migración de herida en una línea endotelial humana. Este ensayo ha



**Figura 2. Efecto del fluido folicular en la migración de células endoteliales. A)** Cuantificación del ensayo de migración por herida. Las columnas muestran el porcentaje de migración de células endoteliales respecto al control negativo. La migración de células endoteliales en el control negativo fue arbitrariamente definida como del 100%. Los datos se expresaron como la media  $\pm$  EMS (n=20); \*p<0,05; \*\*p<0,01; \*\*\*p<0,001. **B)** Imágenes representativas de la migración endotelial en el ensayo de migración por herida inducida por fluido folicular de pacientes normales y con alto riesgo de desarrollar SHEO preincubado durante 1 hora a 37 °C con un anticuerpo anti-ANGPT-1 y sin él. **FF:** fluido folicular; **SHEO:** síndrome de hiperestimulación ovárica; **Ac ANGPT-1:** anticuerpo antiangiopoyetina-1.

sido utilizado por más de 40 años y se caracteriza por la habilidad que tienen las células para migrar en una pequeña área creada libre de células. Este método ha sido útil no solo para evaluar los factores involucrados en la migración celular, sino también para evaluar el rol de las proteínas de la matriz extracelular, así como de las proteínas que participan de las uniones intercelulares (35). En particular, uno de los objetivos de nuestro laboratorio fue analizar el potencial angiogénico que tienen los fluidos foliculares (FF) provenientes de pacientes con riesgo de desarrollar SHEO utilizando el ensayo de migración por herida (36) (**FIGURA 2**). Los resultados mostraron que los FF de estas pacientes estimulan la migración celular, comparados con los FF de pacientes controles. Sin embargo, cuando se agrega un anticuerpo neutralizante anti-ANGPT-1 (inhibidor) a los FF provenientes de pacientes con alto riesgo a SHEO, se observa una disminución en la migración de células endoteliales, por lo que este proceso angiogénico evidencia valores normales.

Una vez que las células endoteliales han migrado y proliferado en respuesta al estímulo angiogénico, se diferencian para producir nuevos capilares. Entre los diversos ensayos *in vitro* que mimetizan este proceso de diferenciación que sufren las células endoteliales en la angiogénesis, se emplea muy frecuentemente el de la formación de estructuras tubulares en Matrigel (mezcla de proteínas gelatinosas secretadas por células tumorales de ratón, que mimetiza el ambiente extracelular encontrado en varios tejidos). Las células endoteliales de cordón umbilical (HUVEC) han sido las principales células utilizadas en este tipo de ensayos. Otros autores y en nuestro laboratorio hemos realizado ensayos de tubulogénesis en cultivos de células endoteliales con Matrigel utilizando los FF o el suero proveniente de pacientes normales, así como de pacientes con distintas patologías (37, 38). Von Otte y cols. observaron que en ausencia de factores angiogénicos o de FF de pacientes normales se encuentra una estructura tipo tubular de forma incompleta, irregular y pequeña en los cultivos de células endoteliales (37). Tan y cols. observaron un aumento en la formación de túbulos con suero de pacientes SOP, efecto que fue revertido luego de 6 meses de tratamiento con el hipoglucemiante metformina (38). En nuestro laboratorio, hemos observado que en presencia de FF de pacientes con riesgo elevado de padecer SHEO, aumenta la formación de estructuras del tipo tubular endotelial comparado con los FF de pacientes normales. Estos resultados son consistentes con los ensayos de migración ya que explicarían la excesiva angiogénesis que poseen las pacientes con riesgo elevado de desarrollar este síndrome.

En cáncer de ovario, este tipo de ensayo se utiliza, por ejemplo, para evaluar la secreción de factores an-

giogénicos por parte de células tumorales. Un ejemplo es el trabajo donde se ha demostrado que al incubar células correspondientes a una línea tumoral ovárica en presencia de metaloproteína 1 (MMP1), el medio condicionado de estas células induce la formación de estructuras tubulares en comparación con el medio condicionado de células incubadas en ausencia de estímulo. Esto demuestra que la MMP1 estimula la secreción de factores angiogénicos por parte de células ováricas tumorales (39).

El proceso angiogénico no solo involucra proliferación, adhesión, migración de células endoteliales y formación de túbulos, sino también cambios en el citoesqueleto. Es decir, se producen cambios en la permeabilidad vascular que están dados por la integridad de las uniones estrechas y adherentes entre las células endoteliales. Estas uniones regulan el pasaje de iones, nutrientes y diferentes fluidos desde el espacio intravascular al espacio periférico donde se encuentran los tejidos. Una manera para medir permeabilidad vascular es mediante la técnica de faloidina. Los filamentos de actina polimerizados se unen con el péptido de faloidina que está conjugado a marcadores fluorescentes. Estos filamentos son cruciales para el mantenimiento de las uniones entre células endoteliales, regulando de esta manera la permeabilidad vascular. Levin y cols. (1998) mostraron una marcada redistribución de filamentos de actina en forma transversal cuando las células endoteliales eran incubadas en presencia de VEGF o de FF de pacientes normales comparadas con controles (40). Además, nosotros hemos observado que los FF de pacientes con riesgo elevado de desarrollar SHEO generan filamentos de actina en forma transversal a lo largo de la célula, lo que provoca la formación de fibras de estrés de actina comparados con los FF de pacientes normales.

#### *Cultivos mixtos (cocultivos)*

Los cultivos mixtos son muy interesantes porque nos permiten reproducir las condiciones fisiológicas en las que se encuentran las células en el organismo y permiten investigar las interacciones entre ellas. Se pueden desarrollar cultivos mixtos combinando dos cultivos primarios, cultivos primarios con líneas celulares o dos líneas celulares distintas. Es decir, todos estos cultivos mimetizan un microsistema semejante al de los fisiológicos. En particular, en el área reproductiva, varios autores han utilizado estos tipos de cultivos para evaluar los distintos mecanismos que se desencadenan luego de la unión de gonadotropinas o factores pro y antiangiogénicos a sus receptores presentes en los distintos tipos celulares. Rodewald y cols. (2009) establecieron un nuevo modelo *in vitro* de cocultivo de células de granulosa luteínicas humanas con células endoteliales humanas. Los autores mostraron los efectos de la hCG sobre la

permeabilidad celular y la expresión de claudina 5 (proteína que participa en las uniones estrechas endoteliales y regula la permeabilidad celular) en presencia de un inhibidor de VEGF. Los resultados mostraron que la hCG actúa como un factor paracrino aumentando la permeabilidad endotelial mediante la secreción de VEGF por células de la granulosa luteínicas humanas y por consiguiente, causando una disminución de la expresión de claudina 5 en las células endoteliales (41).

### **Ensayo ex vivo de angiogénesis**

#### *Cultivo de anillos de la aorta*

Este ensayo se caracteriza por representar varios pasos de la angiogénesis que incluyen la proliferación de células endoteliales, migración, diferenciación en nuevos capilares y recubrimiento de pericitos (42). El ensayo consiste en extraer la aorta torácica de la rata, removerle el tejido conectivo y cortar la aorta en diferentes segmentos pequeños tipo “anillo”. Luego son embebidos en una matriz extracelular tridimensional compuesta por fibrina o colágeno y se mantiene en un medio específico. Este tejido comprende 3 diferentes tipos celulares: células endoteliales, células fibroblásticas y células de músculo liso. Luego de varios días de cultivo se puede observar la formación de nuevos microcapilares a partir del explante de la aorta en presencia de factores con actividad proangiogénica. Un ejemplo es el estudio realizado por Berndt y cols. (2009), donde demuestran que la hCG se comporta no solo como un factor que modula la implantación embrionaria mediante el control de la secreción del factor inhibitorio de leucemia (LIF) y la producción de la metaloproteinasa-9, sino también como un factor proangiogénico (43). Para ello utilizaron, entre otros ensayos, el cultivo de los anillos de la aorta en presencia de distintas concentraciones de hCG recombinante y urinaria luego de 9 días de cultivo. La hCG aumentó no solo el número de nuevos capilares, sino también la distancia de la migración celular desde el explante, lo que indica que esta gonadotropina cumple también un rol importante en la angiogénesis.

### **Ensayos in vivo de angiogénesis**

#### *Ensayo de la córnea*

La córnea es un modelo ideal para evaluar la angiogénesis in vivo, ya que se caracteriza por ser avascular y, por lo tanto, el desarrollo de nuevos vasos será solamente debido al material que se agregue (44). Originalmente fue desarrollado en ojo de conejo pero luego fue adaptado al ratón. El ensayo consiste en realizar una abertura en la córnea, donde se coloca el componente de interés. La respuesta angiogénica puede ser monitoreada por observación mediante lupa o midiendo el área de penetración de los vasos mediante técnicas fluorescentes.

La única desventaja de este ensayo es el desarrollo de inflamación, que puede llegar a interferir en la visualización de la neovascularización en la córnea. En el área reproductiva femenina, este ensayo in vivo de angiogénesis podría ser utilizado en el futuro para evaluar el potencial angiogénico que poseen el líquido peritoneal, los sueros y los FF provenientes de pacientes con distintas patologías.

#### *Ensayo del implante de Matrigel*

Este ensayo, comparado con el ensayo de la córnea, no requiere herramientas técnicas específicas de cirugía (45). El Matrigel contiene previamente las sustancias para evaluar y se administra en forma subcutánea. Luego de varios días, el implante puede ser examinado en forma histológica para determinar el desarrollo de vasos sanguíneos que han penetrado al Matrigel. Se puede medir el volumen del plasma mediante la administración de dextrán conjugado a un marcador fluorescente o también mediante la cuantificación de hemoglobina que se encuentra dentro del implante de Matrigel (46). Por ejemplo, Johns A y cols. (1996) demuestran que los estrógenos modulan la angiogénesis tanto en condiciones fisiológicas como patológicas mediante la inducción del factor de crecimiento fibroblástico tipo B (FGFb). Para ello, utilizaron ratones transgénicos sin receptor de estrógenos y ratones salvajes, y luego los ovariectomizaron. Se evaluó el volumen de plasma dentro del implante de Matrigel que contenía FGFb que había sido implantado subcutáneamente en ambos tipos de ratones. En ratones salvajes, la administración de 17 $\beta$ -estradiol aumentó el volumen del plasma del implante de Matrigel medido por dextrán conjugado a fluoresceína, comparado con el de los ratones transgénicos.

#### *Ensayo de membrana corionalantoide (CAM)*

Este ensayo fue originalmente descrito por embriólogos hace 50 años atrás con el objetivo de evaluar el desarrollo de órganos en el embrión. El sistema de vasos sanguíneos de la CAM es inmunodeficiente y similar a la placenta de mamíferos en cuanto a la ausencia de innervación. Además, otra ventaja de este ensayo es que el sistema inmune y nervioso del embrión propiamente dicho no se han desarrollado aún. Sobre la base de estas características, el ensayo de la CAM puede ser utilizado para realizar xenotrasplante con distintos tipos de tejidos que provienen de diferentes especies. Este sistema de la CAM se utiliza para evaluar la angiogénesis tanto en tumores como en tejidos endometriales (47,48), para cultivo de piel humana (49) y de hígado (50), así como también para analizar la toxicidad de biomateriales para ingeniería de tejidos (51).

Al principio, las CAM de los días 7-9 de em-

briones de pollo eran expuestas mediante una pequeña abertura en la cáscara del huevo y los fragmentos de tejido de interés eran colocados directamente arriba de la CAM (52). Los huevos eran reincubados por varios días, y las CAM, junto con los fragmentos tisulares, eran analizadas mediante la cuantificación de los puntos de bifurcación de los nuevos capilares que se encontraban dentro del área de interés (lugar donde se había colocado el material tisular).

Luego se realizó una modificación al ensayo CAM (método in ovo) que consistía en transferir el embrión completo a placas de cultivo de plástico (53). Luego de 3-4 días de incubación, durante los cuales la CAM se desarrolla, se agregan los fragmentos de tejido para evaluar su actividad angiogénica. Las sustancias pueden ser ubicadas en la CAM directamente o sobre anillos de siliconas para delimitar la zona de crecimiento vascular que se evaluará.

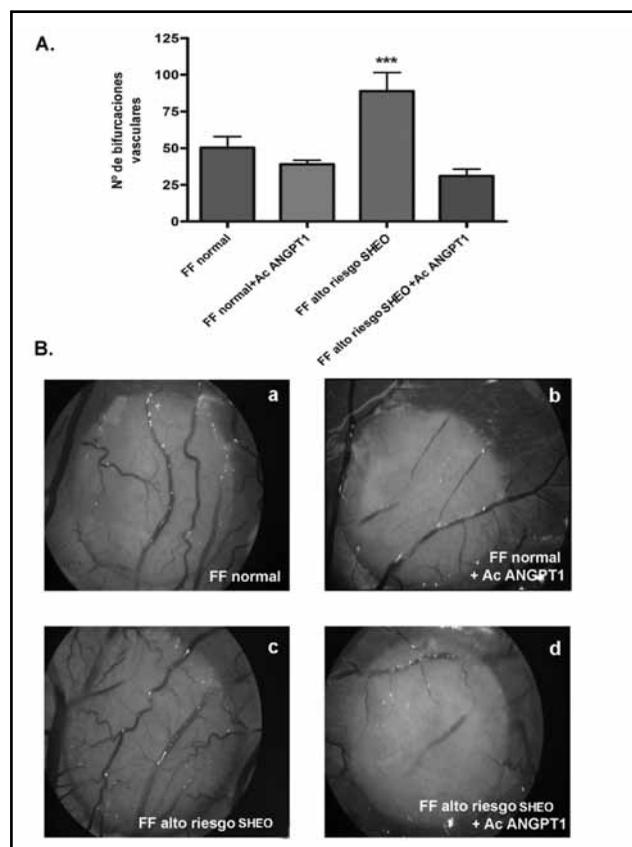
Las ventajas que posee este método in vivo para evaluar la angiogénesis son la disponibilidad universal de huevos, relativo bajo costo, rápido desarrollo y crecimiento de los embriones y adecuación a normas éticas vigentes para el uso de animales de experimentación. Además, se pueden llevar a cabo varios tratamientos en la misma CAM, lo que permite que los resultados sean muy confiables. Recientemente, Isachenko y cols. (2012) han propuesto al sistema de la CAM como una técnica para evaluar la calidad de tejido ovárico que fue previamente criopreservado (54). Es importante destacar que la infertilidad aumenta en aquellas mujeres que fueron sometidas a quimioterapia, ya que es un tratamiento que puede dañar las gónadas. La criopreservación de material ovárico antes de la terapia quimioterapéutica con reimplantación posterior representa una buena solución para restablecer la fertilidad en este tipo de pacientes.

En nuestro laboratorio, hemos puesto a punto este ensayo pero en embriones de codorniz. Estos se incubaron in ovo durante 2 días a 37 °C. Durante el desarrollo ex ovo (embrión desarrollado en una placa de cultivo) se realizó un control de la viabilidad cada 48 h. Luego de los 5 días de incubación ex ovo se colocaron como estímulo los FF, en discos de filtros, de las pacientes con riesgo de desarrollar SHEO y de pacientes normales. Luego de las 48 h postestimulación, los embriones fueron sacrificados y las CAM fueron fijadas en 4% paraformaldehído/2% glutaraldehído en PBS. Los resultados mostraron que los FF de pacientes con riesgo de SHEO causaban un mayor número de ramificaciones vasculares, así como un aumento en el calibre vascular, comparados con los FF de pacientes normales (**FIGURA 3**). En cambio, cuando los FF de SHEO fueron incubados con un inhibidor del factor angiogénico ANGPT-1, se observó una disminución en los parámetros analiza-

dos anteriormente comparados con los FF de pacientes SHEO sin tratamiento. Una de las ventajas de este ensayo es que se pueden analizar otros parámetros además de los estudios morfológicos. Por ejemplo, en las CAM, se puede llevar a cabo la técnica de inmunofluorescencia (IF) para detectar células endoteliales (factor Von Willebrand) y células de músculo liso ( $\alpha$ -actina). En nuestro laboratorio, observamos que los FF de SHEO mostraban un aumento tanto en el área endotelial como en la periendothelial, comparados con los FF normales. En cambio, la presencia del inhibidor de ANGPT-1 en los FF de SHEO disminuía en las áreas celulares mencionadas anteriormente respecto a los FF de SHEO sin tratamiento. También, se pueden realizar estudios bioquímicos, cuantificando mediante ensayos de Elisa los niveles de la integrina  $\alpha\beta 3$ , que se consideran un parámetro angiogénico (55). Los resultados mostraron un aumento de esta integrina en las CAM incubadas con los FF de pacientes con riesgo de desarrollar SHEO, comparados con los FF de pacientes normales. En cambio, la presencia del inhibidor de ANGPT-1 disminuyó los niveles de esta proteína. Es decir, que no solo el VEGF se encuentra involucrado en la severidad del SHEO, sino que también participa otro factor angiogénico, como es la ANGPT-1.

## Conclusiones

Los ensayos in vitro de angiogénesis resultan útiles para llevar a cabo cuantificaciones bajo controles estrictos pero deben de ser interpretados con gran precaución. Estos ensayos pueden servir para validar los primeros pasos de la angiogénesis (proliferación, migración, adhesión y formación de túbulos) pero deben ser confirmados por estudios in vivo. Los cultivos de órgano (ensayo del anillo de la aorta) y los cocultivos (células endoteliales y células de músculo liso) proveen mayor información que los ensayos in vitro ya que permiten evaluar las interacciones entre distintos tipos celulares que participan en el desarrollo de nuevos vasos. Los ensayos in vivo son absolutamente necesarios para evaluar en forma estricta todos los pasos angiogénicos sin eliminar la posible participación de otros sistemas que ocurren alrededor del desarrollo de una nueva vasculatura. La desventaja de estos ensayos in vivo es que son difíciles de desarrollar ya que requieren en su mayoría conocimientos de cirugía o de la técnica propiamente dicha para llevarlos a cabo. En particular, los ensayos in vitro e in vivo que fueron descritos en este trabajo para evaluar el desarrollo de los vasos, pueden ser aplicados para el estudio de enfermedades reproductivas femeninas con alteraciones en la angiogénesis (SHEO, SOP, cáncer de ovario, etc.) mediante la utilización del suero, líquido peritoneal, fluido folicular o de biopsias de distintos tejidos.



**Figura 3. Efecto del fluido folicular en un modelo de angiogénesis in vivo (CAM, membrana corioalantoidea de embrión de codorniz).** **A)** Cuantificación de las bifurcaciones vasculares en el ensayo CAM. Los datos se expresaron como la mediana ± EMS (n=20); \*\*\*p<0,001. **B)** Imágenes representativas de las CAM incubadas (a) con fluidos foliculares de pacientes normales, (b) con fluidos foliculares de pacientes normales con el agregado de un anticuerpo neutralizante anti-ANGPT-1, (c) con fluidos foliculares de pacientes con alto riesgo a desarrollar SHEO y (d) con fluidos foliculares de pacientes con alto riesgo a desarrollar SHEO con el agregado de un anticuerpo neutralizante anti-ANGPT-1. **FF:** fluido folicular; **SHEO:** síndrome de hiperestimulación ovárica; **Ac ANGPT-1:** anticuerpo antiangiopoyetina-1.

## Referencias

- Risau W. Mechanisms of angiogenesis. *Nature*. 1997;386(6626):671-674.
- Yancopoulos GD, Davis S, Gale NW, Rudge JS, Wiegand SJ, Holash J. Vascular-specific growth factors and blood vessel formation. *Nature*. 2000;407(6801):242-248.
- Findlay JK. Angiogenesis in reproductive tissues. *J Endocrinol*. 1986;111(3):357-366.
- Otrock ZK, Mahfouz RA, Makarem JA, Shamseddine AI. Understanding the biology of angiogenesis: review of the most important molecular mechanisms. *Blood Cells Mol Dis*. 2007;39(2):212-220.
- Maisonpierre PC, Suri C, Jones PF, Bartunkova S, Wiegand SJ, Radziejewski C, et al. Angiopoietin-2, a natural antagonist for Tie2 that disrupts in vivo angiogenesis. *Science*. 1997;277(5322):55-60.
- Goede V, Schmidt T, Kimmina S, Kozian D, Augustin HG. Analysis of blood vessel maturation processes during cyclic ovarian angiogenesis. *Lab Invest*. 1998;78(11):1385-1394.
- Hazzard TM, Molskness TA, Chaffin CL, Stouffer RL. Vascular endothelial growth factor (VEGF) and angiopoietin regulation by gonadotrophin and steroids in macaque granulosa cells during the peri-ovulatory interval. *Mol Hum Reprod*. 1999;5(12):1115-1121.
- Heldin CH, Westermark B. Mechanism of action and in vivo role of platelet-derived growth factor. *Physiol Rev*. 1999;79(4):1283-1316.
- Sleer LS, Taylor CC. Cell-type localization of platelet-derived growth factors and receptors in the postnatal rat ovary and follicle. *Biol Reprod*. 2007;76(3):379-390.
- Abramovich D, Rodriguez CA, Hernandez F, Tesone M, Parborell F. Spatiotemporal analysis of the protein expression of angiogenic factors and their related receptors during folliculogenesis in rats with and without hormonal treatment. *Reproduction*. 2009;137(2):309-320.
- Abramovich D, Parborell F, Tesone M. Effect of a vascular endothelial growth factor (VEGF) inhibitory treatment on the folliculogenesis and ovarian apoptosis in gonadotropin-treated prepubertal rats. *Biol Reprod*. 2006;75(3):434-441.
- Parborell F, Abramovich D, Tesone M. Intrabursal administration of the antiangiopoietin 1 antibody produces a delay in rat follicular development associated with an increase in ovarian apoptosis mediated by changes in the expression of BCL2 related genes. *Biol Reprod*. 2008;78(3):506-513.
- Neulen J, Yan Z, Raczek S, Weindel K, Keck C, Weich HA, et al. Human chorionic gonadotropin-dependent expression of vascular endothelial growth factor/vascular permeability factor in human granulosa cells: importance in ovarian hyperstimulation syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 1995;80(6):1967-1971.
- Geva E, Jaffe RB. Role of vascular endothelial growth factor in ovarian physiology and pathology. *Fertil Steril*. 2000;74(3):429-438.
- Golan A, Ron-El R, Herman A, Soffer Y, Weinraub Z, Caspi E. Ovarian hyperstimulation syndrome: an update review. *Obstet Gynecol Surv*. 1989;44(6):430-440.
- Pellicer A, Albert C, Mercader A, Bonilla-Musoles F, Remohi J, Simon C. The pathogenesis of ovarian hyperstimulation syndrome: in vivo studies investigating the role of interleukin-1beta, interleukin-6, and vascular endothelial growth factor. *Fertil Steril*. 1999;71(3):482-489.
- Laven JS, Imani B, Eijkemans MJ, Fauser BC. New approach to polycystic ovary syndrome and other forms of anovulatory infertility. *Obstet Gynecol Surv*. 2002;57(11):755-767.
- Norman RJ, Davies MJ, Lord J, Moran LJ. The role of lifestyle modification in polycystic ovary syndrome. *Trends Endocrinol Metab*. 2002;13(6):251-257.
- Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome (PCOS). *Hum Reprod*. 2004;19(1):41-47.
- Agrawal R, Sladkevicius P, Engmann L, Conway GS,

- Payne NN, Bekis J, et al. Serum vascular endothelial growth factor concentrations and ovarian stromal blood flow are increased in women with polycystic ovaries. *Hum Reprod.* 1998;13(3):651-655.
21. Artini PG, Monti M, Matteucci C, Valentino V, Cristello F, Genazzani AR. Vascular endothelial growth factor and basic fibroblast growth factor in polycystic ovary syndrome during controlled ovarian hyperstimulation. *Gynecol Endocrinol.* 2006;22(8):465-470.
  22. Agrawal R, Jacobs H, Payne N, Conway G. Concentration of vascular endothelial growth factor released by cultured human luteinized granulosa cells is higher in women with polycystic ovaries than in women with normal ovaries. *Fertil Steril.* 2002;78(6):1164-1169.
  23. McClure N, Healy DL, Rogers PA, Sullivan J, Beaton L, Haning RV, Jr., et al. Vascular endothelial growth factor as capillary permeability agent in ovarian hyperstimulation syndrome. *Lancet.* 1994;344(8917):235-236.
  24. Abramovich D, Irusta G, Bas D, Cataldi NI, Parborell F, Tesone M. Angiopoietins/TIE2 System and VEGF Are Involved in Ovarian Function in a DHEA Rat Model of Polycystic Ovary Syndrome. *Endocrinology.* 2012;153(7):3446-3456.
  25. Cramer DW. Epidemiology and biostatistics. In: Berek JS, Hacker NF, ed. *Practical gynecology oncology.* Philadelphia: Williams and Wilkins, 2000.
  26. Beller U, Halle D, Catane R, Kaufman B, Hornreich G, Levy-Lahad E. High frequency of BRCA1 and BRCA2 germline mutations in Ashkenazi Jewish ovarian cancer patients, regardless of family history. *Gynecol Oncol.* 1997;67(2):123-126.
  27. Burke W, Daly M, Garber J, Botkin J, Kahn MJ, Lynch P, et al. Recommendations for follow-up care of individuals with an inherited predisposition to cancer. II. BRCA1 and BRCA2. *Cancer Genetics Studies Consortium. JAMA.* 1997;277(12):997-1003.
  28. Cohen LE. Cancer treatment and the ovary: the effects of chemotherapy and radiation. *Ann NY Acad Sci.* 2008;1135:123-125.
  29. Jain RK. Normalizing tumor vasculature with anti-angiogenic therapy: a new paradigm for combination therapy. *Nat Med.* 2001;7(9):987-989.
  30. Martin L, Schilder R. Novel approaches in advancing the treatment of epithelial ovarian cancer: the role of angiogenesis inhibition. *J Clin Oncol.* 2007;25(20):2894-2901.
  31. Burger RA, Sill M, Monk BJ. Phase II trial of Bevacizumab in persistent or recurrent epithelial ovarian cancer or primary peritoneal cancer: A Gynecologic Oncology Group study. *J Clin Oncol.* 2005;23.
  32. Hensley ML. Big costs for little gain in ovarian cancer. *J Clin Oncol.* 2011;29(10):1230-1232.
  33. Lamalice L, Le Boeuf F, Huot J. Endothelial cell migration during angiogenesis. *Circ Res.* 2007;100(6):782-794.
  34. Albert C, Garrido N, Mercader A, Rao CV, Remohi J, Simon C, et al. The role of endothelial cells in the pathogenesis of ovarian hyperstimulation syndrome. *Mol Hum Reprod.* 2002;8(5):409-418.
  35. Todaro GJ, Lazar GK, Green H. The initiation of cell division in a contact-inhibited mammalian cell line. *J Cell Physiol.* 1965;66(3):325-333.
  36. Scotti L, Abramovich D, Pascuali N, de Zuñiga I, Oubina A, Kopcow L, et al. Involvement of the ANGPTs/Tie-2 system in ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS). *Mol Cell Endocrinol.* 2013;365(2):223-230.
  37. von Otte S, Paletta JR, Becker S, König S, Fobker M, Greb RR, et al. Follicular fluid high density lipoprotein-associated sphingosine 1-phosphate is a novel mediator of ovarian angiogenesis. *J Biol Chem.* 2006;281(9):5398-5405.
  38. Tan BK, Adya R, Farhatullah S, Chen J, Lehnert H, Randeve HS. Metformin treatment may increase omentin-1 levels in women with polycystic ovary syndrome. *Diabetes.* 2010;59(12):3023-3031.
  39. Agarwal A, Tressel SL, Kaimal R, Balla M, Lam FH, Covic L, et al. Identification of a metalloprotease-chemokine signaling system in the ovarian cancer microenvironment: implications for antiangiogenic therapy. *Cancer Res.* 2010;70(14):5880-5890.
  40. Levin ER, Rosen GF, Cassidenti DL, Yee B, Meldrum D, Wisot A, et al. Role of vascular endothelial cell growth factor in Ovarian Hyperstimulation Syndrome. *J Clin Invest.* 1998;102(11):1978-1985.
  41. Rodewald M, Herr D, Duncan WC, Fraser HM, Hack G, Konrad R, et al. Molecular mechanisms of ovarian hyperstimulation syndrome: paracrine reduction of endothelial claudin 5 by hCG in vitro is associated with increased endothelial permeability. *Hum Reprod.* 2009;24(5):1191-1199.
  42. Burbridge MF, West DC. Rat Aortic Ring: 3D Model of Angiogenesis In Vitro. *Methods Mol Med.* 2001;46:185-204.
  43. Berndt S, Blacher S, Perrier S, Thiry M, Tsampalas M, Cruz A, et al. Chorionic gonadotropin stimulation of angiogenesis and pericyte recruitment. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009;94(11):4567-4574.
  44. Muthukkaruppan VR, Kubai L, Auerbach R. Tumor-induced neovascularization in the mouse eye. *J Natl Cancer Inst.* 1982;69(3):699-708.
  45. Passaniti A, Taylor RM, Pili R, Guo Y, Long PV, Haney JA, et al. A simple, quantitative method for assessing angiogenesis and antiangiogenic agents using reconstituted basement membrane, heparin, and fibroblast growth factor. *Lab Invest.* 1992;67(4):519-528.
  46. Johns A, Freay AD, Fraser W, Korach KS, Rubanyi GM. Disruption of estrogen receptor gene prevents 17 beta estradiol-induced angiogenesis in transgenic mice. *Endocrinology.* 1996;137(10):4511-4513.
  47. Berube M, Deschambeault A, Boucher M, Germain L, Petitclerc E, Guerin SL. MMP-2 expression in uveal melanoma: differential activation status dictated by the cellular environment. *Mol Vis.* 2005;11:1101-1111.
  48. Nap AW, Dunselman GA, de Goeij AF, Evers JL, Groot-huis PG. Inhibiting MMP activity prevents the development of endometriosis in the chicken chorioallantoic membrane model. *Hum Reprod.* 2004;19(10):2180-2187.
  49. Kunzi-Rapp K, Ruck A, Kaufmann R. Characterization

- of the chick chorioallantoic membrane model as a short-term in vivo system for human skin. *Arch Dermatol Res.* 1999;291(5):290-295.
50. Katoh M, Nakada K, Miyazaki JI. Liver regeneration on chicken chorioallantoic membrane. *Cells Tissues Organs.* 2001;169(2):125-133.
51. Valdes TI, Kreutzer D, Moussy F. The chick chorioallantoic membrane as a novel in vivo model for the testing of biomaterials. *J Biomed Mater Res.* 2002;62(2):273-282.
52. Form DM, Auerbach R. PGE2 and angiogenesis. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1983;172(2):214-218.
53. Brooks PC, Montgomery AM, Cheresch DA. Use of the 10-day-old chick embryo model for studying angiogenesis. *Methods Mol Biol.* 1999;129:257-269.
54. Isachenko V, Mallmann P, Petrunkina AM, Rahimi G, Nawroth F, Hancke K, et al. Comparison of in vitro- and chorioallantoic membrane (CAM)-culture systems for cryopreserved medulla-contained human ovarian tissue. *PLoS One.* 2012;7(3):e32549.
55. Brooks PC, Clark RA, Cheresch DA. Requirement of vascular integrin alpha v beta 3 for angiogenesis. *Science.* 1994;264(5158):569-571.

Actualización

## La obesidad materna y la programación del fenotipo obeso

### *Maternal obesity and the programming of the obese phenotype*

Lic. María Belén Mazzucco y Dra. Verónica White

Laboratorio de Reproducción y Metabolismo. CEFYBO-CONICET, Buenos Aires, Argentina  
Paraguay 2155, piso 17 (1121) CABA - E-mail: vernica73@gmail.com

#### Resumen

La prevalencia de la obesidad se ha incrementado y extendido en toda la población sin distinción de edad, sexo, etnia o clase sociocultural. Año a año la cifra de adultos con sobrepeso y obesidad se incrementa, así como la incidencia de la morbilidad asociada. La abundancia de comidas rápidas, hipercalóricas y relativamente económicas, junto con el estilo de vida sedentario, han colaborado con el desarrollo del fenotipo obeso. Por otro lado y de manera alarmante, existe un aumento en la incidencia de la obesidad en niños menores de cinco años. En un intento de hallar la causa de este incremento, se ha estudiado y observado que los hijos de madres obesas presentan mayor incidencia de obesidad y sobrepeso, lo que indica que la obesidad es una alteración metabólica que se transmite de generación en generación. Se ha establecido que la exposición a un entorno metabólico alterado como la obesidad en etapas críticas del desarrollo “programa” alteraciones en los distintos órganos y sistemas que impactarán en el metabolismo del individuo durante el resto de su vida. En esta revisión se analizarán algunos de los diferentes mecanismos que se alteran durante el desarrollo y conforman las bases para el desarrollo del fenotipo obeso en la adultez.

**Palabras clave:** obesidad, programación perinatal, alteraciones metabólicas, sobrepeso.

#### Abstract

*The prevalence of obesity has extended in to the entire population regardless age, gender, ethnicity or socio-cultural class. Every year, the number of adults suffering from overweight and/or obesity increases, together*

*with the incidence of associated morbidity. The abundance of fast, hypercaloric and relatively cheap food, as well as a sedentary lifestyle, has contributed to the development of the obese phenotype. Furthermore, and alarmingly, there is an increased incidence of obesity in childhood. Moreover, it has been observed that children from obese mother have higher incidence of obesity, indicating that obesity is a metabolic disorder that is transmitted from one generation to the following. It has been established that the exposure to an altered metabolic environment at critical stages of the development, ‘programms’ many metabolic alterations in different organs and systems that will impact later in life. In this review we discuss some of these mechanisms that contribute to the development of the obese phenotype.*

**Key words:** obesity, perinatal programming, metabolic alterations, overweight.

#### Introducción

El sobrepeso y la obesidad son desórdenes metabólicos muy frecuentes en la actualidad. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS): “El sobrepeso y la obesidad se definen como una acumulación anormal o excesiva de grasa que puede ser perjudicial para la salud”. El índice de masa corporal (IMC) establece el estado energético de un individuo de acuerdo con su altura y peso en kg/m<sup>2</sup>. Según la OMS, los individuos con un IMC igual o superior a 25 son considerados con sobrepeso y por encima de 30, obesos (Tabla I). La obesidad ha alcanzado proporciones epidémicas a nivel mundial, y cada año mueren, como mínimo, 2.600.000 personas a causa de la obesidad o el sobrepeso. Aunque anteriormente se

consideraba un problema confinado a los países de altos ingresos, en la actualidad la obesidad también es prevalente en los países de ingresos bajos y medianos.

Insuficiencia ponderal	<18,5
Intervalo normal	18,5-24,9
Sobrepeso	>25
Obesidad	>30

**Tabla I.** Clasificación del IMC.

Fuente: <http://www.who.int/features/factfiles/obesity/es/>

Según los últimos informes de la OMS, el sobrepeso y la obesidad causan más muertes que la insuficiencia ponderal. El 44% de los casos mundiales de diabetes, el 23% de las cardiopatías isquémicas y el 7-41% de determinados cánceres son atribuibles al sobrepeso y la obesidad. De acuerdo con los informes de la OMS:

- En 2008, 1400 millones de adultos (de 20 y más años) tenían sobrepeso. Dentro de este grupo, más de 200 millones de hombres y cerca de 300 millones de mujeres eran obesos.
- En estudios realizados en 2012 se proyecta que para 2015 la cifra de adultos obesos superará los 1500 millones.
- Un dato por demás alarmante es que en 2012 se registraron más de 42 millones de menores de cinco años con sobrepeso.

Este crecimiento exponencial de la incidencia de la obesidad sugiere que la causa no podría ser atribuible únicamente a la transmisión génica, sino que serían causas ambientales las que determinarían este incremento. Una nutrición inadecuada, con alto contenido de grasa e hidratos de carbono, en conjunto con una vida sedentaria, estarían inclinando la balanza hacia un fenotipo obeso. Sin embargo, es notorio que la descendencia de madres con obesidad o sobrepeso tiene una mayor incidencia de obesidad, sobrepeso y alteraciones metabólicas (1, 2). Así como los hijos de mujeres que han desarrollado diabetes presentan mayor incidencia de alteraciones metabólicas respecto de los hermanos nacidos previamente al diagnóstico de la diabetes (3), los hijos de madres que incrementan su IMC entre un embarazo y otro presentan mayor peso al nacer y, consecuentemente, mayor riesgo de desarrollar alteraciones metabólicas (4). Asimismo, los hijos de madres obesas presentan mayor índice de alteraciones metabólicas que sus hermanos nacidos posteriormente a una cirugía bariátrica y a la recuperación de la salud metabólica materna (5). Esta

evidencia sugiere que es la exposición al entorno intrauterino de una mujer obesa o con sobrepeso, más que la transmisión génica, la que induce un mayor riesgo de desarrollar un fenotipo obeso. Estos individuos perpetuarán el fenotipo obeso ya que ellos mismos presentarán alteraciones metabólicas en la adultez que transmitirán a las futuras generaciones. La programación del desarrollo de alteraciones metabólicas ocurre durante el período intrauterino y posnatal temprano. En los últimos años, el estudio de la programación ha recibido gran atención. Algunos de los roles que cumplen distintos sistemas y órganos han sido esclarecidos y otros permanecen sin resolver.

### Rol de la placenta

La placenta es el órgano que vincula a la madre con el feto en desarrollo. En la placenta ocurre el intercambio de sustancias entre la sangre materna y fetal, que provee al feto de nutrientes, agua, oxígeno y demás sustancias necesarias para el correcto desarrollo y crecimiento. La regulación del transporte de nutrientes está relacionada con el crecimiento fetal y muchas veces con el crecimiento placentario, que está estrechamente ligado al concepto de eficiencia placentaria (6). Se ha visto que la expresión y actividad de transportadores placentarios de nutrientes se incrementa en respuesta a las demandas fetales de crecimiento. Así, en situaciones normales, placentas pequeñas presentan alta expresión y actividad de transportadores de nutrientes, mientras que las más grandes presentan baja expresión y actividad transportadora (7). Esto sugiere que el feto está modulando de alguna manera la afluencia de nutrientes (8). Es lógico pensar que el feto module el propio pasaje de nutrientes de acuerdo con sus necesidades, y esto implica la modulación del tamaño placentario y la expresión de transportadores placentarios. Sin embargo, se ha observado que la disponibilidad y el ambiente endocrino materno también modulan el transporte de nutrientes (9, 10). La madre y el feto llegan a un acuerdo en el que la placenta es la mediadora y la proveedora de nutrientes y sustancias necesarias para el crecimiento y desarrollo fetal (11). Las alteraciones en el crecimiento fetal ocurren cuando la madre no puede cumplir con las demandas fetales o cuando, por alteraciones del entorno materno, el feto recibe más nutrientes de los necesarios. En este último caso, el feto debe almacenar de alguna manera el exceso de sustratos, lo que, como se explicará más adelante, conduce al desarrollo del fenotipo obeso.

Existen numerosos trabajos que describen la regulación placentaria del transporte de nutrientes. La mayor parte de la glucosa es transportada de manera dependiente de gradiente a través de GLUT-1, 2, 3 y una menor parte de manera dependiente de insulina a través

de GLUT-4 y 12. Los lípidos en circulación se hallan acompañados a macromoléculas con proteínas que son receptoradas por receptores específicos en la placenta. Luego, lipasas placentarias como la LPL (lipoproteína lipasa) y EL (lipasa endotelial) hidrolizan las macromoléculas lipídicas a ácidos grasos que son captados por la placenta por difusión o por proteínas transportadoras. Los aminoácidos son transportados por sistemas específicos con gasto energético como el sistema A (SNAT), L (LAT), tau (TAUT) e y+ (Y+AT). Factores mitogénicos como la insulina y los factores de crecimiento similar a insulina estimulan el transporte de aminoácidos (6).

Son muchos los trabajos que relacionan el perfil hormonal materno y fetal con el transporte placentario de nutrientes, y aunque hay muchos estudios sobre el efecto de diferentes hormonas en la expresión y actividad de transportadores placentarios, es difícil discriminar entre los efectos que tienen las hormonas provenientes de circulación materna y los que tienen las provenientes de circulación fetal (9, 12).

La insulina, una de las hormonas que varía con el estado nutricional, incrementa el transporte de lípidos y aminoácidos (6). El tratamiento de explantos placentarios con insulina induce un incremento del transporte de aminoácidos y combinada con hiperglucemia induce un incremento en la actividad de la LPL, adjudicando un rol a la insulina materna (10, 13). La placenta también expresa receptores de insulina en la vasculatura, de cara a la circulación fetal (14). La infusión fetal de insulina en monos genera, además de crecimiento fetal, un incremento en el crecimiento placentario, lo que sugiere un rol para la insulina fetal (15).

Es interesante resaltar que otra hormona ligada a la homeostasis energética, como la leptina, también induce variaciones en el transporte placentario de nutrientes. Se ha observado una inducción del transporte de aminoácidos en placenta humana, lo que establece un rol para la leptina materna. El endotelio placentario también expresa receptor de leptina (16). Se ha observado un incremento de la expresión de LPL posadministración fetal de leptina, lo que le adjudica un rol a la leptina fetal (17).

En las últimas etapas de la gestación, caracterizada por la resistencia fisiológica a insulina, la insulinemia y la leptinemia se encuentran incrementadas, la primera debido a la resistencia a la insulina, y la segunda debido a la mayor producción de leptina por los adipocitos y la placenta. La obesidad eleva aún más los niveles de ambas hormonas, la insulina por la exacerbación de la resistencia a insulina y la leptina, debido a la gran cantidad de masa adipocitaria y al estímulo que induce la insulina en la producción placentaria de leptina. (18-20). La hiperleptinemia, junto con la resistencia a la insulina,

característica de la obesidad, incrementa la disponibilidad de lípidos maternos en circulación (21). Por otra parte, el feto también produce leptina e insulina y sus niveles se incrementan en modelos de obesidad (17, 22). En conjunto, la placenta en gestaciones complicadas por la obesidad, se encuentra inmersa en un ambiente con altas concentraciones de lípidos, leptina e insulina, las que incrementan el transporte de aminoácidos y lípidos hacia el feto en desarrollo, lo que sustentaría el crecimiento fetal y promovería el desarrollo del fenotipo obeso.

El incremento en la afluencia de nutrientes a través de la placenta, especialmente de lípidos, es frecuente en madres obesas y modelos de obesidad. En la placenta de modelos de obesidad se han observado incrementos en la expresión y la actividad de los transportadores placentarios de lípidos, glucosa y aminoácidos, ligados a un incremento del crecimiento fetal y a la hiperlipidemia (17, 22).

En algunos casos, la obesidad o la dieta grasa generan alteraciones en la angiogénesis placentaria. La incorrecta morfogénesis de los vasos placentarios induce alteraciones en el pasaje de sustancias al feto en desarrollo, con efectos nocivos en el crecimiento fetal. En ratas alimentadas con dieta grasa, y ligado al estrés oxidativo, se han encontrado áreas de necrosis placentaria, con la consecuente disminución del peso placentario y fetal (23). En estos casos, la obesidad induce una disminución de la eficiencia placentaria atribuible a alteraciones en la vasculatura de la placenta, que conduce al retraso del crecimiento intrauterino (24).

La evidencia sugiere que la obesidad, en la mayoría de los casos, induce un incremento en el crecimiento fetal ligado a un aumento del tamaño o transporte placentario. Los individuos gestados bajo estas condiciones nacen con peso elevado para la edad gestacional. Sin embargo, en otros casos, cuando la morfogénesis placentaria se altera en perjuicio del flujo sanguíneo placentario, la eficacia placentaria disminuye, el feto no recibe los nutrientes que demanda y se observa restricción del crecimiento intrauterino. Los individuos gestados bajo estas condiciones nacen pequeños para su edad gestacional. Sin embargo, en términos de programación a largo plazo, el recién nacido pequeño y el grande para edad gestacional presentan similares probabilidades de desarrollar el fenotipo obeso. El rápido crecimiento posnatal compensatorio en el individuo pequeño para la edad gestacional programará alteraciones del metabolismo con el mismo resultado que las programadas por el exceso intrauterino de nutrientes (25).

En los párrafos subsiguientes se detallarán algunos de los mecanismos que programan la obesidad en la etapa adulta de aquellos individuos que, expuestos a un ambiente intrauterino de madre obesa, desarrollan peso adecuado o excesivo para la edad gestacional.

## Regulación del apetito

La regulación de la ingesta es compleja y abarca varios núcleos hipotalámicos. El núcleo arcuato (ARC), situado por encima de la eminencia media, se encuentra en una posición estratégica para la interacción con hormonas y péptidos indicadores del estado energético del individuo y reguladores de la homeostasis energética. En el ARC se encuentran las neuronas que coexpresan neuropéptido (NPY) y proteína relacionada con agutí (AgRP), ambos inductores del apetito y con efectos anabólicos. Además hay otro grupo de neuronas que coexpresan proopiomelanocortina (POMC) y transcripto regulado por cocaína y metanfetamina (CART), supresores del apetito y con efectos catabólicos. Las neuronas del ARC, también llamadas de primer orden, emiten sus proyecciones hacia otros núcleos hipotalámicos como el núcleo ventromedial (VMN), núcleo paraventricular (PVN) y núcleo dorsomedial (DMH) que contienen las neuronas de segundo orden que propagarán las señales que luego se transmitirán al resto del organismo. La desregulación de la producción de alguno de estos péptidos, como así también de la interacción morfológica entre las neuronas que los transmiten, generará alteraciones en la regulación de la saciedad y la homeostasis energética (26).

Las neuronas del ARC expresan receptor de leptina y receptor de insulina. La insulina se produce en respuesta a la ingesta de carbohidratos, siendo así un indicador de la biodisponibilidad de glucosa del individuo. La leptina se produce en respuesta a la acumulación de lípidos y se correlaciona con la masa grasa total del individuo. Estas dos hormonas atraviesan la barrera hematoencefálica a través de un sistema específico y saturable e impactan en el ARC inhibiendo la producción de AgRP y de NPY y estimulando la de POMC y de CART (26, 27). Las alteraciones en la biodisponibilidad de leptina e insulina son responsables de la desregulación de la ingesta y el gasto energético, es por esto que los niveles alterados de estas dos hormonas durante el período de morfogénesis del hipotálamo generan una anómala programación de la homeostasis energética (28, 29).

Se ha observado que durante el desarrollo existen incrementos de leptina circulante coincidentes con aumentos en la expresión hipotalámica de su receptor en determinadas ventanas del desarrollo. Se cree que estas variaciones serían determinantes para establecer los mecanismos de regulación necesarios para el establecimiento de un sistema de regulación de la homeostasis energética adecuada (30). La sobreadministración de leptina en el período posnatal temprano en roedores genera una expresión hipotalámica anómala de NPY, AgRP y POMC (31).

La expresión del receptor de insulina a nivel hipotalámico varía con el desarrollo. La insulina intervie-

ne en los procesos de la formación sináptica, la morfogénesis de las dendritas y la plasticidad (32). Se ha visto que la administración de insulina durante el desarrollo genera alteraciones morfológicas hipotalámicas, hiperinsulinemia y obesidad (29). La sobreexposición a esta hormona en momentos críticos del desarrollo programa al ARC para que en la adultez, la insulina produzca un efecto estimulador sobre la producción de NPY en lugar del mecanismo normal de inhibición, programando en el individuo la hiperfagia y la obesidad (33). Se cree que la resistencia a la insulina hipotalámica está relacionada con una hipermetilación de POMC que es crítica para la regulación de POMC por leptina e insulina (34).

Según la especie, el completo desarrollo de estos centros y su interrelación ocurre en distintos momentos de la vida perinatal y se completa durante la lactancia. Las crías de madres obesas están expuestas a altas concentraciones de leptina, azúcares, grasas e insulina provenientes de la circulación materna durante la gestación y de la leche materna durante la lactancia y como consecuencia, presentan hiperfagia, obesidad y una desensibilización a la inducción de la saciedad por leptina (35). La exposición durante la gestación y la lactancia a dietas maternas con alto contenido graso predisponen a la cría a la hiperfagia y a la preferencia por la "comida chatarra" (36), así como la obesidad y resistencia a insulina (37). El período crítico parece ser el de la lactancia, sin embargo, trabajos desarrollados con crías de madre obesa amamantadas por ratas delgadas muestran alteraciones hipotalámicas consistentes con la programación del fenotipo obeso, lo que indica que las alteraciones tienen su inicio durante la vida fetal (38, 39).

## Alteraciones hepáticas

La descendencia de ratas obesas, con sobrepeso o alimentadas con dietas de alto contenido graso, presentan el síndrome de hígado graso no alcohólico, definido por un incremento en la deposición de lípidos, la presencia de vacuolas lipídicas, fibrosis y alteración de la función hepática. Este síndrome, que es tal vez la manifestación hepática del síndrome metabólico, se desarrolla en varios modelos de obesidad (40-42); en modelos de obesidad en monos, las crías también presentan hígado graso, indicador temprano del desarrollo del síndrome de hígado graso no alcohólico (43). Las alteraciones hepáticas de la descendencia se programan de manera perinatal, asociadas a alteraciones en la presión sanguínea, ritmo cardíaco y a un incremento en la colesterolemia (40, 44). Durante la gestación, las crías de ratas alimentadas con dieta grasa presentan un incremento en el contenido de triglicéridos en el hígado asociado a incrementos en la insulinemia, leptinemia, trigliceridemia y colesterolemia, así como anomalías

hepáticas en la respuesta a la leptina, indicando que la programación comienza durante la vida fetal (17). Las crías de ratas alimentadas con dieta palatable, que en la vida adulta son alimentadas con dieta estándar presentan también hígado graso indicando que la programación es irreversible para la intervención alimenticia en los modelos estudiados (41).

Estudiando las posibles causas de esta acumulación tóxica de lípidos en el hígado, se ha encontrado que ésta se asocia a la resistencia a la insulina, a la disminución de la expresión de los transportadores de glucosa, y a un incremento en la expresión de la proteína de unión al elemento regulador de esterol (SREBP-1), potente activador de la transcripción de genes intervinientes en la lipogénesis (45). Las crías de ratonas obesas desarrollan hígado graso asociado a un incremento en la expresión de genes intervinientes en la lipogénesis y en la inflamación, relacionado con la resistencia a la insulina, además de una disminución en la actividad respiratoria mitocondrial (46). El incremento en la lipogénesis y la disminución de la lipólisis han sido observados por varios grupos de trabajo y están ligados al incremento de la expresión de SREBP-1 y a la disminución de la expresión y actividad de PPAR $\alpha$ , (receptor activado por proliferadores peroxisomales alfa), factor de transcripción involucrado en el catabolismo de lípidos (45, 47). Estas alteraciones parecen estar relacionadas en todos los casos con baja respuesta a la insulina evidenciada por índices de insulinoresistencia como el HOMA, hiperinsulinemia y altas concentraciones plasmáticas de lípidos (17, 41, 45). El análisis de los caminos de señalización a insulina muestran una disminución en la expresión de la subunidad  $\beta$  del receptor de insulina, del sustrato del receptor de insulina (IRS-1), de la proteína p-85 $\alpha$  y un incremento de la proteína-quinasa C (48), lo que indica la programación de la desensibilización a insulina en el hígado de la descendencia de rata alimentada con dieta grasa.

### Alteraciones en el músculo esquelético

Si bien la descendencia de mujeres con sobrepeso, obesas y de modelos de obesidad o sobrepeso presenta un incremento del IMC, el análisis detallado de la composición corporal revela un incremento del porcentaje de grasa en detrimento de la masa muscular magra (20, 48-50). Las crías de ratas alimentadas con “comida chatarra” presentan un incremento de la infiltración adipocitaria en las fibras musculares, concomitante con una disminución en la sensibilidad a insulina y tolerancia a la glucosa, probablemente debido a una disminución del receptor de insulina en músculo esquelético y de GLUT-4 (51). La ruptura de la cascada de señalización del receptor de insulina se ha observado también en la descendencia de un modelo de obesidad en ovejas.

Los fetos de ovejas obesas presentan un incremento de la infiltración adipocitaria muscular, menor número de fibras musculares, incremento de la adipogénesis y una disminución de la fosforilación de las proteínas blanco del receptor de insulina a pesar de un incremento en la insulinemia fetal (52). De forma congruente, la disminución en la expresión y fosforilación de los componentes de la señalización del receptor de insulina en el músculo se ha observado también en la descendencia de ratones hembra obesas (53). Un incremento en la masa de tejido adiposo infiltrado en el tejido muscular, junto con una disminución del desarrollo de las fibras musculares, resistencia a la insulina e hiperinsulinemia, son denominadores comunes en diferentes modelos de obesidad, junto con un incremento en la adipogénesis en detrimento de la miogénesis (54). Estas características se exacerban cuando la cría es expuesta nuevamente a una dieta con alto contenido de grasa (54, 55).

Entonces, la infiltración adipocitaria intramuscular comenzaría durante la vida intrafetal y probablemente, asociada a la producción de citoquinas proinflamatorias, generaría resistencia a la insulina, lo que contribuiría a la programación del fenotipo obeso (52).

### Tejido adiposo

El incremento en el peso materno, así como el IMC previo al embarazo, se correlacionan con la aparición de macrosomía y el incremento del IMC en neonatos, niños y adultos en la descendencia. Además, se ha establecido que el incremento del IMC es causado por un aumento de la masa del tejido graso en el humano (20, 50, 56, 57). El tejido adiposo es el único tejido que tiene capacidad indefinida de crecimiento. El incremento inducido por la dieta en la cantidad de adipocitos es irreversible a pesar de la intervención con dieta saludable (58). La descendencia de ratas obesas presenta un incremento en la concentración sérica de lípidos, leptina, insulina y un incremento en el número y tamaño de los adipocitos (49). El exceso de nutrientes, transferido desde la madre durante el desarrollo gestacional o posnatal temprano, induce un incremento en la masa adiposa ya que glucosa y lípidos son almacenados en forma de lípidos en el tejido adiposo. El incremento del tejido adiposo es inducido por genes activadores de la adipogénesis como PPAR $\gamma$ . Se ha encontrado un incremento en la expresión de este gen y una disminución en la expresión de adrenoreceptores  $\beta_2$  y  $\beta_3$ , ambos inductores de la lipólisis en la descendencia de ratas obesas (55). Asimismo, en fetos de oveja alimentada con dieta hipercalórica se encontró un incremento en la expresión de LPL, leptina y PPAR $\gamma$  (59), genes involucrados en la adipogénesis y/o la lipogénesis. El incremento en la adiposidad y en la expresión de leptina se mantiene de manera posnatal y

los niveles de insulina se correlacionan con la expresión de PPAR $\gamma$  (51, 60). La insulina induce la expresión y actividad del factor de transcripción ADD1 (factor de diferenciación y determinación adipocitaria 1) y SREBP-1, que estimularían la adipogénesis a través de PPAR $\gamma$  y la incorporación de lípidos y la lipogénesis a través de la sintasa de ácidos grasos y la LPL; además, ADD1 y SREBP-1 estimulan la expresión de leptina (61, 62). Es así como el incremento en la afluencia de nutrientes, fácilmente almacenables como lípidos, junto con la hiperinsulinemia, incrementan la adiposidad y programan un aumento de la cantidad de adipocitos, junto con el aumento de la leptinemia que, como se ha detallado, impacta en la regulación de la homeostasis energética. Más aún, la hipertrofia adipocitaria induce la secreción de citoquinas proinflamatorias involucradas en la resistencia periférica a insulina, lo que incrementaría aún más la insulinemia (62). Estudios a largo plazo en la descendencia de madres alimentadas con dieta grasa muestran el traspaso generacional del fenotipo obeso cuando las cuatro generaciones subsiguientes prosiguen alimentándose con la misma dieta. Estas ratas presentan hipertrofia adipocitaria, hiperlipidemia, niveles incrementados de insulina, leptina y algunas citoquinas inflamatorias como el TNF $\alpha$  (factor de necrosis tumoral) involucradas en la resistencia a la insulina, lo que indica que la exposición a dietas con alto contenido de lípidos perpetúa el fenotipo obeso (63).

### Función pancreática

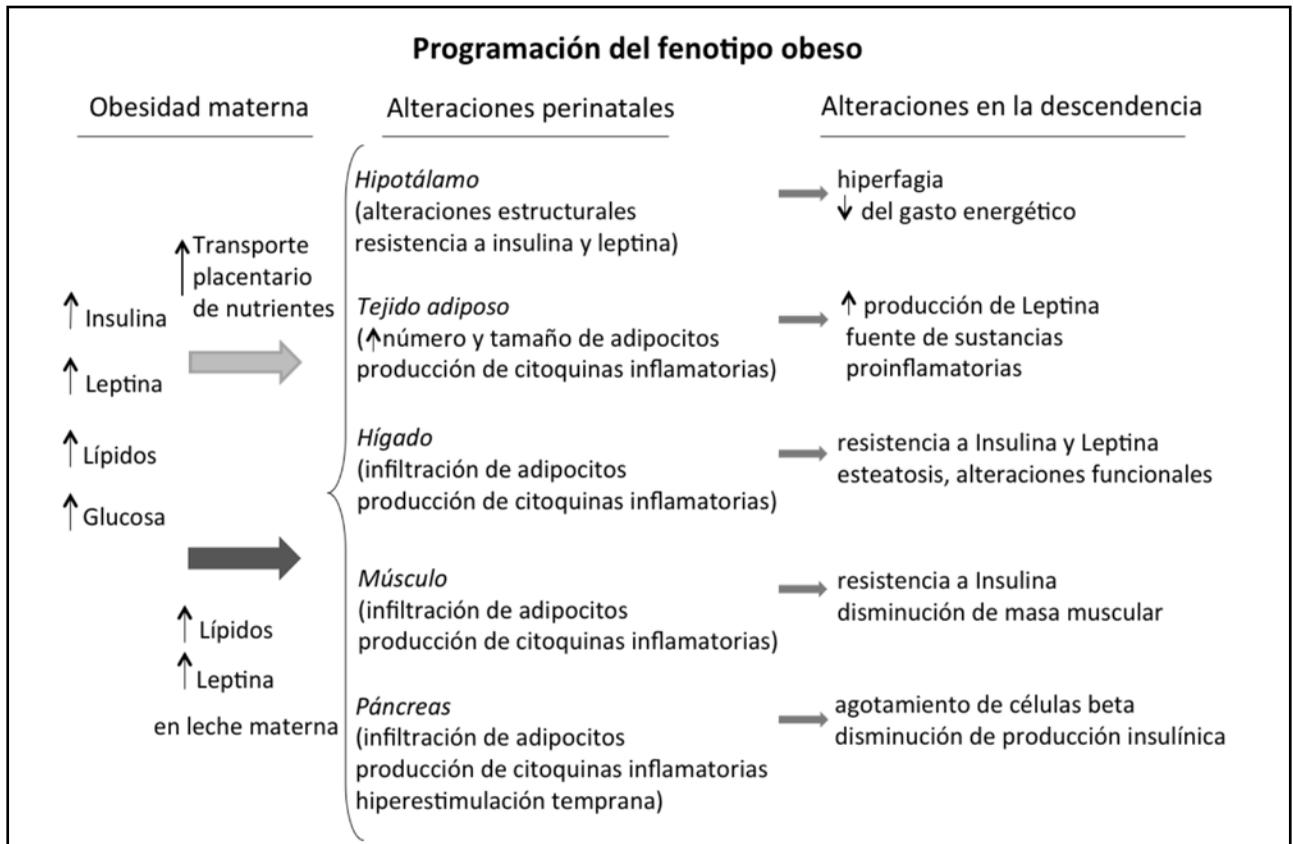
Además de modular la ingesta a nivel hipotalámico la insulina modula la entrada de glucosa en las células, estimula la formación de glucógeno y el almacenamiento de lípidos en el tejido adiposo entre tantas otras funciones anabólicas. Para el cumplimiento de este rol de manera exitosa se requiere de una adecuada producción insulínica frente al estímulo (glucosa y diversos péptidos intestinales estimulados por nutrientes) y una recepción y respuesta adecuada en las células blanco. La exposición a altas concentraciones de nutrientes transferidos desde la madre son un estímulo para el páncreas que produce altas concentraciones de insulina durante la vida fetal y posnatal temprana (17, 64). Como hemos mencionado, la hiperinsulinemia fetal y posnatal altera la programación de la homeostasis energética y programa al individuo para desarrollar obesidad. En humanos se ha estudiado la relación entre el estado energético de la madre y del feto y de la insulinemia neonatal. Los estudios de la glucemia e insulinemia neonatal señalan que el IMC materno se correlaciona con la insulinemia neonatal y está asociado a la resistencia a la insulina neonatal (20).

Se han observado numerosas anomalías en la función y estructura pancreática de la descendencia de

ratas alimentadas con dietas de alto contenido de grasa. Se ha observado un incremento de la insulinemia fetal que persiste en el período posnatal, probablemente debido a un incremento en la transcripción de pre-proinsulina y de los inductores de su expresión PDX-1 (*pancreatic duodenal homeobox transcription factor-1*), HNF3 $\beta$  (*hepatocyte nuclear factor 3 $\beta$* ) y BETA2 ( $\beta$ 2/NeuroD) (65). La descendencia de ratas gestadas y en especial amamantadas por madres obesas presenta acumulación de triglicéridos y sobreexpresión de colágeno pancreáticos, lo que indica la programación perinatal de alteraciones estructurales pancreáticas (66). En otros trabajos realizados con modelos similares, en los que se estudió la descendencia a largo plazo (6-12 meses) se ha observado desensibilización sistémica a insulina y disminución de la secreción pancreática de insulina estimulada por glucosa a pesar de un incremento en el contenido de gránulos secretorios de insulina (67, 68). En modelos de obesidad ovina se ha encontrado que los fetos presentan hiperinsulinemia, índices de sensibilidad a insulina disminuidos, hiperplasia pancreática y un incremento en el contenido pancreático de insulina y de células secretoras de insulina (69). Un trabajo posterior, realizado en el mismo modelo por el mismo grupo, muestra que los eventos tempranos desaparecen en el feto a término, que presenta una reducción en número de células  $\beta$ , un incremento de la apoptosis pancreática y una disminución de la insulinemia en el neonato, lo que indica un agotamiento temprano de la función pancreática (70).

### Conclusiones

Todo parece indicar que la exposición a un ambiente perinatal enriquecido en nutrientes se transfiere al feto a través de la placenta y la leche materna. En respuesta, el páncreas fetal y neonatal incrementa la producción insulínica. Sin embargo, el mismo incremento en la afluencia de nutrientes genera un aumento de la adiposidad, localizada en los sitios fisiológicos e infiltrada en órganos como el hígado, músculo y páncreas, induciendo anomalías funcionales en estos órganos. La hiperinsulinemia colabora con la hipertrofia adipocitaria que, debido a la producción de citoquinas inflamatorias, genera insulinoresistencia en los órganos insulino dependientes y colabora con la exacerbación de la hiperinsulinemia. El páncreas, inmerso en un entorno proinflamatorio, recibe el estímulo constante que generan los altos niveles circulantes de lípidos y finalmente se inflama y puede agotarse y disminuir la producción insulínica. La resistencia a la insulina y consecuente adiposidad altera la función hepática y disminuye la masa muscular lo que induce alteraciones en el metabolismo de lípidos y glucosa. Además, la hiperinsulinemia y el incremento en la adiposidad generan un incremento en la producción de leptina por el



**Figura 1.** Esquema de los mecanismos intervinientes y los efectos en la programación del fenotipo obeso.

tejido adiposo, placenta e hígado fetal y neonatal. La hiperleptinemia, junto con la gran producción de citoquinas proinflamatorias, induce resistencia a leptina central y periférica. La hiperleptinemia e hiperinsulinemia impactan en el hipotálamo en formación programando alteraciones que conducirán a la hiperfagia y la disminución del gasto energético. En conjunto, la obesidad materna programa un incremento de la adiposidad, resistencia a la insulina y leptina, alteraciones hepáticas, hiperfagia y disminución del gasto energético, lo que induce el fenotipo obeso en la descendencia (FIGURA 1).

### Referencias

1. Lake JK, Power C, Cole TJ. Child to adult body mass index in the 1958 British birth cohort: associations with parental obesity. *Archives of Disease in Childhood.* 1997;77(5):376-81.
2. Laitinen J, Power C, Jarvelin MR. Family social class, maternal body mass index, childhood body mass index, and age at menarche as predictors of adult obesity. *Am J Clin Nutr.* 2001;74(3):287-94.
3. Dabelea D, Hanson RL, Lindsay RS, Pettitt DJ, Imperatore G, Gabir MM, et al. Intrauterine exposure to diabetes conveys risks for type 2 diabetes and obesity: a study of discordant sibships. *Diabetes.* 2000;49(12):2208-11.
4. Villamor E, Cnattingius S. Interpregnancy weight change and risk of adverse pregnancy outcomes: a population-based study. *Lancet.* 2006; 30;368(9542):1164-70.
5. Kral JG, Biron S, Simard S, Hould FS, Lebel S, Marceau S, et al. Large maternal weight loss from obesity surgery prevents transmission of obesity to children who were followed for 2 to 18 years. *Pediatrics.* 2006;118(6):e1644-9.
6. Jones HN, Powell TL, Jansson T. Regulation of placental nutrient transport--a review. *Placenta.* 2007;28(8-9):763-74.
7. Coan PM, Angiolini E, Sandovici I, Burton GJ, Constanza M, Fowden AL. Adaptations in placental nutrient transfer capacity to meet fetal growth demands depend on placental size in mice. *J Physiol.* 2008;15;586(Pt 18):4567-76.
8. Fowden AL, Ward JW, Wooding FP, Forhead AJ, Constanza M. Programming placental nutrient transport capacity. *J Physiol.* 2006;1;572(Pt 1):5-15.
9. Jansson N, Nilfält A, Gellerstedt M, Wennergren M, Rossander-Hulthen L, Powell TL, et al. Maternal hormones linking maternal body mass index and dietary intake to birth weight. *Am J Clin Nutr.* 2008;87(6):1743-9.
10. Magnusson-Olsson AL, Hamark B, Ericsson A, Wennergren M, Jansson T, Powell TL. Gestational and hormonal regulation of human placental lipoprotein lipase. *Journal of Lipid Research.* 2006;47(11):2551-61.
11. Fowden AL, Moore T. Maternal-fetal resource allocation: co-operation and conflict. *Placenta.* 2012;33 Suppl 2:e11-5.
12. Jansson T, Cetin I, Powell TL, Desoye G, Radaelli T, Ericsson A, et al. Placental transport and metabolism in fetal overgrowth -- a workshop report. *Placenta.* 2006;27

- Suppl A:S109-13.
13. Karl PI, Alpy KL, Fisher SE. Amino acid transport by the cultured human placental trophoblast: effect of insulin on AIB transport. *The American Journal of Physiology*. 1992;262(4 Pt 1):C834-9.
  14. Hiden U, Lang I, Ghaffari-Tabrizi N, Gauster M, Lang U, Desoye G. Insulin action on the human placental endothelium in normal and diabetic pregnancy. *Curr Vasc Pharmacol*. 2009;7(4):460-6.
  15. Susa JB, McCormick KL, Widness JA, Singer DB, Oh W, Adamsons K, et al. Chronic hyperinsulinemia in the fetal rhesus monkey: effects on fetal growth and composition. *Diabetes*. 1979;28(12):1058-63.
  16. Akerman F, Lei ZM, Rao CV. Human umbilical cord and fetal membranes co-express leptin and its receptor genes. *Gynecol Endocrinol*. 2002;16(4):299-306.
  17. Mazzucco MB, Higa R, Capobianco E, Kurtz M, Jawerbaum A, White V. Saturated fat rich diet increases fetal lipids and modulates LPL and ObR expression in rat placentas. *The Journal of Endocrinology*. 2013;29;217(3):303-15.
  18. Misra VK, Trudeau S. The influence of overweight and obesity on longitudinal trends in maternal serum leptin levels during pregnancy. *Obesity (Silver Spring)* 2011;19(2):416-21.
  19. Coya R, Gualillo O, Pineda J, Garcia MC, Busturia MA, Aniel-Quiroga A, et al. Effect of cyclic 3',5'-adenosine monophosphate, glucocorticoids, and insulin on leptin messenger RNA levels and leptin secretion in cultured human trophoblast. *Biol Reprod*. 2001;65(3):814-9.
  20. Catalano PM, Presley L, Minium J, Hauguel-de Mouzon S. Fetuses of obese mothers develop insulin resistance in utero. *Diabetes Care*. 2009;32(6):1076-80.
  21. Misra VK, Trudeau S, Pemi U. Maternal serum lipids during pregnancy and infant birth weight: the influence of prepregnancy BMI. *Obesity (Silver Spring, Md.)* 2011;19(7):1476-81.
  22. Jones HN, Woollett LA, Barbour N, Prasad PD, Powell TL, Jansson T. High-fat diet before and during pregnancy causes marked up-regulation of placental nutrient transport and fetal overgrowth in C57/BL6 mice. *Faseb J*. 2008;30.
  23. Liang C, DeCourcy K, Prater MR. High-saturated-fat diet induces gestational diabetes and placental vasculopathy in C57BL/6 mice. *Metabolism: Clinical and Experimental*. 2010;59(7):943-50.
  24. Hayes EK, Lechowicz A, Petrik JJ, Storozhuk Y, Paez-Parent S, Dai Q, et al. Adverse fetal and neonatal outcomes associated with a life-long high fat diet: role of altered development of the placental vasculature. *PLoS One*. 2012;7(3):e33370.
  25. Barker DJ. Intra-uterine programming of the adult cardiovascular system. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 1997;6(1):106-10.
  26. Cripps RL, Martin-Gronert MS, Ozanne SE. Fetal and perinatal programming of appetite. *Clin Sci (Lond)*. 2005;109(1):1-11.
  27. Baura GD, Foster DM, Porte D, Jr., Kahn SE, Bergman RN, Cobelli C, et al. Saturable transport of insulin from plasma into the central nervous system of dogs in vivo. A mechanism for regulated insulin delivery to the brain. *J Clin Invest*. 1993;92(4):1824-30.
  28. Long NM, Ford SP, Nathanielsz PW. Maternal obesity eliminates the neonatal lamb plasma leptin peak. *J Physiol*. 2011;15;589(Pt 6):1455-62.
  29. Harder T, Plagemann A, Rohde W, Dörner G. Syndrome X-like alterations in adult female rats due to neonatal insulin treatment. *Metabolism*. 1998;47(7):855-62.
  30. Long NM, Ford SP, Nathanielsz PW. Maternal obesity eliminates the neonatal lamb plasma leptin peak. *The Journal of Physiology*. 2011;15;589(Pt 6):1455-62.
  31. Proulx K, Richard D, Walker CD. Leptin regulates appetite-related neuropeptides in the hypothalamus of developing rats without affecting food intake. *Endocrinology*. 2002;Dec;143(12):4683-92.
  32. Chiu SL, Cline HT. Insulin receptor signaling in the development of neuronal structure and function. *Neural Development*. 2010;15; 5:7.
  33. Davidowa H, Plagemann A. Insulin resistance of hypothalamic arcuate neurons in neonatally overfed rats. *Neuroreport*. 2007;26;18(5):521-4.
  34. Plagemann A, Harder T, Brunn M, Harder A, Roepke K, Wittrock-Staar M, et al. Hypothalamic proopiomelanocortin promoter methylation becomes altered by early overfeeding: an epigenetic model of obesity and the metabolic syndrome. *J Physiol*. 2009;15;587(Pt 20):4963-76.
  35. Kirk SL, Samuelsson AM, Argenton M, Dhonye H, Kalamatianos T, Poston L, et al. Maternal obesity induced by diet in rats permanently influences central processes regulating food intake in offspring. *PLoS One*. 2009;4(6):e5870.
  36. Bayol SA, Farrington SJ, Stickland NC. A maternal 'junk food' diet in pregnancy and lactation promotes an exacerbated taste for 'junk food' and a greater propensity for obesity in rat offspring. *Br J Nutr*. 2007;98(4):843-51.
  37. Nivoit P, Morens C, Van Assche FA, Jansen E, Poston L, Remacle C, et al. Established diet-induced obesity in female rats leads to offspring hyperphagia, adiposity and insulin resistance. *Diabetologia*. 2009;52(6):1133-42.
  38. Gupta A, Srinivasan M, Thamadilok S, Patel MS. Hypothalamic alterations in fetuses of high fat diet-fed obese female rats. *The Journal of Endocrinology*. 2009;200(3):293-300.
  39. Chang GQ, Gaysinskaya V, Karatayev O, Leibowitz SF. Maternal high-fat diet and fetal programming: increased proliferation of hypothalamic peptide-producing neurons that increase risk for overeating and obesity. *J Neurosci*. 2008;28(46):12107-19.
  40. Oben JA, Mouralidarane A, Samuelsson AM, Matthews PJ, Morgan ML, McKee C, et al. Maternal obesity during pregnancy and lactation programs the development of offspring non-alcoholic fatty liver disease in mice. *Journal of Hepatology*. 2010;52(6):913-20.
  41. Bayol SA, Simbi BH, Fowkes RC, Stickland NC. A maternal "junk food" diet in pregnancy and lactation promotes nonalcoholic Fatty liver disease in rat off-

- pring. *Endocrinology*. 2010;151(4):1451-61.
42. Giorgio V, Prono F, Graziano F, Nobili V. Pediatric non alcoholic fatty liver disease: old and new concepts on development, progression, metabolic insight and potential treatment targets. *BMC pediatrics*. 2013;25;13(1):40.
  43. McCurdy CE, Bishop JM, Williams SM, Grayson BE, Smith MS, Friedman JE, et al. Maternal high-fat diet triggers lipotoxicity in the fetal livers of nonhuman primates. *J Clin Invest*. 2009;119(2):323-35.
  44. Elahi MM, Cagampang FR, Mukhtar D, Anthony FW, Ohri SK, Hanson MA. Long-term maternal high-fat feeding from weaning through pregnancy and lactation predisposes offspring to hypertension, raised plasma lipids and fatty liver in mice. *Br J Nutr*. 2009;102(4):514-9.
  45. Gregorio BM, Souza-Mello V, Carvalho JJ, Mandarim-de-Lacerda CA, Aguila MB. Maternal high-fat intake predisposes nonalcoholic fatty liver disease in C57BL/6 offspring. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2010;203(5):495 e1-8.
  46. Bruce KD, Cagampang FR, Argenton M, Zhang J, Ethirajan PL, Burdge GC, et al. Maternal high-fat feeding primes steatohepatitis in adult mice offspring, involving mitochondrial dysfunction and altered lipogenesis gene expression. *Hepatology (Baltimore, Md.)*. 2009;50(6):1796-808.
  47. Shankar K, Kang P, Harrell A, Zhong Y, Marecki JC, Ronis MJ, et al. Maternal overweight programs insulin and adiponectin signaling in the offspring. *Endocrinology*. 2010;151(6):2577-89.
  48. Buckley AJ, Keseru B, Briody J, Thompson M, Ozanne SE, Thompson CH. Altered body composition and metabolism in the male offspring of high fat-fed rats. *Metabolism*. 2005;54(4):500-7.
  49. Shankar K, Harrell A, Liu X, Gilchrist JM, Ronis MJ, Badger TM. Maternal obesity at conception programs obesity in the offspring. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2008;294(2):R528-38.
  50. Mingrone G, Manco M, Mora ME, Guidone C, Iaconelli A, Gniuli D, et al. Influence of maternal obesity on insulin sensitivity and secretion in offspring. *Diabetes Care*. 2008;31(9):1872-6.
  51. Bayol SA, Simbi BH, Stickland NC. A maternal cafeteria diet during gestation and lactation promotes adiposity and impairs skeletal muscle development and metabolism in rat offspring at weaning. *J Physiol*. 2005;15;567(Pt 3):951-61.
  52. Yan X, Zhu MJ, Xu W, Tong JF, Ford SP, Nathanielsz PW, et al. Up-regulation of Toll-like receptor 4/nuclear factor-kappaB signaling is associated with enhanced adipogenesis and insulin resistance in fetal skeletal muscle of obese sheep at late gestation. *Endocrinology*. 2010;151(1):380-7.
  53. Shelley P, Martin-Gronert MS, Rowlerson A, Poston L, Heales SJ, Hargreaves IP, et al. Altered skeletal muscle insulin signaling and mitochondrial complex II-III linked activity in adult offspring of obese mice. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2009;297(3):R675-81.
  54. Simar D, Chen H, Lambert K, Mercier J, Morris MJ. Interaction between maternal obesity and post-natal over-nutrition on skeletal muscle metabolism. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2012;22(3):269-76.
  55. Samuelsson AM, Matthews PA, Argenton M, Christie MR, McConnell JM, Jansen EH, et al. Diet-induced obesity in female mice leads to offspring hyperphagia, adiposity, hypertension, and insulin resistance: a novel murine model of developmental programming. *Hypertension*. 2008;51(2):383-92.
  56. Jensen DM, Damm P, Sorensen B, Molsted-Pedersen L, Westergaard JG, Ovesen P, et al. Pregnancy outcome and pre-pregnancy body mass index in 2459 glucose-tolerant Danish women. *Am J Obstet Gynecol*. 2003;189(1):239-44.
  57. Sewell MF, Huston-Presley L, Super DM, Catalano P. Increased neonatal fat mass, not lean body mass, is associated with maternal obesity. *Am J Obstet Gynecol*. 2006;195(4):1100-3.
  58. Faust IM, Johnson PR, Stern JS, Hirsch J. Diet-induced adipocyte number increase in adult rats: a new model of obesity. *The American Journal of Physiology*. 1978;235(3):E279-86.
  59. Muhlhausler BS, Duffield JA, McMillen IC. Increased maternal nutrition stimulates peroxisome proliferator activated receptor-gamma, adiponectin, and leptin messenger ribonucleic acid expression in adipose tissue before birth. *Endocrinology*. 2007;148(2):878-85.
  60. Muhlhausler BS, Duffield JA, McMillen IC. Increased maternal nutrition increases leptin expression in perinatal and subcutaneous adipose tissue in the postnatal lamb. *Endocrinology*. 2007;148(12):6157-63.
  61. Kim JB, Sarraf P, Wright M, Yao KM, Mueller E, Solanes G, et al. Nutritional and insulin regulation of fatty acid synthetase and leptin gene expression through ADD1/SREBP1. *J Clin Invest*. 1998;101(1):1-9.
  62. Maiorana A, Del Bianco C, Cianfarani S. Adipose Tissue: A Metabolic Regulator. Potential Implications for the Metabolic Outcome of Subjects Born Small for Gestational Age (SGA). *Rev Diabet Stud*. 2007;4(3):134-46.
  63. Massiera F, Barbry P, Guesnet P, Joly A, Luquet S, Moreilhon-Brest C, et al. A Western-like fat diet is sufficient to induce a gradual enhancement in fat mass over generations. *Journal of Lipid Research*. 2010;51(8):2352-61.
  64. Carpenter MW, Canick JA, Star J, Carr SR, Burke ME, Shahinian K. Fetal hyperinsulinism at 14-20 weeks and subsequent gestational diabetes. *Obstetrics and Gynecology*. 1996;87(1):89-93.
  65. Srinivasan M, Aalinkeel R, Song F, Mitrani P, Pandya JD, Strutt B, et al. Maternal hyperinsulinemia predisposes rat fetuses for hyperinsulinemia, and adult-onset obesity and maternal mild food restriction reverses this phenotype. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2006;290(1):E129-E34.
  66. Oben JA, Patel T, Mouralidarane A, Samuelsson AM, Matthews P, Pombo J, et al. Maternal obesity programmes offspring development of non-alcoholic fatty pancreas disease. *Biochem Biophys Res Commun*. 2010;26;394(1):24-8.
  67. Taylor PD, McConnell J, Khan IY, Holemans K, Lawren-

- ce KM, Asare-Anane H, et al. Impaired glucose homeostasis and mitochondrial abnormalities in offspring of rats fed a fat-rich diet in pregnancy. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2005;288(1):R134-9.
68. Han J, Xu J, Epstein PN, Liu YQ. Long-term effect of maternal obesity on pancreatic beta cells of offspring: reduced beta cell adaptation to high glucose and high-fat diet challenges in adult female mouse offspring. *Diabetologia.* 2005;48(9):1810-8.
69. Ford SP, Zhang L, Zhu M, Miller MM, Smith DT, Hess BW, et al. Maternal obesity accelerates fetal pancreatic beta-cell but not alpha-cell development in sheep: prenatal consequences. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2009;297(3):R835-43.
70. Zhang L, Long NM, Hein SM, Ma Y, Nathanielsz PW, Ford SP. Maternal obesity in ewes results in reduced fetal pancreatic beta-cell numbers in late gestation and decreased circulating insulin concentration at term. *Domestic Animal Endocrinology.* 2011;40(1):30-9.

## Revisiones

### Alteraciones inmunológicas en endometriosis

#### *Immunological abnormalities in endometriosis*

Dra. Rosa Inés Barañao

*Instituto de Biología y Medicina Experimental-CONICET*

*Vuelta de Obligado 2490 (C1428ADN) CABA, Argentina - E-mail: inesbaranao@ibyme.conicet.gov.ar*

#### Resumen

La endometriosis es una patología ginecológica estrógeno-dependiente e inflamatoria que se define como la presencia de tejido endometrial fuera de la cavidad uterina.

¿Por qué en las pacientes con endometriosis el tejido endometrial ectópico no es eliminado por el sistema inmunológico?

En el presente trabajo se describe una serie de alteraciones en las distintas poblaciones leucocitarias, citoquinas y otros factores solubles reguladores de la respuesta inmunológica presentes en las pacientes con endometriosis.

Asimismo, se describen los mecanismos por los cuales estas alteraciones, no sólo favorecen la "tolerancia inmunológica" hacia los implantes endometriósicos, sino que, por el contrario, colaboran en el desarrollo de la enfermedad al estimular la proliferación y angiogénesis e inhibir la apoptosis del tejido endometrial ectópico.

**Palabras clave:** endometriosis, líquido peritoneal, tolerancia, macrófagos, citoquinas.

#### Abstract

*Endometriosis is a gynecological inflammatory estrogen dependent pathology that is defined as the presence of endometrial tissue outside the uterine cavity.*

*Why in patients with endometriosis the ectopic endometrial tissue is not eliminated by the immune system?*

*In this paper a series of abnormalities in different leukocyte populations, cytokines and other regulatory soluble factors of the immune response, present in patients with endometriosis, are described.*

*Also are described the mechanisms by which these changes, not only favor the "immunological tolerance" to endometriotic implants but on the contrary, collaborating in the development of the disease by stimulating the angiogenesis and proliferation and inhibit the apoptosis of ectopic endometrial tissue.*

**Key words:** *endometriosis, peritoneal liquid, tolerance, macrophages, cytokines.*

La endometriosis se define como la presencia de tejido endometrial fuera de la cavidad uterina. Es una enfermedad ginecológica benigna, inflamatoria y estrógeno-dependiente. Sus principales síntomas son el dolor pélvico agudo previo o intramenstrual y/o dolor crónico y la infertilidad(1). El dolor puede ser tan intenso que afecta la calidad de vida de la mujer, desde sus relaciones hasta sus actividades diarias y es además la tercera causa de hospitalización ginecológica(2,3).

Es una enfermedad que afecta a alrededor del 10-15% de las mujeres en edad reproductiva; existen alrededor de 200 millones de pacientes en el mundo y un millón en la Argentina. Sin embargo, es posible que la población afectada sea mucho mayor por ser una patología subdiagnosticada debido a que culturalmente se acepta como "normal" que las menstruaciones puedan ser muy dolorosas y porque la única manera de obtener un diagnóstico certero es mediante una laparoscopia(4). Las pacientes con endometriosis se presentan a la consulta generalmente por problemas de infertilidad (dado que entre el 50-80% de estas pacientes son infértiles) y se ha estimado que el retraso en el diagnóstico es de alrededor de 7 años(5).

Hasta el momento, la teoría más aceptada para explicar su etiología es la de la implantación propuesta por Sampson, que sugiere el paso de fluido menstrual retrógrado a través de las trompas de Falopio y su posterior implantación en la cavidad peritoneal, adjudicándole un origen eutópico a las lesiones endometriósicas(6). En ciertos aspectos, este mecanismo se asemeja al mecanismo de metástasis de células neoplásicas y es la razón por la que en el pasado a la endometriosis se la consideró como un “cáncer benigno”.

No obstante, la menstruación retrógrada es frecuente en la mayoría de las mujeres en edad reproductiva (76-90%), y han sido identificados fragmentos endometriales en mujeres con endometriosis y sin ella(7). Esto sugiere que existen otros factores que hacen posible la adherencia y el desarrollo de estos implantes sólo en un porcentaje restringido de mujeres que evidencian clínicamente esta patología.

Un mecanismo posible es que el tejido endometrial de las mujeres que desarrollan endometriosis posea características diferentes a las del tejido de las mujeres normales. Basándose en esta hipótesis, distintos autores han demostrado que el tejido endometrial de estas pacientes presenta una capacidad de proliferación y supervivencia incrementadas, lo que favorecería su persistencia y crecimiento en sitios ectópicos(8-10).

Sin embargo, hasta el momento existen interrogantes sin responder acerca de esta enigmática enfermedad: *¿Por qué el tejido endometrial ectópico no es eliminado de la cavidad peritoneal por el sistema inmunológico? ¿Qué alteraciones del sistema inmunológico presentan las pacientes con endometriosis?*

En un intento de responder estas preguntas, este trabajo se concentrará en las alteraciones inmunológicas en el ambiente peritoneal de las pacientes con endometriosis y su posible implicancia en el desarrollo de la enfermedad.

## **Alteraciones en las poblaciones leucocitarias**

### *Células presentadoras de antígenos*

Cuando un antígeno logra atravesar las barreras naturales del organismo y supera la respuesta inmunológica inespecífica, es captado por distintas células fagocíticas. Éstas los fragmentarán en pequeños péptidos que se ensamblarán a moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) y así, mediante el proceso de “presentación antigénica”, serán reconocidos por los linfocitos T de los ganglios linfáticos más cercanos dando inicio a una respuesta inmunológica específica.

Las principales células presentadoras de antígenos (CPA) son las células dendríticas, los macrófagos y los linfocitos B2.

Si el antígeno es extracelular, se ensamblará a

un antígeno de histocompatibilidad (HLA) de clase II y será presentado a los linfocitos T “*helper*” (Th) o colaboradores (cuya molécula característica de membrana es la CD4). Los linfocitos Th generarán una serie de citoquinas e inducirán una respuesta “inflamatoria” (Th1) o antiinflamatoria/tolerogénica” (Th2/Th3) de acuerdo con el tipo de antígeno presentado. Si se trata de un antígeno intracelular, los péptidos resultantes se ensamblarán en antígenos HLA de clase I y serán presentados a los linfocitos T citotóxicos (Tc) (cuyo marcador de membrana es la molécula CD8). Los linfocitos Tc generarán un tipo de respuesta inmune citotóxica.

**Células dendríticas:** con respecto a las células dendríticas (CD) en endometriosis, hasta el momento existe muy escasa bibliografía. En un artículo publicado por Tariverdian y cols.(11) sobre las distintas poblaciones de células inmunocompetentes en el líquido peritoneal de mujeres infértiles con endometriosis y sin ella, se muestra que en las mujeres con endometriosis existe una disminución de CD inmaduras (sobre todo en estadios avanzados). Estas CD inmaduras están implicadas principalmente en la vigilancia inmunológica y en la captura del antígeno de tejidos periféricos, por lo tanto, en estas pacientes esta función estaría disminuida.

Por otra parte, el grupo del Dr. Ian Fraser(12) ha demostrado que en el tejido endometrial ectópico existe un aumento de estas CD inmaduras. En este tejido, la principal función de estas células sería la de estimular la angiogénesis, como también se ha demostrado en un modelo murino de endometriosis(13).

Constan evidencias experimentales que avalan varios orígenes posibles para las CD. Existe un progenitor común con las células mieloides (CD34+CD13+) que bajo el estímulo de determinadas citoquinas puede generar dos tipos de poblaciones precursoras de CD: una dará origen a las células de Langerhans y la otra podrá diferenciarse a macrófagos o a CD carentes de gránulos. Por otra parte, el monocito sanguíneo bajo el estímulo del factor estimulante de colonias granulocítico-macrofágicas (GM-CSF) e interleuquina 4 (IL-4) puede dar origen a CD inmaduras. Finalmente, en presencia de los signos apropiados, los macrófagos pueden convertirse en CD(14).

En este sentido, se ha demostrado que el líquido peritoneal de pacientes con endometriosis estimula la diferenciación de monocitos hacia macrófagos y no hacia CD(15).

**Macrófagos:** en nuestras evaluaciones hemos observado que tanto las pacientes con endometriosis leve como aquellas con estadios avanzados de la enfermedad presentaban un significativo aumento de macrófagos peritoneales con respecto a las mujeres controles; alrededor del 90% de las células presentes en el líquido peritoneal eran macrófagos, sin embargo, esto era más evidente al

inicio de la enfermedad(16,17). Al mismo tiempo, encontramos que, de manera semejante, los macrófagos fagocíticos y metabólicamente activos estaban más aumentados en las pacientes con endometriosis leve, aunque permanecían significativamente elevados en estadios severos(16).

Inversamente, al evaluar los porcentajes de macrófagos peritoneales que expresaban antígenos HLA de clase II en su superficie (en particular HLA-DR), o sea, aquellos capaces de realizar una presentación antigénica, observamos que estaban significativamente disminuidos en las pacientes con endometriosis, independientemente del grado de la enfermedad(16).

Posteriormente otros autores(18,19) hallaron que existía una disminución de la expresión del HLA-DR en los macrófagos peritoneales de las pacientes con endometriosis y esto era coincidente con la disminución en los niveles de interferón gamma (IFN $\gamma$ ) en el líquido peritoneal(18).

Kyu-Sup Lee y cols.(20) demostraron que el agregado de líquido peritoneal de pacientes con endometriosis disminuye la expresión de HLA-DR y otras moléculas coestimuladoras como CD80 y CD86. Dichos autores trabajaron con cultivos de una línea celular monocítica/macrofágica (THP-1) y cultivos de células mononucleares periféricas de mujeres controles. Observaron que el líquido peritoneal de las pacientes sobre células normales llevaba la expresión de estos antígenos de superficie a porcentajes semejantes a los observados en endometriosis y sugirieron que este efecto está mediado por la IL-10.

Por otra parte, en nuestras evaluaciones hemos observado que los macrófagos peritoneales de pacientes con endometriosis producen cantidades significativamente más elevadas de IL-1 con relación a la producida por los macrófagos de mujeres normales. Este incremento es más evidente en los estadios leves de la enfermedad(16).

Coincidentemente con nuestras observaciones, otros autores(21) han sugerido que en los estadios tempranos de la endometriosis las lesiones proliferan de forma muy activa y los macrófagos están más activados. Por el contrario, cuando la enfermedad se hace crónica y las lesiones han alcanzado dimensiones macroscópicas, el crecimiento celular disminuye y la "actividad inflamatoria peritoneal disminuye".

Basándonos en estudios previos sobre el efecto de las hormonas sexuales esteroideas sobre la funcionalidad de macrófagos peritoneales murinos(22-24) y sabiendo que la endometriosis es una enfermedad estrógeno-dependiente, decidimos evaluar los niveles de estradiol en el líquido peritoneal de estas pacientes. Hallamos que la concentración peritoneal de estradiol en pacientes con endometriosis leve duplicaba la hallada en mujeres controles, y en pacientes con endometriosis avanzada, estos niveles centuplicaban los niveles normales. Si bien en estas pacientes los niveles de estrógenos no

están alterados en sangre periférica, corroboramos que el ambiente peritoneal hiperestrogénico sería un factor coadyuvante para el desarrollo de la enfermedad(25). Estos altos niveles de estrógenos podrían tener origen en la producción de este esteroide por parte del tejido endometrial ectópico(26) y también por los mismos macrófagos peritoneales puesto que se ha comprobado que ambos poseen la enzima aromataza P450(27,28).

Además, se ha demostrado que los macrófagos peritoneales de pacientes con endometriosis presentan una mayor expresión de receptores para estrógeno (ER $\alpha$  y ER $\beta$ )(29,30) y que son activados por el 17- $\beta$  estradiol, observándose no sólo una modificación en su morfología, sino en su funcionalidad(31).

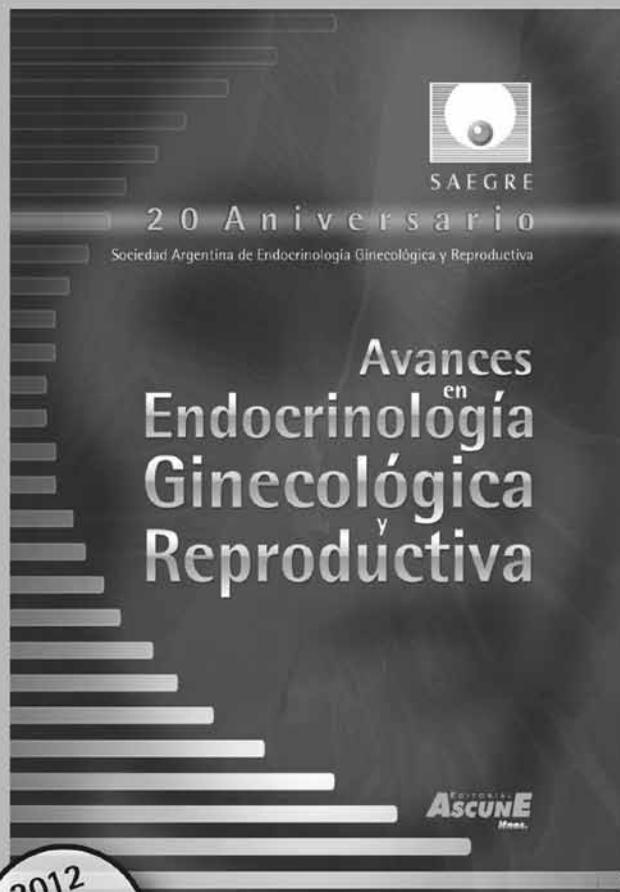
Estos datos apoyan nuestros resultados, puesto que las mayores alteraciones en cuanto al número, fagocitosis y producción de PGE<sub>2</sub> de los macrófagos peritoneales de las pacientes con endometriosis, independientemente del grado de la enfermedad, se producían en la fase folicular del ciclo menstrual, mientras que la producción de IL-1 era más elevada en la fase lútea(16).

Sharpe-Timms y cols. han identificado una proteína única, estructuralmente similar a la haptoglobina, en el líquido peritoneal de pacientes con endometriosis(32,33). Esta proteína se une a los macrófagos, reduce su capacidad de fagocitosis y aumenta su producción de IL-6.

Existe una amplia evidencia que apoya el concepto de que la endometriosis es una enfermedad inflamatoria pelviana. El microambiente peritoneal en estas pacientes es especialmente rico en prostaglandinas producidas principalmente por los macrófagos. En nuestros estudios hemos hallado que, si bien los niveles de PGE<sub>2</sub> aumentan en pacientes con endometriosis leve, en endometriosis severa estos niveles son mil veces mayores que los normales(34).

Estos mediadores probablemente juegan un papel central en la fisiopatología de la enfermedad, así como en secuelas clínicas del dolor y la infertilidad. Los macrófagos peritoneales de las mujeres con endometriosis expresan niveles más altos de la enzima ciclooxigenasa-2 (COX-2)(35). Además, la IL-1 $\beta$  promueve la activación de la COX-2 y aumenta la producción de PGE<sub>2</sub>(36) que activa la enzima aromataza(37,38). Estas últimas aumentan la producción de estradiol (E<sub>2</sub>) y éste estimula la síntesis de PGE<sub>2</sub>, completándose un bucle de retroalimentación positiva que promueve el aumento de la biodisponibilidad local de E<sub>2</sub>(39,40) (Figura 1). Esta vía destaca la interacción de la dependencia de estrógeno y la inflamación en la endometriosis.

La inflamación no sólo está presente en el microambiente peritoneal, sino también en el endometrio eutópico de las mujeres con endometriosis. Se



## SAEGRE || Nueva Edición Actualizada

La publicación de la segunda edición refleja claramente la evolución del texto, donde experimentados autores—muchos de ellos nuevos en los capítulos pero internacionalmente reconocidos—, han desarrollado los importantes adelantos en las ciencias reproductivas y su impacto en la práctica clínica. A pesar de la complejidad de los procesos involucrados, los autores han procurado abordar los temas manteniendo el ordenamiento lógico de la fisiología. Los capítulos del libro no descuidan el papel del laboratorio y los avances tecnológicos disponibles que han permitido profundizar los conocimientos sobre la salud, disfunción y enfermedad del sistema reproductivo.

**Precio lanzamiento || \$ 520**

Gastos de envío por  
Encomienda Correo Argentino Certificada **\$ 40**

1168 páginas || 20 x 28 cm || Tapa dura

### EDITORIAL ASCUNE HNOS.

VENTA TELEFÓNICA CON TARJETA DE CRÉDITO, CHEQUE, TRANSFERENCIA  
BANCARIA O GIRO POSTAL A NOMBRE DE HERNÁN DIEGO ASCUNE  
Bulnes 1985, 2º 5 (1425), Buenos Aires, Argentina, Telefax: (54-11) 4823-3190 / 4829-9601  
E-mail: [info@editorialascune.com](mailto:info@editorialascune.com) [www.editorialascune.com](http://www.editorialascune.com)

EDITORIAL  
**ASCUNE**  
Hnos.

## PARA AGENDAR

**IX CONGRESO ARGENTINO  
DE ENDOCRINOLOGÍA GINECOLÓGICA Y REPRODUCTIVA**

**VIII ENCUENTRO LATINOAMERICANO DE ENDOCRINOLOGÍA  
GINECOLÓGICA Y REPRODUCTIVA**

**27, 28 Y 29 DE ABRIL 2014**

**PANAMERICANO HOTEL DE BUENOS AIRES**

# DESIRÉ®

DIENOGEST 2 mg

Desear estar mejor

## Tratamiento específico de la endometriosis

- Disminuye los síntomas de la endometriosis <sup>(1)</sup> y el dolor pélvico asociado <sup>(2)</sup>
- Mejora temprana de la signosintomatología asociada <sup>(2)</sup>
- Eficaz en el tratamiento a largo plazo <sup>(3-4)</sup>
- Reduce las lesiones endometriósicas <sup>(1)</sup>
- Actividad antiproliferativa <sup>(5)</sup>, antiangiogénica <sup>(6)</sup> e inmunoreguladora <sup>(5)</sup>
- Efectividad comparable a los GnRH, con un perfil de seguridad y tolerabilidad adecuados <sup>(7)</sup>
- Cómoda posología: una toma diaria
- Costo de tratamiento más accesible



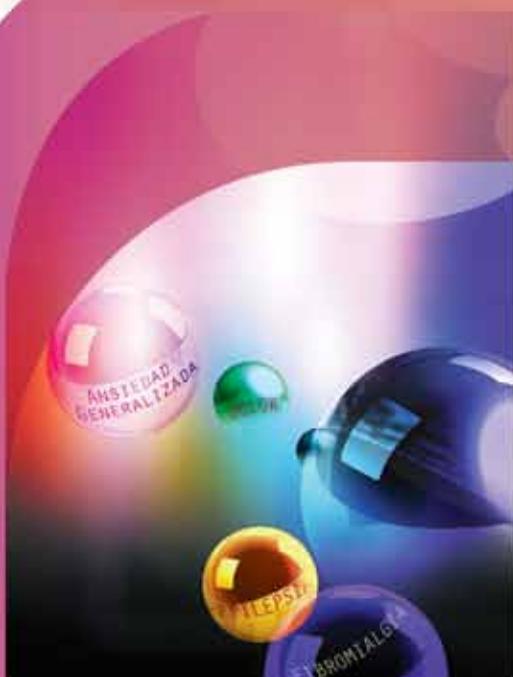
Calidad Gador

1) Kohler G, et al. A dose-ranging study to determine the efficacy and safety of 1, 2, and 4mg of dienogest daily for endometriosis. Int J Gynaecol Obstet 2010; 108: 21-25. 2) Strowitzki T, et al. Dienogest in the treatment of endometriosis-associated pelvic pain: a 12-week, randomized, double-blind, placebo-controlled study. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 2010; 151: 193-198. 3) Petraglia F, et al. Reduced pelvic pain in women with endometriosis: efficacy of long-term dienogest treatment. Arch Gynecol Obstet (2012) 285:167-173. 4) Schindler AE, et al. Dienogest in long-term treatment of endometriosis. International Journal of Women's Health 2011; 3: 175-184. 5) Katsuki Y, et al. Effects of dienogest, a synthetic steroid, on experimental endometriosis in rats. European Journal of Endocrinology 1998; 138: 216-226. 6) Nakamura M, et al. Dienogest, a synthetic steroid, suppresses both embryonic and tumor-cell-induced angiogenesis. Eur J Pharmacol 1999; 386: 33-40. 7) Strowitzki T, et al. Dienogest is as effective as leuprolide acetate in treating the painful symptoms of endometriosis: a 24-week, randomized, multicentre, open-label trial. Hum Reprod 2010; 25(3): 633-641.



# gavin®

Pregabalina 25, 50, 75, 150, 300 mg



## UNA MOLÉCULA TRANSNOSOLÓGICA

**Eficacia establecida en  
las siguientes indicaciones  
aprobadas:**

Dolor neuropático  
periférico y central

Fibromialgia

Trastorno de Ansiedad  
Generalizada (TAG)

Epilepsia como terapia  
adjunta de las crisis  
parciales con o sin  
generalización secundaria

PRESENTACIONES:

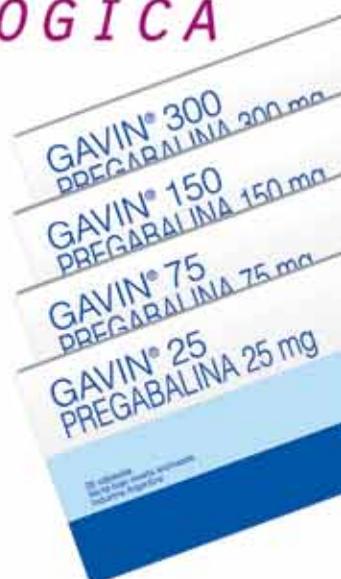
**GAVIN 75:**

Envases con 14 y 28  
cápsulas conteniendo  
75 mg de pregabalina.

Envases con 30  
comprimidos birranurados  
conteniendo 75 mg  
de pregabalina.

**GAVIN 25 - 50 - 150 - 300:**

Envases con 28 cápsulas  
conteniendo 25, 50, 150 y  
300 mg de pregabalina.



### NUEVAS PRESENTACIONES

Gavin 50 x  
**28 cápsulas**

Gavin 75 x  
**30 comprimidos  
birranurados**



Gador   
Al Cuidado de la Vida

<http://www.gador.com.ar>



ZOELY® – la píldora hecha de una combinación innovadora de hormonas – está acá.

zoely®  
acetato de nomegestrol/estradiol  
2.5 mg/1.5 mg en tabletas



**Una combinación innovadora de dosis bajas de hormonas que trabajan juntas de manera única.**

**Cada píldora activa es una combinación de:**

- Acetato de nomegestrol, un progestágeno altamente selectivo derivado de la progesterona.<sup>2</sup>
- 17β-estradiol, estructuralmente idéntico al estrógeno endógeno.<sup>2</sup>

**ZOELY cuenta con eficacia demostrada.<sup>2</sup>**

- Eficacia mayor al 99 %.<sup>2</sup>
- Dosificación óptima 24/4.<sup>2,3</sup>

**Los períodos menstruales son cortos y tolerables con ZOELY.<sup>2,4,5</sup>**

- La incidencia de sangrado fue similar al observado con 30 mcg de drospirenona/etinilestradiol (DRSP/EE).

**En estudios clínicos con ZOELY, la mayoría de las mujeres tuvieron un impacto neutral en cuanto al acné y el peso.<sup>2,4,6</sup>**

- 90 % de las mujeres que tomaron ZOELY en un estudio clínico no reportaron cambio alguno (74 %) o mejoría (16 %) en el acné.
- El acné se reportó como un evento adverso preguntado expresamente en el 15 % de las pacientes.
- En estudios clínicos, el 2.4 de las mujeres reportó una disminución de peso, el 9.9 % reportó incremento de peso; el 87.7 % no reportó incremento ni disminución de peso.

**ZOELY, la píldora hecha para ella.**



D.R. © 2011 Merck Sharp & Dohme Corp., una subsidiaria de Merck & Co.,  
Cazadores de Coquimbo 2857, piso 4 (B1605AZE) Murilo - Vicente López - Provincia de Bs. As.  
Todos los derechos reservados. Prohibida su reproducción parcial o total.  
02-2014 WOMN-1068978-0000  
Zoely es marca registrada de N. V. Organon.

# INFORMACIÓN PARA PRESCRIBIR

ZOELY®

ACETATO DE NOMEGESTROL 2.5 mg / ESTRADIOL 1.5 mg

Comprimidos Recubiertos

zoely®

acetato de nomegestrol/estradiol  
2.5 mg/1.5 mg en tabletas

INDUSTRIA IRLANDESA

VENTA BAJO RECETA

## FÓRMULA

Núcleo del comprimido		
Ingredientes activos	CANTIDADES	
	Comprimido activo blanco	Comprimido Placebo amarillo
Acetato de Nomegestrol	2.50 mg	-
Estradiol (como hemihidrato)	1.55 mg*	-
Excipientes		
Celulosa microcristalina	14.00 mg*	14.00 mg*
Crospovidona	2.40 mg*	2.40 mg*
Talco	0.70 mg*	0.70 mg*
Estearato de magnesio	0.70 mg*	0.70 mg*
Silice coloidal anhidra	0.44 mg*	0.44 mg*
Lactosa monohidrato	57.71 mg*	61.76 mg*
Recubierta del comprimido		
Ingredientes	CANTIDADES	
	Comprimido activo blanco	Comprimido Placebo amarillo
Polivinil alcohol	0.64 mg	0.96 mg
Dióxido de Titanio	0.40 mg	0.58 mg
Macrogol/PEG 3350	0.32 mg	0.48 mg
Talco	0.24 mg	0.36 mg
Óxido férrico amarillo	-	0.016 mg
Óxido férrico negro*	-	0.00024 mg

\*Equivalente a 1.50 mg de estradiol

## ACCIÓN TERAPÉUTICA/ACCIÓN TERAPÉUTICA

Anovulatorio. Grupo farmacoterapéutico: Hormonas sexuales y moduladores del aparato genital, progestágenos y estrógenos, asociaciones fijas, código ATC: G03AA14.

## PROPIEDADES FARMACODINÁMICAS

El acetato de nomegestrol es un progestágeno altamente selectivo, derivado de la progesterona, hormona esteroidea presente en la naturaleza. El acetato de nomegestrol tiene una fuerte afinidad por el receptor de la progesterona humana y una actividad antigonadotrópica, una actividad antiestrogénica, mediada por los receptores de la progesterona, una actividad antiandrogénica moderada, y está desprovisto de actividad estrógena, androgénica, glucocorticoide o mineralocorticoide.

El estrógeno que contiene Zoely es 17β-estradiol, un estrógeno natural idéntico al 17β-estradiol humano endógeno. El efecto anticonceptivo de Zoely se basa en la interacción de diversos factores, los más importantes de los cuales son la inhibición de la ovulación y los cambios en la secreción cervicouterina.

En dos estudios clínicos aleatorizados, abiertos, comparativos, de eficacia y seguridad, más de 3.200 mujeres han recibido tratamiento durante un periodo de hasta 13 ciclos consecutivos con Zoely, y más de 1.000 mujeres han recibido 3 mg de drospirenona y 30 µg de etinilestradiol (pauta de 21/7).

En el grupo tratado con Zoely, el 15,4% de las mujeres manifestaron acné (en comparación con el 7,9% en el grupo de comparación), el 8,6% de las mujeres manifestaron aumento de peso (en comparación con el 5,7% en el grupo de comparación) y el 10,5% de las mujeres manifestaron metrorragia de privación anormal (predominantemente, ausencia, en comparación con el 0,5% en el grupo de comparación).

En el estudio clínico realizado con Zoely en la Unión Europea, se calcularon los siguientes índices de Pearl en la clase de edad de 18 a 35 años:

Fracaso del método: 0,40 (límite superior del intervalo de confianza del 95%, 1,03)

Fracaso del método y de la usuaria: 0,38 (límite superior del intervalo de confianza del 95%, 0,97)

En el estudio clínico realizado con Zoely en Estados Unidos, se calcularon los siguientes índices de Pearl en la clase de edad de 18 a 35 años:

Fracaso del método: 1,22 (límite superior del intervalo de confianza del 95%, 2,18)

Fracaso del método y de la usuaria: 1,16 (límite superior del intervalo de confianza del 95%, 2,08)

En un estudio clínico aleatorizado y abierto, 32 mujeres recibieron tratamiento durante seis ciclos con Zoely.

Después de interrumpir la administración de Zoely, se observó una vuelta a la ovulación en los primeros 28 días después de la toma del último comprimido en el 79% de las mujeres.

En un estudio clínico se investigó la histología endometrial en un subgrupo de mujeres (n = 32), después de 13 ciclos de tratamiento. No hubo resultados anormales.

## Población pediátrica

No se dispone de datos sobre la seguridad y la eficacia en adolescentes menores de 18 años. Los datos farmacocinéticos disponibles se describen en Propiedades Farmacocinéticas.

## PROPIEDADES FARMACOCINÉTICAS

Acetato de nomegestrol

Absorción

El acetato de nomegestrol administrado por vía oral se absorbe rápidamente.

Se alcanzan unas concentraciones máximas de acetato de nomegestrol en el plasma de aproximadamente 7 ng/mL, dos horas después de la administración de una dosis única. La biodisponibilidad absoluta de acetato de nomegestrol después de una dosis única es del 63%. No se observó ningún efecto clínicamente relevante de los alimentos sobre la biodisponibilidad de acetato de nomegestrol.

## Distribución

El acetato de nomegestrol se une en gran cantidad a la albúmina (97 al 98%), pero no se une a la globulina de unión de la hormona sexual (SHBG) ni a la globulina de unión a los corticoides (CBG).

El volumen de distribución aparente de acetato de nomegestrol en estado estacionario es de 1.645 ± 576 L.

## Biotransformación

El acetato de nomegestrol es metabolizado a varios metabolitos hidroxilados inactivos por las enzimas del citocromo P450 del hígado, principalmente CYP3A4 y CYP3A5, con una posible contribución del CYP2C19 y el CYP2C8. El acetato de nomegestrol y sus metabolitos hidroxilados sufren un metabolismo extenso de fase 2 para formar conjugados glucurónico y sulfato. La depuración aparente en el estado estacionario es de 26 L/h.

## Eliminación

La semivida de eliminación (t) es de 46 h (límites: 28 y 83 h) en el estado estacionario. No se determinó la semivida de eliminación de los metabolitos.

El acetato de nomegestrol se excreta por la orina y las heces. Aproximadamente el 80% de la dosis se excreta por la orina y las heces al cabo de cuatro días. La excreción de acetato de nomegestrol fue casi completa después de diez días y las cantidades excretadas fueron más altas en las heces que en la orina.

## Linealidad

Se observó linealidad de la dosis en el intervalo de 0,625 a 5 mg (evaluado en mujeres fértiles y posmenopáusicas). Condiciones en el estado estacionario

Las propiedades farmacocinéticas del acetato de nomegestrol no están influenciadas por la SHBG.

El estado estacionario se alcanza después de cinco días. Se alcanzan unas concentraciones máximas de acetato de nomegestrol en el plasma de aproximadamente 12 ng/mL, 1,5 horas después de la administración. Las concentraciones promedio en el plasma, en el estado estacionario, son de 4 ng/mL.

## Interacciones entre fármacos

El acetato de nomegestrol no causa, in vitro, ninguna inducción o inhibición notoria de ninguna enzima del citocromo P450 y no tiene ninguna interacción clínicamente relevante con el transportador P-gp.

Estradiol

Absorción

El estradiol sufre un efecto de primer paso considerable después de la administración por vía oral. La biodisponibilidad absoluta es de aproximadamente el 1%. No se observó ningún efecto clínicamente relevante de los alimentos sobre la biodisponibilidad del estradiol.

## Distribución

La distribución del estradiol exógeno y endógeno es similar. Los estrógenos se distribuyen ampliamente por el organismo y generalmente se encuentran en concentraciones más altas en los órganos destinatarios de las hormonas sexuales. El estradiol circula en la sangre unido a la SHBG

(37%) y a la albúmina (61%), mientras que sólo aproximadamente del 1 al 2% no está unido.

## Biotransformación

El estradiol exógeno administrado por vía oral es metabolizado extensamente. El metabolismo del estradiol exógeno y endógeno es similar. El estradiol se transforma rápidamente en el intestino y el hígado en varios metabolitos, principalmente estrona, que posteriormente se conjugan y se someten a la circulación enterohepática. Hay un equilibrio dinámico entre el estradiol, la estrona y el sulfato de estrona, debido a diversas actividades enzimáticas, incluidas las deshidrogenasas de estradiol, las sulfotransferasas y las arilsulfatasas. En la oxidación de la estrona y el estradiol intervienen las enzimas del citocromo P450, principalmente CYP1A2, CYP1A2 (extrahepático), CYP3A4, CYP3A5, y CYP1B1 y CYP2C9.

## Eliminación

El estradiol se depura rápidamente de la circulación. Debido al metabolismo y a la circulación enterohepática, hay presencia de una gran acumulación circulante de sulfatos y glucurónidos de estrógeno. Esto resulta en una semivida de eliminación, corregida según los valores iniciales, muy variable del estradiol, que se calcula que es de 3,6 ± 1,5 h, después de la administración por vía intravenosa.

## Condiciones en el estado estacionario

Las concentraciones séricas máximas de estradiol son de aproximadamente 90 pg/mL y se alcanzan seis horas después de la administración de una dosis. La concentración sérica promedio es de 50 pg/mL y estas concentraciones de estradiol corresponden a las fases temprana y tardía del ciclo menstrual de una mujer.

## Poblaciones especiales

Población pediátrica

Las propiedades farmacocinéticas del acetato de nomegestrol (objetivo principal) después de una dosis única de Zoely en adolescentes posmenáuricas sanas y en pacientes adultas fueron similares. Sin embargo, después de recibir una dosis única, en cuanto al componente de estradiol (objetivo secundario), la



exposición fue un 36% más baja en las adolescentes, en comparación con las mujeres adultas. Se desconoce la pertinencia clínica de este resultado.

#### Efecto de la insuficiencia renal

No se realizó ningún estudio para evaluar el efecto de la enfermedad renal sobre las propiedades farmacocinéticas de Zoely.

#### Efecto de la insuficiencia hepática

No se realizó ningún estudio para evaluar el efecto de la enfermedad renal sobre las propiedades farmacocinéticas de Zoely. Sin embargo, es posible que las hormonas esteroideas sean metabolizadas deficientemente en las mujeres con insuficiencia hepática.

#### Grupos étnicos

No se realizaron estudios formales para evaluar las características farmacocinéticas en los grupos étnicos.

#### Datos preclínicos sobre seguridad

Los estudios con dosis repetidas con estradiol, acetato de nomegestrol o la asociación de ambos han indicado unos efectos estrogénicos y gestágenos esperados.

Los estudios de toxicidad reproductiva realizados con la asociación han demostrado una fototoxicidad que es compatible con la exposición al estradiol.

No se realizaron estudios de genotoxicidad y carcinogénesis con la asociación. El acetato de nomegestrol no es genotóxico.

Sin embargo, debe tenerse en cuenta que los esteroideos sexuales pueden favorecer el crecimiento de determinados tejidos y tumores hormonodependientes.

#### INDICACIONES TERAPÉUTICAS

Anticoncepción hormonal.

#### POSOLOGÍA Y FORMA DE ADMINISTRACIÓN

##### Posología

Un comprimido debe tomarse a diario, durante 28 días consecutivos. Cada envase comienza con 24 comprimidos blancos activos, seguidos de cuatro comprimidos amarillos de placebo. Inmediatamente después de terminar el envase, se comienza con el envase siguiente, sin interrupción de la toma diaria de comprimidos e independientemente de la presencia o ausencia de la metrorragia de privación. La metrorragia de privación retrada comienza generalmente en el segundo o tercer día después de la toma del último comprimido blanco y puede que no haya terminado antes de comenzar el siguiente envase. Ver "Control del ciclo" en Advertencias y precauciones especiales de empleo.

##### Poblaciones especiales

###### Disfunción renal

Aunque no se dispone de datos en los pacientes con disfunción renal, es poco probable que esta afección afecte a la eliminación del acetato de nomegestrol y del estradiol.

###### Disfunción hepática

No se han realizado estudios clínicos en pacientes con insuficiencia hepática. Dado que el metabolismo de las hormonas esteroideas podría estar alterado en los pacientes con una hepatopatía grave, el uso de Zoely en estas mujeres no está indicado en la medida en que los valores de la función hepática no hayan vuelto a la normalidad (ver Contraindicaciones).

##### Forma de administración

Vía oral.

##### Cómo tomar Zoely

Los comprimidos deben tomarse todos los días, aproximadamente a la misma hora, independientemente de las comidas. Los comprimidos deben tomarse con algo de líquido si es necesario, y en el orden indicado en el blister. Se proporcionan adhesivos marcados con los siete días de la semana. La usuaria debe elegir el adhesivo que empiece por el día en que comience a tomar los comprimidos y pegaría en el blister.

##### Cómo empezar Zoely

Sin uso de anticonceptivos hormonales anteriormente (en el último mes)

Los comprimidos se empezarán a tomar el primer día del ciclo natural de la mujer (es decir, el primer día de la metrorragia). En tal caso, no es necesario que se tomen medidas anticonceptivas adicionales.

##### Cambio de un anticonceptivo hormonal combinado (anticonceptivo oral combinado (AOC), anillo vaginal o parche transdérmico)

La mujer debería empezar a tomar Zoely preferiblemente al día siguiente del último comprimido activo (el último comprimido que contiene los principios activos) de su AOC anterior, o a más tardar, al día siguiente del intervalo habitual sin comprimidos o con comprimidos de placebo de su AOC anterior. En caso de haber usado un anillo vaginal o un parche transdérmico, la mujer debería empezar a tomar Zoely preferiblemente en el día de su retirada, o a más tardar cuando la siguiente aplicación hubiera tenido lugar.

##### Cambio de un método sólo con progestágeno (minipíldora, implante, inyectable) o de un sistema intrauterino (Intra Uterine System, IUS) medicado con hormona

La mujer puede cambiar cualquier día de la minipíldora y Zoely debe empezarse al siguiente día. Un implante o un sistema intrauterino puede extraerse cualquier día, y Zoely debe comenzarse en el día de su extracción. Si se cambia desde un inyectable, Zoely debe comenzarse en el día en que debiera administrarse la siguiente inyección. En todos estos casos, se debe aconsejar a la mujer que use además un método de barrera hasta que haya terminado de tomar ininterrumpidamente los comprimidos blancos activos durante siete días.

##### Después de un aborto espontáneo en el primer trimestre

La mujer puede comenzar inmediatamente. En tal caso, no es necesario que se tomen medidas anticonceptivas adicionales.

##### Después del parto o de un aborto espontáneo en el segundo trimestre

Se debe recomendar a la mujer que comience entre el día 21 y el 28 después del parto o de un aborto espontáneo en el segundo trimestre. Si comienza más tarde, debe aconsejarse que utilice, además, un método de barrera hasta que haya completado siete días de toma ininterrumpida del comprimido blanco activo.

No obstante, si ha tenido ya relaciones sexuales, hay que descartar que se haya producido un embarazo antes del inicio del uso del AOC, o bien la mujer debe esperar a tener su primera menstruación. Para las mujeres que están lactando, ver sección "Fertilidad, Embarazo y Lactancia".

##### Conducta a seguir si se olvida la toma de algún comprimido

Las siguientes recomendaciones sólo se refieren a comprimidos blancos activos olvidados:

Si han transcurrido menos de 12 horas desde que la mujer olvidó tomar cualquiera de los comprimidos activos, la protección anticonceptiva no está reducida. La mujer deberá tomar el comprimido apenas lo recuerde y, luego, continuará tomando los demás comprimidos a la hora habitual.

Si han transcurrido más de 12 horas desde que olvidó tomar cualquiera de los comprimidos activos, la protección anticonceptiva puede estar reducida. La conducta a seguir con los comprimidos olvidados puede guiarse por las siguientes dos normas básicas:

- Se requiere la toma ininterrumpida de "comprimido blanco activo" durante siete días para conseguir la supresión adecuada del eje hipotalámico-hipofisario-ovárico.
- Cuanto más "comprimidos blancos activos" se olvidan y cuanto más cerca se esté de la fase de los cuatro comprimidos amarillos de placebo, mayor es el riesgo de embarazo.

##### Día 1 a 7

La usuaria debe tomar el último comprimido olvidado apenas se acuerde, aunque esto signifique tomar dos comprimidos a la vez. Seguidamente, ella sigue tomando los comprimidos a la hora habitual.

Además, los siete días siguientes, debe utilizarse un método de barrera, por ejemplo, un preservativo. Si las relaciones sexuales tuvieron lugar en los siete días anteriores, debe plantearse la posibilidad de un embarazo.

Cuanto más "comprimidos blancos activos" se olvide tomar y cuanto más próximos estén los comprimidos olvidados a los cuatro comprimidos amarillos de placebo, mayor es el riesgo de embarazo.

##### Día 8 a 17

La usuaria debe tomar el último comprimido olvidado apenas se acuerde, aunque esto signifique tomar dos comprimidos a la vez. Seguidamente, ella sigue tomando los comprimidos a la hora habitual.

Siempre que la mujer haya tomado correctamente los comprimidos en los siete días anteriores al primer comprimido olvidado, no es necesario tomar precauciones anticonceptivas adicionales. Sin embargo, si se ha olvidado más de un comprimido, se debe aconsejar a la mujer que tome precauciones adicionales durante siete días.

##### Día 18 a 24

El riesgo de disminución de la fiabilidad es inminente debido a la próxima fase de comprimidos de placebo. Sin embargo, al ajustar el calendario de toma de comprimidos, es posible evitar la disminución de la protección anticonceptiva. Por lo tanto, al cumplir cualquiera de las dos siguientes opciones, no es necesario tomar precauciones anticonceptivas adicionales, siempre que, en los siete días anteriores al primer comprimido olvidado, la mujer haya tomado correctamente todos los comprimidos. En caso contrario, deberá seguir la primera de estas dos opciones y tomar precauciones adicionales también para los siete días siguientes.

1. La usuaria debe tomar el último comprimido olvidado apenas se acuerde, aunque esto signifique tomar dos comprimidos a la vez. Seguidamente, debe seguir tomando los comprimidos a la hora habitual, hasta que los comprimidos activos se hayan acabado. Los cuatro comprimidos de placebo de la última fila deben desecharse. El siguiente envase de blister debe iniciarse de inmediato. Es poco probable que la usuaria tenga una metrorragia de privación hasta el fin de la sección de comprimidos activos del segundo envase, pero puede sufrir oligometrorragia o metrorragia intermenstrual en los días que toma los comprimidos.

2. También se puede aconsejar a la mujer que interrumpa la toma de comprimidos activos del envase blister actual. Seguidamente, deberá tomar comprimidos de placebo de la última fila durante un período de hasta cuatro días, incluidos los días en que se ha olvidado de tomar los comprimidos; posteriormente, debe seguir con el siguiente envase blister.

Si la mujer se olvidó de tomar los comprimidos y, posteriormente, no presenta una metrorragia de privación en la fase de comprimidos de placebo, debe plantearse la posibilidad de un embarazo.

##### Olvido de comprimidos amarillos de placebo

La protección anticonceptiva no está reducida. Los comprimidos amarillos de la última (4ª) fila del blister pueden no tenerse en cuenta. Sin embargo, deberán desecharse los comprimidos olvidados para evitar que se prolongue accidentalmente la fase de los comprimidos de placebo.

##### Consejo en caso de molestias digestivas

En caso de trastornos digestivos agudos (por ejemplo, vómitos o diarrea), la absorción de los principios activos puede no ser completa y deberían tomarse medidas anticonceptivas adicionales.

Si se producen vómitos en las tres o cuatro horas siguientes a la toma del comprimido blanco, se debe tomar un comprimido nuevo, lo antes posible. Debe tomarse, si es posible, en las 12 horas siguientes a la hora habitual en que se toma el comprimido. Si transcurren más de 12 horas, se puede aplicar la misma recomendación que para el caso de olvidarse de tomar los comprimidos, de la sección "Conducta a seguir si se olvida la toma de algún comprimido". Si la mujer no desea cambiar su calendario normal de toma de comprimidos, debe tomar el (los) comprimido(s) blancos adicionales de otro envase.

##### Cómo cambiar los períodos o cómo retrasar un período

Para retrasar un período, la mujer debe continuar con otro envase blister de Zoely sin tomar los comprimidos amarillos de placebo del envase actual. La ampliación puede realizarse durante el tiempo que se desee, hasta que los comprimidos blancos activos del segundo envase se terminen. A continuación, se reanuda la toma regular de Zoely después de haber tomado todos los comprimidos amarillos de placebo del segundo envase. Durante la ampliación, la mujer puede presentar metrorragia intermenstrual u oligometrorragia.

Para cambiar los períodos a otro día de la semana distinto al que la mujer esté habituada con su esquema actual, se le puede aconsejar que acorte la siguiente fase con comprimidos amarillos de placebo, hasta un máximo de cuatro días. Cuanto más breve el intervalo, mayor es el riesgo de que no tenga metrorragia de privación y pueda presentar metrorragia intermenstrual u oligometrorragia durante la toma del siguiente envase (al igual que cuando se retrasa un período).

#### CONTRAINDICACIONES

Los AOC no deberán utilizarse en presencia de cualquiera de las afecciones que se enumeran a continuación. Dado que no se dispone todavía de datos epidemiológicos con AOC que contienen 17β-estradiol, las contraindicaciones para los AOC que contienen etinilestradiol se consideran también aplicables al uso de Zoely. En caso de que cualquiera de las afecciones aparezca por primera vez durante el uso de Zoely, se deberá interrumpir inmediatamente la toma del medicamento.

- Hipersensibilidad a los principios activos o a alguno de los excipientes de Zoely.
- Presencia o antecedentes de trombosis venosa (trombosis venosa profunda, embolia pulmonar).
- Presencia o antecedentes de trombosis arterial (por ejemplo, infarto de miocardio) o afecciones pródrómicas (por ejemplo, ataque isquémico transitorio, angina de pecho).
- Presencia o antecedentes de accidente cerebrovascular.
- Antecedentes de migraña con síntomas neurológicos focales.
- Presencia de un factor de riesgo grave o de varios factores de riesgo de trombosis venosa o arterial (ver sección "Advertencias y precauciones especiales de empleo"), como por ejemplo:
  - diabetes mellitus con síntomas vasculares;
  - hipertensión grave;
  - dislipoproteinemia grave.

• Predisposición hereditaria o adquirida de trombosis venosa o arterial, por ejemplo, resistencia de la proteína C activada (PCA), deficiencia de antitrombina-III, deficiencia de proteína C, deficiencia de proteína S, la hiperhomocisteinemia, y anticuerpos antifosfolípidos (anticuerpos anticardiolipina, anticoagulante del lupus).

- Pancreatitis o antecedentes de pancreatitis si está relacionada con hipertrigliceridemia grave.
- Presencia o antecedentes de hepatopatía grave, mientras los valores de la función hepática no hayan vuelto a la normalidad.
- Presencia o antecedentes de tumores hepáticos (benignos o malignos).
- Neoplasias malignas confirmadas o presuntas, influenciadas por los esteroideos sexuales (por ejemplo, de los órganos genitales o de las mamas).
- Hemorragia vaginal no diagnosticada.

## ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES ESPECIALES DE EMPLEO

### Advertencias

Si está presente alguna de las afecciones o factores de riesgo mencionados a continuación, las ventajas del uso de Zoely deberán sopesarse contra los posibles riesgos para cada mujer en concreto, y se deberán tratar con ella antes de que decida empezar a utilizar Zoely. En caso de agravamiento, exacerbación o primera aparición de cualquiera de estas afecciones o factores de riesgo, la mujer deberá contactar a su médico. El médico deberá decidir entonces si debe interrumpirse el uso de Zoely.

Todos los datos que se presentan a continuación, se basan en los datos epidemiológicos obtenidos con anticonceptivos orales combinados (AOC) que contienen etinilestradiol. Zoely contiene 17β-estradiol.

Como no se dispone todavía de datos epidemiológicos con AOC que contienen estradiol, las advertencias se consideran aplicables al uso de Zoely.

### Trastornos circulatorios

- El uso de cualquier AOC (incluido Zoely) conlleva un aumento del riesgo de tromboembolia venosa (TEV), en comparación con su no uso. El aumento de riesgo de TEV es máximo durante el primer año en que una mujer usa un anticonceptivo oral combinado por primera vez.

- En los estudios epidemiológicos se ha demostrado que la incidencia de TEV en las mujeres sin factores de riesgo conocidos de esta afección que usan anticonceptivos orales asociados a estrógenos a dosis bajas (< 50 µg de etinilestradiol) varía desde aproximadamente 20 casos por 100.000 mujeres-años (en el caso de AOC que contienen levonorgestrel) hasta 40 casos por 100.000 mujeres-años (en el caso de AOC que contienen desogestrel/gestodeno). Esto se compara con 5 a 10 casos por 100.000 mujeres-años en las mujeres que no los usan y 60 casos por 100.000 embarazos. La TEV es mortal en el 1 a 2% de los casos.

Se desconoce cómo Zoely afecta a este riesgo en comparación con otros AOC.

- En los estudios epidemiológicos también se ha asociado el uso de AOC con un aumento del riesgo de tromboembolia arterial (infarto de miocardio, ataque isquémico transitorio).

- En las usuarias de AOC la trombosis en otros vasos sanguíneos, como por ejemplo, en las venas y arterias hepáticas, mesentéricas, renales, cerebrales o retinianas es sumamente excepcional.

No hay consenso acerca de si la ocurrencia de estos trastornos está asociada al uso de AOC.

- Los síntomas de trombosis venosa o arterial, o de un accidente cerebrovascular pueden ser los siguientes: dolor de pierna unilateral poco habitual y/o hinchazón; dolor precordial súbito e intenso, irradiado o no al brazo izquierdo; disnea súbita; tos de inicio súbito; cualquier cefalea inusual, intensa y prolongada; pérdida súbita, parcial o completa, de la visión; diplopía; habla dificultosa o afasia; vértigo; colapso con o sin convulsión focal; debilidad o entumecimiento muy marcado que afecta súbitamente a un lado o a una parte del cuerpo; trastornos motores; abdomen "agudo".

- El riesgo de episodios de tromboembolia venosa en las usuarias de AOC aumenta:

- Al aumentar la edad.

- Con los antecedentes familiares positivos (es decir, algún caso de tromboembolia venosa en hermanos o padres a una edad relativamente temprana). Si se sospecha una predisposición hereditaria, se deberá derivar a la paciente a un especialista que la aconseje antes de decidir sobre el uso de un anticonceptivo hormonal.

- Con la inmovilización prolongada, una intervención quirúrgica mayor, cualquier cirugía de las extremidades inferiores o un traumatismo grave. En estos casos es aconsejable interrumpir el uso (en el caso de cirugía programada, por lo menos con cuatro semanas de anticipación) y no reanudarlos hasta dos semanas después de la removilización completa.

Debe plantearse el tratamiento antitrombótico si no se ha suspendido el uso de AOC por adelantado.

- Con la obesidad (índice de masa corporal superior a 30 kg/m<sup>2</sup>).

- No hay consenso acerca del posible papel de las venas varicosas y la tromboflebitis superficial en la aparición de la trombosis venosa.

- El riesgo de complicaciones tromboembólicas arteriales o de un accidente cerebrovascular en las usuarias de AOC aumenta:

- Al aumentar la edad.

- Con el tabaquismo (cuanto más se fuma y más edad se tiene, más aumenta el riesgo, especialmente en las mujeres mayores de 35 años). Se debe aconsejar encarecidamente a las mujeres mayores de 35 años que no fumen si desean usar un AOC.

- Con la dislipoproteíemia.

- Con la obesidad (índice de masa corporal superior a 30 kg/m<sup>2</sup>).

- Con la hipertensión.

- Con la migraña.

- Con las cardiopatías valvulares.

- Con la fibrilación auricular.

- Con los antecedentes familiares positivos (algún caso de trombosis arterial en hermanos o padres a una edad relativamente temprana). Si se sospecha una predisposición hereditaria, se deberá derivar a la paciente a un especialista que la aconseje antes de decidir sobre el uso de un anticonceptivo hormonal.

- Entre otras patologías que se han relacionado con acontecimientos circulatorios adversos se cuentan la diabetes mellitus, el lupus eritematoso sistémico, el síndrome urémico hemolítico, la enfermedad intestinal inflamatoria crónica (por ejemplo, enfermedad de Crohn o colitis ulcerosa) y la enfermedad de células falciformes.

- Debe tenerse en cuenta el mayor riesgo de tromboembolia en el puerperio (ver la sección "Fertilidad, embarazo y lactancia" para información sobre "Embarazo y lactancia").

- Un aumento de la frecuencia o la intensidad de la migraña durante el uso de AOC (que puede ser prodrómica de un episodio cerebrovascular) puede ser motivo para interrumpir inmediatamente el uso de Zoely.

Se debe advertir encarecidamente a las mujeres que usan AOC que consulten a su médico en caso de posibles síntomas de trombosis. En caso de trombosis presunta o confirmada, el uso de los AOC se debe interrumpir. Se debe iniciar una anticoncepción adecuada debido a la teratogenicidad del tratamiento anticoagulante (cumarínicos).

### Tumores

- En algunos estudios epidemiológicos se ha comunicado un aumento del riesgo de cáncer cervicouterino en las usuarias de AOC durante un tiempo prolongado (> 5 años); sin embargo, sigue habiendo controversia acerca del grado en que esta observación es atribuible a los efectos de confusión del comportamiento sexual y a otros factores, como el virus del papiloma humano (VPH). No se dispone de datos epidemiológicos acerca del riesgo del cáncer cervicouterino en las usuarias de Zoely.

- Con el uso de AOC a dosis más altas (50 µg de etinilestradiol), el riesgo de cáncer de endometrio y de ovario es menor. Queda por confirmar si esto también se aplica a los AOC que contienen 17β-estradiol.

- En un metaanálisis de 54 estudios epidemiológicos se comunicó que el riesgo relativo de diagnóstico de cáncer de mama en las mujeres que toman AOC es ligeramente más alto (RR = 1,24). El exceso de riesgo desaparece gradualmente en el transcurso de los diez años después de interrumpir el uso de AOC. Como el cáncer de mama es raro en las mujeres menores de 40 años, el exceso del número de diagnósticos de cáncer de mama en las mujeres que toman actualmente o han tomado recientemente AOC es bajo, en relación con el riesgo total de cáncer de mama. Los casos de cáncer de mama diagnosticados en las mujeres que han tomado alguna vez AOC tienden a ser menos avanzados clínicamente que los casos en las mujeres que no los han tomado nunca. La pauta observada de aumento del riesgo puede deberse a un diagnóstico más precoz del cáncer de mama en las mujeres que toman AOC, a los efectos biológicos de los AOC o a una combinación de ambos factores.

- En casos raros se ha comunicado el diagnóstico de tumores hepáticos benignos y en casos incluso más raros, tumores hepáticos malignos, en las mujeres que toman AOC. En casos aislados, estos tumores han causado hemorragias intraabdominales potencialmente mortales. Por lo tanto, deberá plantearse la posibilidad de un tumor hepático en el diagnóstico diferencial cuando, en una mujer que toma AOC, se presentan dolor abdominal superior agudo, aumento del tamaño del hígado o signos de hemorragia intraabdominal.

### Otras patologías

- Las mujeres con hipertrigliceridemia o con antecedentes familiares de este trastorno pueden tener un mayor riesgo de pancreatitis al tomar AOC.

- Aunque en muchas mujeres que toman AOC se han comunicado aumentos pequeños de la presión arterial, los aumentos clínicamente relevantes son muy infrecuentes. No se ha establecido una relación entre el uso de AOC y la hipertensión clínica. Sin embargo, si durante el uso de un AOC se produce una hipertensión clínicamente significativa y sostenida, es prudente que el médico retire la toma de los comprimidos y trate la hipertensión. Si se considera apropiado, el uso de los AOC puede reanudarse en caso de que se puedan alcanzar valores normotensos con el tratamiento antihipertensor.

- Se ha comunicado que las siguientes afecciones se producen o se agravan tanto con el embarazo como con el uso de AOC; sin embargo, la evidencia de una relación con el uso de los AOC no es concluyente: ictericia y/o prurito asociado a colestasis, formación de cálculos biliares, porfiria, lupus eritematoso sistémico, síndrome urémico hemolítico, corea de Sydenham, herpes gestacional, pérdida auditiva relacionada con otosclerosis.

- En las mujeres con angioedema hereditario, los estrógenos exógenos pueden inducir o exacerbar los síntomas del angioedema.

- Los trastornos agudos o crónicos de la función hepática pueden precisar la suspensión del uso de AOC hasta que los indicadores de la función hepática vuelvan a la normalidad. La recurrencia de la ictericia colestática que se haya producido por primera vez durante el embarazo o con el uso anterior de esteroides sexuales hace necesario interrumpir la administración de AOC.

- Aunque los AOC pueden tener un efecto sobre la resistencia periférica a la insulina y la tolerancia a la glucosa en las mujeres sanas, no hay pruebas de la necesidad de modificar la pauta terapéutica en las mujeres diabéticas que usan AOC a dosis bajas (que contienen < 0,05 mg de etinilestradiol). Sin embargo, se debe observar meticulosamente a las mujeres diabéticas mientras toman un AOC, especialmente durante los primeros meses de uso.

- El empeoramiento de la depresión, la enfermedad de Crohn y la colitis ulcerosa se han relacionado con el uso de AOC.

- En ocasiones, puede producirse cloasma, especialmente en las mujeres con antecedentes de cloasma grávidico. Las mujeres con tendencia al cloasma deberán evitar la exposición al sol o a la radiación ultravioleta mientras toman AOC.

- Los pacientes con intolerancia hereditaria a la galactosa, insuficiencia de lactasa de Lapp o problemas de absorción de glucosa o galactosa, no deben tomar este medicamento.

### Exploración/consulta médica

Antes del inicio o del reinicio del uso de un AOC, debe obtenerse una anamnesis completa (incluidos los antecedentes familiares) y debe descartarse el embarazo. Se debe determinar la presión arterial y, si está indicado clínicamente, debe hacerse una exploración física, de acuerdo con las contraindicaciones (ver sección "Contraindicaciones") y las advertencias (ver sección "Advertencias y precauciones especiales de empleo"). Se debe también indicar a la mujer que lea atentamente el prospecto y que siga los consejos que se le den. La frecuencia y la naturaleza de las exploraciones periódicas posteriores deben basarse en las pautas de práctica establecidas y deben adaptarse a cada mujer en concreto.

Se debe advertir a las pacientes de que los anticonceptivos orales no protegen contra la infección por el VIH (SIDA) ni contra otras enfermedades de transmisión sexual.

### Disminución de la eficacia

Puede haber una disminución de la eficacia de los AOC en caso, por ejemplo, de que se olviden tomar los comprimidos (ver "Posología y forma de administración"), trastornos digestivos durante la toma de comprimidos activos (ver sección "Posología y forma de administración") o el uso de medicamentos concomitantes (ver sección "Interacción con otros medicamentos y otras formas de interacción").

### Control del ciclo

Con todos los AOC puede producirse una metrorragia irregular (oligometrorragia o metrorragia intermenstrual), especialmente en los primeros meses de uso. Por lo tanto, la evaluación de cualquier hemorragia irregular sólo es significativa después de un intervalo de adaptación de aproximadamente tres ciclos. El porcentaje de mujeres que usaban Zoely y sufrieron una hemorragia intracíclica después de este periodo de adaptación varió entre el 15 y el 20%.

Si las irregularidades hemorrágicas persisten o se producen después de ciclos anteriormente regulares, deberán plantearse las causas no hormonales y están indicadas las medidas adecuadas de diagnóstico para excluir una neoplasia maligna o el embarazo. Estas medidas pueden consistir en el legrado.

La duración de la metrorragia de privación en las mujeres que usan Zoely es, en promedio, tres a cuatro días. Las usuarias de Zoely también pueden notar la ausencia de su metrorragia de privación, aunque no estaban embarazadas. En los estudios clínicos, la ausencia de metrorragia de privación varió, durante el 1er al 12º ciclo, entre el 18 y el 32%. En estos casos, la ausencia de metrorragia de privación no estuvo asociada a una mayor ocurrencia de metrorragia intermenstrual u oligometrorragia en los ciclos siguientes. El 4,6% de las mujeres no presentaron una metrorragia de privación en los tres primeros ciclos de uso y los casos de ausencia de metrorragia de privación en los posteriores ciclos de uso fueron altos en este subgrupo, entre el 76 y el 87% de las mujeres. El 28% de las mujeres sufrieron una ausencia de metrorragia de privación por lo menos en uno de los ciclos, 2º, 3º y 4º, asociados a una mayor cantidad de presentaciones de ausencia de metrorragia de privación en los ciclos posteriores de uso, variando entre el 51 y el 62%.

Si no hay metrorragia de privación y Zoely se ha tomado según las instrucciones que se dan en la sección "Posología y forma de administración", es poco probable que la mujer esté embarazada. Sin embargo, si Zoely no se ha tomado siguiendo las instrucciones o si hay dos faltas de metrorragias de privación consecutivas, el embarazo debe descartarse antes de continuar el uso de Zoely.

### Población pediátrica

Se desconoce si la cantidad de estradiol en Zoely es suficiente para mantener una concentración adecuada de estradiol en las adolescentes, especialmente para la acumulación de masa ósea (ver "Propiedades farmacocinéticas").

### INTERACCIÓN CON OTROS MEDICAMENTOS Y OTRAS FORMAS DE INTERACCIÓN

#### Interacciones

#### Efectos de otros medicamentos sobre Zoely

Las interacciones entre los anticonceptivos orales y los medicamentos inductores enzimáticos pueden causar metrorragia intermenstrual e incluso el fracaso del anticonceptivo.

Algunos ejemplos de principios activos que inducen las enzimas hepáticas y, por tanto, tener como resultado un aumento de la depuración de las hormonas sexuales son: fenitoína, fenobarbital, primidona, bosentan, carbamazepina, rifampicina y medicamentos de preparaciones herbarias que contienen hipérico (hierba de San Juan), y, en menor grado, oxocarbazepina, topiramato, felbamato y griseofulvina. Asimismo, los inhibidores de la proteasa del VIH con un potencial inductor (por ejemplo, ritonavir y nelfinavir) y los inhibidores no nucleosídicos de la retrotranscriptasa (por ejemplo, nevirapina y efavirenz) pueden afectar al metabolismo hepático.

Con las sustancias inductoras de las enzimas hepáticas debe utilizarse un método de barrera durante el tiempo de administración concomitante del medicamento y durante 28 días después de su interrupción.

En caso de tratamiento prolongado con sustancias inductoras de las enzimas hepáticas, debe plantearse el uso de otro método anticonceptivo.

No se realizaron estudios de interacción de medicamentos con Zoely; sin embargo, se realizaron sendos estudios con rifampicina y ketoconazol, con una asociación de acetato de nomegestrol y estradiol (3,75 mg de acetato de nomegestrol + 1,5 mg de estradiol), a dosis más altas, en mujeres posmenopáusicas. El uso concomitante de rifampicina disminuye el AUC del acetato de nomegestrol en un 95% y aumenta el AUC del estradiol en un 25%.

El uso concomitante de ketoconazol (dosis única de 200 mg) no modifica el metabolismo del estradiol; en cambio, se observaron aumentos de la concentración máxima (85%) y del AUC (115%) del acetato de nomegestrol, que no tuvieron relevancia clínica. Se esperan unas conclusiones parecidas en las mujeres en edad fértil.

**Efectos de Zoely sobre otros medicamentos**

Los anticonceptivos orales pueden afectar al metabolismo de otros medicamentos. Debe prestarse una atención especial a la interacción con la lamotrigina.

**Análisis de laboratorio**

El uso de esteroides anticonceptivos puede afectar a los resultados de algunos análisis de laboratorio, como los valores bioquímicos de las pruebas de función hepática, tiroidea, suprarrenal y renal, los niveles plasmáticos de las proteínas (transportadoras), por ejemplo, la globulina que se fija a los corticosteroides y las fracciones lipídico/lipoproteína, los parámetros del metabolismo de los glúcidos, y los valores de coagulación y fibrinólisis. Por lo general, los cambios se mantienen dentro de los límites de la normalidad del laboratorio.

**FERTILIDAD, EMBARAZO Y LACTANCIA**

**Embarazo**

Zoely no está indicado durante el embarazo.

Si se produce un embarazo mientras se toma Zoely, debe interrumpirse su administración. En la mayoría de los estudios epidemiológicos no se ha revelado ningún aumento del riesgo de defectos congénitos en los bebés nacidos de mujeres que tomaban AOC que contienen etinilestradiol antes del embarazo, ni un efecto teratogénico cuando estos anticonceptivos se tomaron de forma inadvertida al principio del embarazo.

Los datos clínicos sobre un número limitado de embarazos de riesgo no muestran reacciones adversas de Zoely sobre el feto o el recién nacido.

En estudios en animales, se ha observado toxicidad reproductiva con la asociación acetato de nomegestrol y estradiol (ver datos preclínicos sobre seguridad en la sección "Datos preclínicos sobre seguridad").

**Lactancia**

Pequeñas cantidades de los esteroides anticonceptivos y/o de sus metabolitos pueden excretarse con la leche; sin embargo, no hay pruebas de que esto tenga un efecto perjudicial en la salud del lactante.

La lactancia materna puede verse afectada por los AOC, ya que estos pueden reducir la cantidad y cambiar la composición de la leche materna. Por lo tanto, no se debe recomendar el uso de AOC hasta que la madre en lactancia haya dejado de amamantar completamente al niño, y debe proponerse un método anticonceptivo alternativo a las mujeres que desean dar lactancia materna.

**Fertilidad**

Zoely está indicado para la prevención del embarazo. Para información sobre la vuelta a la fertilidad, ver sección "Propiedades farmacodinámicas".

**REACCIONES ADVERSAS**

**Resumen del perfil de seguridad**

Se usaron seis estudios clínicos multicéntricos de hasta un año de duración para evaluar la seguridad de Zoely. En total, se incluyó a 3.434 mujeres, de 18 a 50 años, y se completaron 33.828 ciclos.

**Resumen tabulado de las reacciones adversas**

En la siguiente tabla se enumeran las reacciones adversas posiblemente relacionadas que se han notificado en las usuarias de Zoely.

Todas las reacciones adversas se enumeran por la clasificación de órganos y sistemas y la frecuencia:

Muy frecuentes (≥ 1/10), frecuentes (≥ 1/100 a 1/10), poco frecuentes (≥ 1/1.000 a 1/100) y raras (≥ 1/10.000 a 1/1.000).

**Descripción de reacciones adversas seleccionadas**

En las mujeres que usan anticonceptivos orales asociados que contienen etinilestradiol se han descrito varias reacciones adversas, que se tratan con más detalle en la sección "Advertencias y precauciones especiales de empleo".

**SOBREDOSIFICACIÓN**

Se han usado dosis múltiples de hasta cinco veces la dosis diaria de Zoely y dosis únicas de hasta 40 veces la dosis diaria de solo acetato de nomegestrol en mujeres sin evidenciarse problemas de seguridad. En base a la experiencia general con anticonceptivos orales asociados, los síntomas que pueden producirse son los siguientes: náuseas, vómitos y, en chicas jóvenes, hemorragia vaginal ligera. No hay antídotos y el tratamiento posterior debe ser sintomático.

ANTE LA EVENTUALIDAD DE UNA SOBREDOSIFICACIÓN, CONCURRIR AL HOSPITAL MÁS CERCANO O COMUNICARSE CON LOS SIGUIENTES CENTROS TOXICOLÓGICOS:

HOSPITAL DE PEDIATRÍA RICARDO GUTIÉRREZ – (011) 4962-6666/2247

HOSPITAL A. POSADAS – (011) 4654-6648/4658-7777

**PRESENTACIONES**

Envase conteniendo 28 comprimidos recubiertos (24 activos + 4 placebo).

Envase conteniendo 84 comprimidos recubiertos [3 x 28 comprimidos recubiertos (24 activos + 4 placebo)].

**CONDICIONES DE CONSERVACIÓN Y ALMACENAMIENTO**

Conservar a temperatura ambiente hasta 30°C.

Los comprimidos de AOC (incluidos los comprimidos de Zoely) que ya no se necesitan no se deben tirar a los desagües ni al sistema de alcantarillado municipal. Los compuestos hormonales activos del comprimido pueden tener efectos perjudiciales si llegan al entorno acuático. Los comprimidos se deben devolver a la farmacia o eliminar de otra manera segura, de acuerdo con la normativa local. De esta forma ayudará a proteger el medio ambiente.

**"MANTENER FUERA DEL ALCANCE DE LOS NIÑOS"**

Especialidad Medicinal autorizada por el Ministerio de Salud.

Número de certificado: 56927

Director Técnico: Dr. Ángel M. Sacramone- Farmacéutico

**Elaborado por:**

Organon (Ireland) Ltd.,

Drynam Road, Swords, Co. Dublin, Irlanda.

**Importado y Comercializado por:**

Organon Argentina S.A.Q.I. y C.

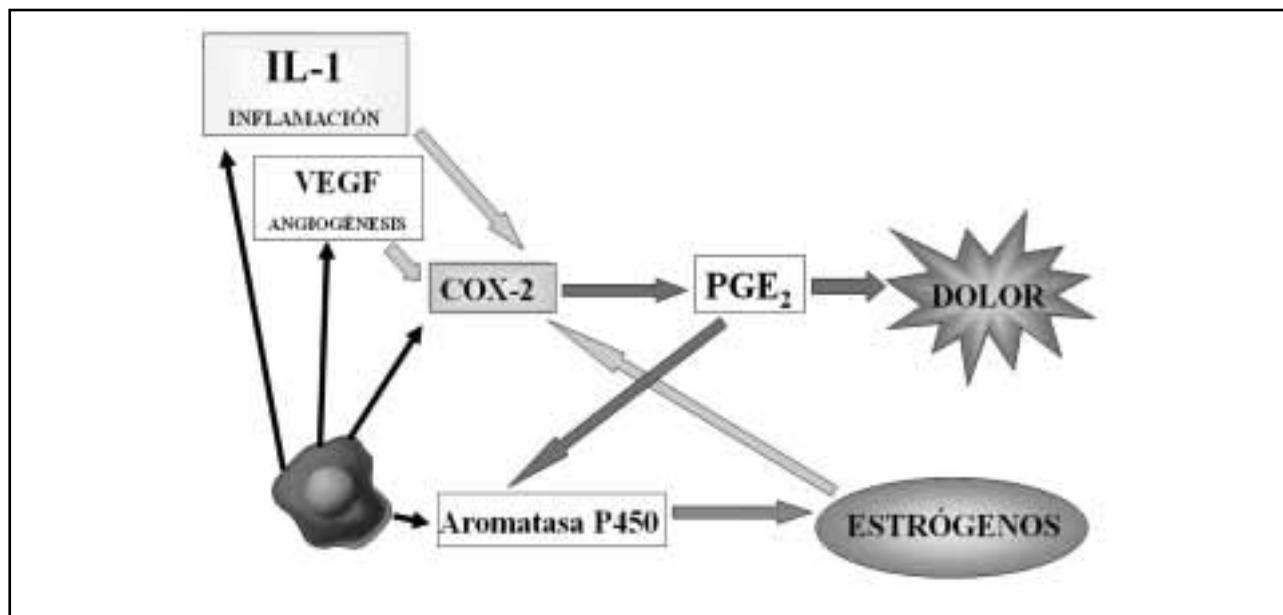
Ezepeleta 1277, Martínez, Buenos Aires.

Argentina

Última revisión ANMAT: 29 de noviembre de 2012.

Clasificación de órganos y sistemas	Reacción adversa en término MedDRA1			
	Muy frecuentes	Frecuentes	Poco frecuentes	Raras
Trastornos del metabolismo y de la nutrición			Aumento del apetito, retención de líquidos	Disminución del apetito
Trastornos psiquiátricos		Disminución de la libido, depresión /estado de ánimo depresivo, alteración del estado de ánimo		Aumento de la libido
Trastornos del sistema nervioso		Cefalea, migraña		Trastorno de la atención
Trastornos oculares				Intolerancia a las lentes de contacto / xeroftalmia
Trastornos vasculares			Sofocos	
Trastornos gastrointestinales		Náuseas	Distensión abdominal	Xerostomía
Trastornos hepatobiliares				Colelitiasis, colecistitis
Trastornos de la piel y del tejido subcutáneo	Acné		Hiperhidrosis, alopecia, prurito, sequedad de la piel, seborrea	Cloasma, hipertricosis
Trastornos musculoesqueléticos y del tejido conjuntivo			Sensación de pesadez	
Trastornos del aparato reproductor y de la mama	Metrorragia de privación anormal	Metrorragia, menorragia, dolor de mama, dolor pélvico	Hipomenorrea, hinchazón de las mamas, galactorrea, espasmo uterino, síndrome premenstrual, nódulos de la mama, dispareunia, sequedad vaginal	Olor vaginal, molestia vulvovaginal
Trastornos generales y alteraciones en el lugar de administración			Irritabilidad, edema	Hambre
Exploraciones complementarias		Aumento del peso	Aumento de las enzimas hepáticas	





**Figura 1.** Los macrófagos peritoneales producen IL-1 (citoquina proinflamatoria) y VEGF (factor de crecimiento de endotelio vascular), ambos factores estimulan la actividad de la enzima COX-2. Esta incrementa la producción de PGE<sub>2</sub> que al mismo tiempo provocará un aumento del dolor y estimulará la actividad de la aromatasa P450 (presente en macrófagos y en endometrio ectópico). Estos factores contribuyen al aumento de los niveles de estrógenos intraperitoneales para crear un ciclo de retroalimentación positiva sobre la producción de COX-2 y un estado inflamatorio persistente.

ha descrito un aumento en el número de macrófagos en mujeres con endometriosis durante la fase proliferativa con respecto a lo observado en el mismo tejido de mujeres normales(41).

El entorno inflamatorio dentro de la pelvis puede contribuir a la fisiopatología de la percepción del dolor en mujeres con síntomas de endometriosis. Se cree que las fibras nerviosas de los implantes endometriósicos afectan a las neuronas de la raíz dorsal del sistema nervioso central, lo que produce un aumento de la percepción del dolor en estas pacientes(42).

En el tejido ectópico, el número de macrófagos se correlacionaría con el número de fibras nerviosas por lo cual se plantea la posibilidad de que éstos pudieran favorecer el desarrollo de la inervación y, consecuentemente, el dolor asociado a la enfermedad(43).

Otro de los factores solubles producidos por los macrófagos que influyen en el desarrollo de las lesiones endometriósicas es el factor de crecimiento de endotelio vascular (VEGF), ya que este facilitaría la neoangiogénesis necesaria para el mantenimiento de los implantes de tejido ectópico. Diversos autores coinciden en que en la endometriosis los macrófagos peritoneales son los principales productores de factores proangiogénicos(44,45) y en particular, el grupo de McLaren y cols. ha demostrado que la producción de VEGF por los macrófagos peritoneales de pacientes con endometriosis está regulado por esteroides sexuales(46).

En nuestras evaluaciones realizadas con macrófagos peritoneales de ratones con endometriosis, luego de 30 días de inducidas las lesiones quirúrgicamente, observamos que la producción de VEGF es significativamente mayor en ratones con endometriosis respecto de ratones controles ( $p < 0,05$  vs. Control) (datos no publicados).

Actualmente se sabe que existen al menos dos poblaciones distintas de macrófagos, los M1, que son aquellos que se activan de manera clásica, responden a productos microbianos o IFN- $\gamma$ , tienen alta capacidad de presentar antígenos; producen IL-12 y 23 y al activarse liberan gran cantidad de óxido nítrico y especies reactivas de oxígeno (o ROS: *reactive oxygen species*). Son considerados potentes células efectoras, capaces de matar a microorganismos intracelulares y células tumorales y de producir grandes cantidades de citoquinas proinflamatorias. Por otra parte, existen macrófagos M2 que se activan por una vía alternativa en presencia de IL-4, 10 y 13, por glucocorticoides, complejos antígenos-anticuerpos, ligandos de receptores tipo Toll (TLR) y esteroides. Estos producen un tipo de respuesta antiinflamatoria o tolerogénica que favorece el desarrollo de la inmunidad adaptativa Th2, promueven la angiogénesis y la reparación y remodelación tisular(47,48).

Sobre la base de estos datos, es posible pensar que durante el desarrollo de la endometriosis el perfil de subpoblaciones macrofágicas peritoneales se vaya mo-

dificando acorde disminuya el estado inflamatorio y la enfermedad se haga crónica(49,50).

### **Células “natural killer (NK)”**

En una respuesta inmunológica normal, las células endometriales ectópicas deberían ser eliminadas de la cavidad peritoneal por la actividad de las células NK. Más aún, se ha comprobado que las células NK de mujeres normales son capaces de lisar los implantes endometriósicos(51). Entonces surge un interrogante: *¿existe una deficiencia numérica o funcional de las células NK en las pacientes con endometriosis?*

En cuanto a la posible alteración cuantitativa de estas células hay grandes discrepancias puesto que algunos autores han descrito disminución; otros, aumento; y otros no observaron diferencias con respecto a las mujeres normales(52). Sí, en cambio, existe una amplia concordancia en que hay una disminución de la actividad citotóxica de las NK tanto hacia el endometrio autólogo como hacia el heterólogo, por parte de las NK periféricas y peritoneales(53).

Otros datos refuerzan estas observaciones, puesto que se ha demostrado que las células NK de mujeres normales disminuyen su citotoxicidad con el agregado in vitro de suero de pacientes con endometriosis(54) y que el medio condicionado de células de estroma endometrial inhibe la actividad NK(55).

Garzetti y cols.(56) publicaron que la disminución de la citotoxicidad de las NK en pacientes con endometriosis era directamente proporcional a los niveles de estradiol en suero. Estos autores postularon también que a medida que la enfermedad se hace más severa, los niveles de  $E_2$  plasmáticos aumentan y los de prolactina disminuyen, al tiempo que la actividad citotóxica de las NK decae, lo que sugiere también que la relación  $E_2$ /prolactina podría emplearse como un marcador de progresión de la enfermedad(57).

Recientemente Sikora y cols.(58) publicaron una serie de posibles factores inmunorregulatorios que podrían estar disminuyendo la actividad citotóxica de las células NK en pacientes con endometriosis. Entre estos se incluyen: incremento de los receptores inhibitorios (KIR), el desequilibrio de citoquinas Th1/Th2, la presencia de antígenos del complejo mayor de histocompatibilidad de tipo I no clásicos como el HLA-G y HLA-E en el tejido endometrial ectópico y solubles, el aumento de los niveles de IL-12p40 que actúa como un receptor soluble para la IL-12 e inhibiría su acción estimuladora de la citotoxicidad, y el aumento de la forma soluble de la molécula de adhesión intracelular-1 (sICAM-1).

La presencia de antígenos HLA-G de membrana y soluble ha sido demostrada en el endometrio ectópico y en el fluido peritoneal de pacientes con endometriosis,

y se sabe que esta molécula inhibe el ataque citotóxico al tiempo que favorece una “tolerancia inmunológica” hacia el tejido portador(59).

Además, otro factor que inhibe la actividad citotóxica de las NK que está presente en el líquido peritoneal de estas pacientes es la glicodelina A o proteína placentaria 14 (PP14). Esta proteína es producida tanto por el endometrio eutópico como el ectópico e interfiere en el reconocimiento antígeno(60,61).

Finalmente, la presencia de galectina-1 (Gal-1) en el tejido endometrial también es otro factor que inhibe el ataque de células citotóxicas y favorece el no rechazo al tejido ectópico(62).

### **Linfocitos T**

Muchos autores han estudiado las distintas poblaciones de T (LT) en pacientes con endometriosis. Las primeras observaciones de Gleicher y cols.(63) no mostraron diferencias significativas en el número de linfocitos T. Años más tarde, sin embargo, Badawy y cols.(64) publicaron que existía un aumento de LT en el líquido peritoneal de estas pacientes y esto fue confirmado por otros grupos(65,66).

Sin embargo, en mujeres con endometriosis, la respuesta linfoproliferativa y la actividad de los LT citotóxicos está disminuida y se observan diferencias de acuerdo con los estadios de la enfermedad(52,67). Más aún, algunos autores han propuesto que la estimulación de la respuesta citotóxica hacia el endometrio ectópico con IL-2 podría emplearse terapéuticamente en estas pacientes(68).

Al igual que ocurre con la disminución de la citotoxicidad de las células NK, existen varios factores que podrían estar interviniendo para inhibir esta respuesta. Se suma el posible aumento de la muerte de los LT por apoptosis inducida por el sistema Fas/FasL. Existiría un aumento de IL-8 en el fluido peritoneal que favorecería el aumento de la expresión del ligando FasL en las células de estroma endometrial, el cual al unirse al Fas expresado en los leucocitos induciría la muerte de estos últimos(69).

En el líquido peritoneal de pacientes con endometriosis existe una disminución el ratio CD4/CD8 (LT “helper”/LT citotóxicos) con respecto a las mujeres normales, cosa que no se observa ni en sangre periférica ni en el endometrio eutópico. Por otra parte, tanto la actividad “helper” de los CD4 como la citotoxicidad de los CD8 está disminuida en presencia del líquido peritoneal de estas pacientes, lo que sugiere que existe uno o más factor/es soluble/s que estarían inhibiendo la actividad de estas células. Entre los factores posibles se ha postulado a la IL-10 como responsable de estas alteraciones(70,71).

Dentro de las poblaciones de LT “helper” se hallan también los Th17, los cuales rápidamente inician una respuesta inflamatoria ya que mediante la producción de

IL-17 favorecen el reclutamiento y la activación de los leucocitos neutrófilos(72). Hirata y cols.(73) han demostrado el aumento de estos Th17 en el líquido peritoneal de pacientes con endometriosis y que la IL-17 favorece la proliferación de células de estroma endometrial, y el grupo de Velasco y cols.(74) demostró la presencia de IL-17 en el líquido de los quistes endometriósicos.

Finalmente, otra de las poblaciones de LT que merece especial atención en estas pacientes es la de los LT reguladores (LTreg), los cuales suprimen la activación del sistema inmunológico y favorecen los mecanismos de homeostasis y tolerancia inmunológica.

En relación con los LTreg, se ha visto que en estas pacientes existe una disminución de estas células en sangre periférica pero un significativo aumento en el líquido peritoneal(75). Además, mientras que en el endometrio eutópico de mujeres normales estas células disminuyen durante la fase secretoria, en las pacientes con endometriosis no se observa dicha disminución. Estas dos últimas alteraciones favorecerían los mecanismos de tolerancia y el no rechazo del tejido endometrial ectópico(76).

## Linfocitos B

Algunos autores han descrito un aumento en la actividad de los linfocitos B en pacientes con endometriosis. Weed y cols.(77) demostraron la existencia de depósitos de IgG y de complemento en el endometrio eutópico y la consiguiente disminución de los niveles de complemento en el suero de estas pacientes. Estos autores postularon que el endometrio ectópico podría actuar como foráneo e inducir una respuesta autoinmune y, como consecuencia de esto, infertilidad.

La teoría de que la endometriosis puede ser una enfermedad autoinmune fue introducida por Gleicher(78), ya que, a semejanza de estas patologías, la endometriosis presenta activación policlonal de los LB, anormalidades en la funcionalidad de LT y LB, aumento de la apoptosis, daño tisular e involucra a múltiples órganos. Además, existe predisposición familiar (lo que podría implicar una base genética) y suele asociarse con otras enfermedades autoinmunes(79,80). Sin embargo, existe poca evidencia de que los niveles altos de autoanticuerpos sean prevalentes en todas las mujeres con endometriosis y que los niveles de éstos se correlacionen directamente con los grados de infertilidad(81,82).

Actualmente se pueden diferenciar al menos 3 poblaciones de LB de acuerdo con su ubicación y función: brevemente, existe una población denominada B1 de los cuales hay pocos en sangre periférica, pero abundantes en cavidad peritoneal y pleural. Son capaces de autorrenovarse localmente y su principal función es la producción de anticuerpos de tipo IgM dirigidos contra antígenos no proteicos, como polisacáridos, fosfatidilcolina y

lipopolisacáridos. No requieren colaboración de los LT y producen grandes cantidades de IgM sin necesidad de contacto con el antígeno. Otra de las poblaciones es la B2, que son los LB más abundantes en sangre periférica (90%) y tejidos linfoides secundarios. Necesitan señales coestimuladoras de los LT. Expresan receptores de LB, son capaces de producir anticuerpos antiantígenos proteicos y pueden actuar contra células encapsuladas (meningococos, neumococos). Finalmente, existen los LB de zona marginal de bazo (BZM), que están especialmente adaptados a producir grandes cantidades de IgM específica los 3 o 4 primeros días luego de la estimulación antigénica.

En pacientes con endometriosis existe un aumento en el número de LB1 del líquido peritoneal. Asimismo, el tejido endometrial ectópico comparado con el tejido eutópico presenta mayor cantidad de células plasmáticas, las cuales derivarían de estos LB1(83). En cuanto a la población de LB2, algunos autores han descrito un aumento(84-86). No existen datos acerca de los BZM en endometriosis.

## Alteraciones en las citoquinas

Las citoquinas son proteínas que regulan la función de las células que las producen u otros tipos celulares. Son factores solubles que median la comunicación intercelular, inducen la activación de receptores específicos de membrana, funciones de proliferación y diferenciación celular, quimiotaxis, crecimiento y modulación de la secreción de inmunoglobulinas.

Estas citoquinas son producidas fundamentalmente por los linfocitos y los macrófagos activados, aunque también pueden ser producidas por neutrófilos, células endoteliales, epiteliales, adipocitos y del tejido conjuntivo.

Su acción fundamental se observa en la regulación del mecanismo de la inflamación. Hay citoquinas proinflamatorias o Th1 y otras antiinflamatorias/tolerogénicas o Th2/Th3(87,88). Dependiendo del tipo de antígeno que produzca la estimulación del sistema inmunológico, se incrementará uno u otro tipo de citoquinas. Las Th1 inhibirán la producción de las Th2/Th3 y viceversa, sin embargo, para recuperar la homeostasis, ambos tipos de respuesta tienden a equilibrarse.

Dentro de las citoquinas tipo Th1 se hallan fundamentalmente el IFN $\gamma$ , IL-1, IL-2 y TNF $\alpha$ , y dentro de las Th2/Th3: IL-4, IL-5, IL-10 y TGF- $\beta$ .

Entre estas citoquinas, algunas de las más estudiadas con relación a la endometriosis son:

**IL-1:** en nuestras evaluaciones, observamos que los niveles de esta citoquina en los cultivos de macrófagos y en el líquido peritoneal se encuentran aumentados en pacientes con endometriosis leve con respecto

a los controles y a la endometriosis severa. Estos datos sustentan los hallazgos de otros autores que, aunque no agruparon a las pacientes con endometriosis de acuerdo con el grado de la enfermedad, encontraron elevada la concentración de IL-1 $\beta$  en líquido peritoneal de estas pacientes con respecto a las mujeres normales(89-91).

**IL-6:** en comparación con los controles libres de endometriosis, el endometrio eutópico de las mujeres con esta enfermedad mostró un aumento de la producción basal de IL-6(92). La IL-6 juega un papel importante en muchas enfermedades inflamatorias crónicas y es secretada por los macrófagos, así como por las células epiteliales endometriales(93). Curiosamente, se demostró también que la IL-6 estimula significativamente la expresión de la aromatasa en cultivos de células de estroma endometrial(74).

**IL-8:** esta citoquina es producida por el tejido endometrial normal, se observa un aumento en su producción en la fase secretoria tardía y en la proliferativa temprana(94-96). También es producida por células mesoteliales en cultivo. Citoquinas proinflamatorias como la IL-1 y el TNF $\alpha$  estimulan su síntesis(98). La concentración de IL-8 en el líquido peritoneal de pacientes con endometriosis está significativamente aumentada especialmente en los estadios avanzados de la enfermedad(97,98). Este sería un hecho relevante puesto que la IL-8 es un factor angiogénico y de este modo favorecería la neovascularización del tejido ectópico. Al mismo tiempo, esta citoquina podría facilitar el anclaje inicial de las células endometriales en la superficie peritoneal ya que estimula la adhesión de las células de estroma endometrial a la fibronectina y la actividad de metaloproteasas(99-101). El tejido endometriótico produce grandes cantidades de IL-8 y también se ha descrito un incremento en la producción de IL-8 por monocitos de sangre periférica de pacientes con endometriosis.

**IL-4 e IL-10:** nuestras evaluaciones preliminares revelaron que en los líquidos peritoneales de mujeres sin endometriosis, los niveles de ambas citoquinas fueron indetectables, en cambio, sí pudieron cuantificarse en pacientes con endometriosis. Se halló que los niveles de IL-4 eran mayores en los estadios leves que en los severos de la enfermedad, mientras que la IL-10 sólo se pudo cuantificar en las pacientes con endometriosis severa. La IL-4 y la IL-10(102,103) han sido involucradas en el crecimiento de las células endometriales *in vitro* y, por otro lado, inhiben la producción de citoquinas proinflamatorias como la IL-1, la IL-6 y el TNF- $\alpha$ (104). Los niveles de IL-10 presentes en nuestro estudio, coincidieron con los valorados por Hsu y cols.(105), quienes también encontraron niveles elevados de IL-4 en pacientes con endometriosis que atribuyeron a una acción supresora por parte de esta citoquina sobre la citotoxicidad

mediada por células T, lo que permitiría el establecimiento y el crecimiento del endometrio ectópico en la cavidad peritoneal.

Actualmente se dice que la endometriosis es una enfermedad “inflamatoria” pero con un perfil de citoquinas Th2 (antiinflamatorias)(106). Es probable que el tipo de citoquinas predominante dependa del estadio de la enfermedad, ya que –como ya mencionamos– cuando las lesiones son más activas, los macrófagos están más activados, mientras que cuando la enfermedad se hace crónica, la actividad inflamatoria peritoneal disminuye.

**IL-12:** esta citoquina es producida por macrófagos y monocitos y regula la proliferación y citotoxicidad de las células NK. Asimismo, estimula la secreción de varias citoquinas. Se ha demostrado su presencia en el líquido peritoneal de mujeres con endometriosis y normales(107). En particular, se ha observado que la concentración de la subunidad p40 de la IL-12 estaría muy aumentada en las pacientes con endometriosis. Esta subunidad inhibe la actividad de las células NK y disminuye los receptores de IL-12 en estas células(108).

**VEGF:** se demostró que los implantes endometrióticos presentan un mecanismo de neovascularización mediado por el VEGF; se han encontrado altos niveles de esta citoquina en el líquido peritoneal de pacientes con esta enfermedad(109,110). Tanto el tejido endometriótico como los macrófagos peritoneales estarían produciendo VEGF en estas pacientes(111,112). Además el VEGF es estimulado por IL-1 y ambas citoquinas son prometogénicas y antiapoptóticas, por lo que favorecerían el crecimiento, la vascularización y la supervivencia del tejido endometrial ectópico(113).

### **Estrógenos y respuesta inmunológica**

Es un hecho conocido que los esteroides sexuales actúan sobre el sistema inmunológico(114). Se ha demostrado que tanto los estrógenos como los andrógenos inhiben la proliferación y aumentan la apoptosis de LT de manera dosis y tiempo-dependiente. Además, la progesterona aumenta la apoptosis tanto de LT como de LB(115,116).

Asimismo, las mujeres presentan un perfil de citoquinas Th2(117). Burger y Dayer(118) han sugerido que el estradiol inhibe la producción y liberación de las citoquinas de tipo Th1 (IFN $\gamma$  y IL-2) mientras que la testosterona inhibe las citoquinas de tipo Th2 (IL-4). También se ha visto que en mujeres durante la fase luteínica (días 6-9 posterior al pico de LH) aumenta la respuesta de tipo Th2(119).

Como se mencionó, la endometriosis es una enfermedad estrógeno-dependiente y en nuestras evaluaciones hemos corroborado altos niveles de E<sub>2</sub> en el líquido peritoneal de estas pacientes. El aumento en los niveles

de E<sub>2</sub> estaría favorecido por la producción autocrina por parte del endometrio ectópico(120). Este esteroide favorecería no sólo la proliferación del tejido endometrial, sino que inhibiría el ataque por parte del sistema inmunológico(121,122).

En una sección previa se ha comentado el efecto de los estrógenos sobre los macrófagos peritoneales.

Además, existe una relación inversa entre niveles de E<sub>2</sub> y disminución de la actividad de NK(123-125). Luego del tratamiento con agonistas de GnRH aumenta el número y la actividad de NK pero no se sabe si por acción directa o por la disminución de E<sub>2</sub>(126).

Una recopilación realizada por Straub(122) muestra cómo los estrógenos actúan sobre las distintas subpoblaciones de linfocitos T y particularmente cómo su acción sobre los LTh17 y LTreg favorecen el desarrollo de una inflamación crónica. Asimismo, los estrógenos afectan la actividad de células NK, la producción de anticuerpos y la liberación de citoquinas. En la Figura 2 se esquematiza el efecto sobre distintas células inmunocompetentes de niveles altos de estradiol (semejantes a los observados en la preñez) y los niveles bajos (semejantes a los hallados en la posmenopausia).

### Conclusiones finales

En las pacientes con endometriosis existen evidentes alteraciones inmunológicas que podrían ser causa o consecuencia de la presencia de tejido endometrial ectópico y del incremento de los niveles de estrógenos en la cavidad peritoneal.

Las CD y la presentación antigénica a cargo de estas células se hallan disminuidas. La población

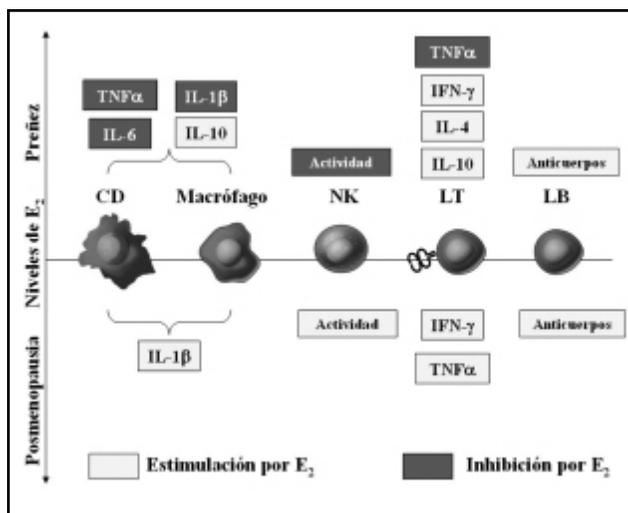
de macrófagos peritoneales está aumentada con respecto a las mujeres normales al mismo tiempo que existe un incremento en la producción de IL-1, VEGF, PGE<sub>2</sub> y liberación de especies reactivas de oxígeno (ROS), lo que favorece la proliferación y angiogénesis de los implantes endometriósicos y el establecimiento de una inflamación crónica. Estas células también tienen disminuida su capacidad de presentar antígenos a los LT.

Estas alteraciones en la población macrófagica podrían deberse al aumento de E<sub>2</sub> en el líquido peritoneal observado en pacientes con endometriosis, sumado al hecho de que los propios macrófagos poseen aromata-sa P450, por lo que podrían tener una producción autocrina de estrógenos.

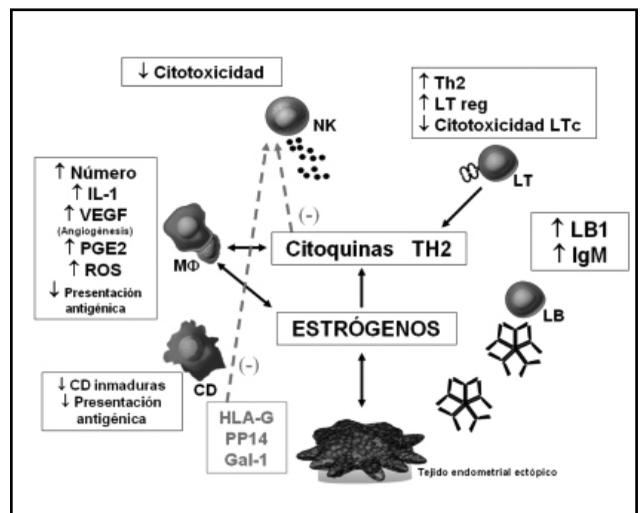
Asimismo, tanto los estrógenos como otros factores solubles tales como PP14, HLA-Gs y citoquinas de tipo Th<sub>2</sub> inducirían una marcada disminución en la actividad de células NK y LT citotóxicos. El incremento de LTreg junto con la expresión Gal-1 y HLA de tipo I no clásicos por parte del tejido endometrial ectópico son otros factores inhibitorios de la citotoxicidad.

Si bien se trata de una enfermedad inflamatoria, en el líquido peritoneal de las pacientes con endometriosis predominan las citoquinas de tipo Th2 que favorecen la tolerancia inmunológica hacia los implantes.

Finalmente, existiría un aumento de la población de LB1 que sería responsable del aumento de anticuerpos de tipo IgM observado en muchas pacientes con endometriosis. Todas estas alteraciones se resumen y esquematizan en la Figura 3.



**Figura 2.** Efecto de los estrógenos sobre las distintas subpoblaciones leucocitarias y sus productos (basado en el esquema publicado por Straub, 2007).



**Figura 3.** Esquema de las alteraciones inmunológicas presentes en la cavidad peritoneal de las pacientes con endometriosis.

## Referencias

1. Giudice LC, Kao LC. Endometriosis. *Lancet*. 2004;364:1789-99.
2. Alvarez P, Chen X, Hendrich J, et al. Ectopic uterine tissue as a chronic pain generator. *Neuroscience*. 2012;225:269-82.
3. Nnoaham KE, Hummelshoj L, Webster P, et al. Impact of endometriosis on quality of life and work productivity: a multicenter study across ten countries. *Fertil Steril*. 2011;96:366-73.
4. Eskenazi B, Warner ML. Epidemiology of endometriosis. *Obstet Gynecol Clin North Am*. 1997;24:235-58.
5. Giudice LC, Kao LC. Endometriosis. *Lancet*. 2004;364:1789-99.
6. Sampson JA. Peritoneal endometriosis due to menstrual dissemination of endometrial tissue into the peritoneal cavity. *Am J Obstet Gynecol*. 1927;14:422-69.
7. Liu DT, Hitchcock A. Endometriosis: its association with retrograde menstruation, dysmenorrhoea and tubal pathology. *Br J Obstet Gynaecol*. 1986;93:859-62.
8. Braun DP, Dmowski WP. Endometriosis: abnormal endometrium and dysfunctional immune response. *Curr Opin Obstet Gynecol*. 1998;10:365-9.
9. Dmowski WP, Ding J, Shen J, Rana N, Fernandez BB, Braun DP. Apoptosis in endometrial glandular and stromal cells in women with and without endometriosis. *Hum Reprod*. 2001;16:1802-8.
10. Meresman GF, Vighi S, Buquet RA, Contreras-Ortiz O, Tesone M, Rumi LS. Apoptosis and expression of Bcl-2 and Bax in eutopic endometrium from women with endometriosis. *Fertil Steril*. 2000;74:760-6.
11. Tariverdian N, Siedentopf F, Rucke M, et al. Intraperitoneal immune cell status in infertile women with and without endometriosis. *J Reprod Immunol*. 2009;80:80-90.
12. Schulke L, Berbic M, Manconi F, Tokushige N, Markham R, Fraser IS. Dendritic cell populations in the eutopic and ectopic endometrium of women with endometriosis. *Hum Reprod*. 2009;24:1695-703.
13. Fainaru O, Adini A, Benny O, et al. Dendritic cells support angiogenesis and promote lesion growth in a murine model of endometriosis. *FASEB J*. 2008;22:522-9.
14. Coronato S, Laguens GE, Spinelli OM, Salas MA, Di Girolamo W. Dendritic cells and their role in pathology. *Medicina (Bs. As.)*. 1998;58:209-18.
15. Na YJ, Jin JO, Lee MS, Song MG, Lee KS, Kwak JY. Peritoneal fluid from endometriosis patients switches differentiation of monocytes from dendritic cells to macrophages. *J Reprod Immunol*. 2008;77:63-74.
16. Raiter-Tenenbaum A, Barañao RI, Etchepareborda JJ, Meresman GF, Rumi LS. Functional and phenotypic alterations in peritoneal macrophages from patients with early and advanced endometriosis. *Arch Gynecol Obstet*. 1998;261:147-57.
17. Tenenbaum A, Barañao RI, Etchepareborda JJ, Lavarello M, Keserü E, Rumi LS. Functional alterations of peritoneal macrophages in patients with mild endometriosis. In: Rodríguez Armas, ed. *Fertility and Sterility. Progress in Research and Practice*. Parthenon Publications, 1994; pp. 112-8.
18. Yamamoto Y, Maeda N, Izumiya C, et al. Decreased human leukocyte antigen-DR expression in the lipid raft by peritoneal macrophages from women with endometriosis. *Fertil Steril*. 2007.
19. Kusume T, Maeda N, Izumiya C, et al. Human leukocyte antigen expression by peritoneal macrophages from women with pelvic endometriosis is depressed but coordinated with costimulatory molecule expression. *Fertil Steril*. 2005;83 Suppl 1:1232-40.
20. Lee KS, Baek DW, Kim KH, et al. IL-10-dependent down-regulation of MHC class II expression level on monocytes by peritoneal fluid from endometriosis patients. *Int Immunopharmacol*. 2005;5:1699-712.
21. Pellicer A, Albert C, Mercader A, Bonilla-Musoles F, Remohi J, Simon C. The follicular and endocrine environment in women with endometriosis: local and systemic cytokine production. *Fertil Steril*. 1998;70:425-31.
22. Barañao RI, Tenenbaum A, Meresman GF, Rumi LS. Murine peritoneal macrophages in syngeneic and allogeneic pregnancies. *Theriogenology*. 1996;46:1257-66.
23. Barañao RI, Tenenbaum A, Sales ME, Rumi LS. Functional alterations of murine peritoneal macrophages during pregnancy. *Am J Reprod Immunol*. 1992;27:82-6.
24. Barañao RI, Tenenbaum A, Rumi LS. Effects of sexual steroid hormones on the functionality of murine peritoneal macrophages. *Steroids*. 1991;56:481-5.
25. Tenenbaum A, Barañao RI, Etchepareborda JJ, Lavarello M, Keserü E, Rumi LS. Alteraciones en macrófagos peritoneales de pacientes con endometriosis y su relación con los niveles estrogénicos. *Medicina (Bs. As.)*. 1992;52:452-3.
26. Bulun SE, Fang Z, Imir G, et al. Aromatase and endometriosis. *Semin Reprod Med*. 2004;22:45-50.
27. Schmidt M, Naumann H, Weidler C, Schellenberg M, Anders S, Straub RH. Inflammation and sex hormone metabolism. *Ann NY Acad Sci*. 2006;1069:236-46.
28. Simpson ER. Sources of estrogen and their importance. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2003;86:225-30.
29. Montagna P, Capellino S, Villaggio B, et al. Peritoneal fluid macrophages in endometriosis: correlation between the expression of estrogen receptors and inflammation. *Fertil Steril*. 2008;90:156-64.
30. Capellino S, Montagna P, Villaggio B, et al. Role of estrogens in inflammatory response: expression of estrogen receptors in peritoneal fluid macrophages from endometriosis. *Ann NY Acad Sci*. 2006;1069:263-7.
31. Hong M, Zhu Q. Macrophages are activated by 17beta-estradiol: possible permission role in endometriosis. *Exp Toxicol Pathol*. 2004;55:385-91.
32. Sharpe-Timms KL, Ricke EA, Piva M, Horowitz GM. Differential expression and localization of de-novo synthesized endometriot haptoglobin in endometrium and endometriot lesions. *Hum Reprod*. 2000;15:2180-5.
33. Sharpe-Timms KL, Piva M, Ricke EA, Surewicz K, Zhang YL, Zimmer RL. Endometriot lesions synthesize and secrete a haptoglobin-like protein. *Biol Reprod*. 1998;58:988-94.

34. Tenenbaum A, Barañao RI, Meresman GF, Etchepareborda JJ, Lavarello M, Rumi LS. Evaluación de los niveles de prostaglandina E2 en fluido peritoneal y macrófagos peritoneales de pacientes con endometriosis. Abstract Book of the VII Argentine Congress of Fertility and Sterility. 1993;43 (abstr).
35. Wu MH, Sun HS, Lin CC, et al. Distinct mechanisms regulate cyclooxygenase-1 and -2 in peritoneal macrophages of women with and without endometriosis. *Mol Hum Reprod*. 2002;8:1103-10.
36. Neeb L, Hellen P, Boehnke C, et al. IL-1beta stimulates COX-2 dependent PGE(2) synthesis and CGRP release in rat trigeminal ganglia cells. *PLoS.One*. 2011;6:e17360.
37. Attar E, Tokunaga H, Imir G, et al. Prostaglandin E2 via steroidogenic factor-1 coordinately regulates transcription of steroidogenic genes necessary for estrogen synthesis in endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009;94:623-31.
38. Bulun SE, Gurates B, Fang Z, et al. Mechanisms of excessive estrogen formation in endometriosis. *J Reprod Immunol*. 2002;55:21-33.
39. Gupta S, Goldberg JM, Aziz N, Goldberg E, Krajcir N, Agarwal A. Pathogenic mechanisms in endometriosis-associated infertility. *Fertil Steril*. 2008;90:247-57.
40. Bulun SE, Gurates B, Fang Z, et al. Mechanisms of excessive estrogen formation in endometriosis. *J Reprod Immunol*. 2002;55:21-33.
41. Berbic M, Schulke L, Markham R, Tokushige N, Russell P, Fraser IS. Macrophage expression in endometrium of women with and without endometriosis. *Hum Reprod*. 2009;24:325-32.
42. Alvarez P, Chen X, Hendrich J, et al. Ectopic uterine tissue as a chronic pain generator. *Neuroscience*. 2012;225:269-82.
43. Tran LV, Tokushige N, Berbic M, Markham R, Fraser IS. Macrophages and nerve fibres in peritoneal endometriosis. *Hum Reprod*. 2009;24:835-41.
44. Barcz E, Kaminski P, Marianowski L. VEGF concentration in peritoneal fluid of patients with endometriosis. *Ginekol Pol*. 2001;72:442-8.
45. Donnez J, Smoes P, Gillerot S, Casanas-Roux F, Nisolle M. Vascular endothelial growth factor (VEGF) in endometriosis. *Hum Reprod*. 1998;13:1686-90.
46. McLaren J, Prentice A, Charnock-Jones DS, Smith SK. Vascular endothelial growth factor (VEGF) concentrations are elevated in peritoneal fluid of women with endometriosis. *Hum Reprod*. 1996;11:220-3.
47. Mantovani A, Sozzani S, Locati M, Allavena P, Sica A. Macrophage polarization: tumor-associated macrophages as a paradigm for polarized M2 mononuclear phagocytes. *Trends Immunol*. 2002;23:549-55.
48. Martinez FO, Sica A, Mantovani A, Locati M. Macrophage activation and polarization. *Front Biosci*. 2008;13:453-61.
49. Capobianco A, Rovere-Querini P. Endometriosis, a disease of the macrophage. *Front Immunol*. 2013;4:9.
50. Bacci M, Capobianco A, Monno A, et al. Macrophages are alternatively activated in patients with endometriosis and required for growth and vascularization of lesions in a mouse model of disease. *Am J Pathol*. 2009;175:547-56.
51. Vigano P, Vercellini P, Di Blasio AM, Colombo A, Candiani GB, Vignali M. Deficient antiendometrium lymphocyte-mediated cytotoxicity in patients with endometriosis. *Fertil Steril*. 1991;56:894-9.
52. Dmowski WP, Braun DP. Immunology of endometriosis. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2004;18:245-63.
53. Oosterlynck DJ, Meuleman C, Waer M, Vandeputte M, Koninckx PR. The natural killer activity of peritoneal fluid lymphocytes is decreased in women with endometriosis. *Fertil Steril*. 1992;58:290-5.
54. Kanzaki H, Wang HS, Kariya M, Mori T. Suppression of natural killer cell activity by sera from patients with endometriosis. *Am J Obstet Gynecol*. 1992;167:257-61.
55. Somigliana E, Vigano P, Gaffuri B, et al. Modulation of NK cell lytic function by endometrial secretory factors: potential role in endometriosis. *Am J Reprod Immunol*. 1996;36:295-300.
56. Garzetti GG, Ciavattini A, Provinciali M, Fabris N, Cignitti M, Romanini C. Natural killer cell activity in endometriosis: correlation between serum estradiol levels and cytotoxicity. *Obstet Gynecol*. 1993;81:665-8.
57. Provinciali M, Di Stefano G, Muzzioli M, Garzetti GG, Ciavattini A, Fabris N. Relationship between 17-beta-estradiol and prolactin in the regulation of natural killer cell activity during progression of endometriosis. *J Endocrinol Invest*. 1995;18:645-52.
58. Sikora J, Mielczarek-Palacz A, Kondera-Anasz Z. Role of natural killer cell activity in the pathogenesis of endometriosis. *Curr Med Chem*. 2011;18:200-8.
59. Maeda N, Izumiya C, Taniguchi K, Matsushima S, Fukaya T. Role of NK cells and HLA-G in endometriosis. *Front Biosci (Schol Ed)*. 2012;4:1568-81.
60. Koninckx PR, Riittinen L, Seppala M, Cornillie FJ. CA-125 and placental protein 14 concentrations in plasma and peritoneal fluid of women with deeply infiltrating pelvic endometriosis. *Fertil Steril*. 1992;57:523-30.
61. Meola J, Dentillo DB, Rosa e Silva JC, et al. Glycodelin expression in the endometrium of healthy women and in the eutopic and ectopic endometrium of women with endometriosis. *Fertil Steril*. 2009;91:1676-80.
62. Baston JI, Ricci A, Bilotas M, et al. Galectin-1 expression in stroma of lesions and endometrium from patients with endometriosis. *Biocell*. 2011;35:A296.
63. Gleicher N, Dmowski WP, Siegel I, et al. Lymphocyte subsets in endometriosis. *Obstet Gynecol*. 1984;63:463-6.
64. Badawy SZ, Cuenca V, Marshall L, Munchback R, Rinas AC, Coble DA. Cellular components in peritoneal fluid in infertile patients with and without endometriosis. *Fertil Steril*. 1984;42:704-8.
65. Dmowski WP, Gebel HM, Braun DP. The role of cell-mediated immunity in pathogenesis of endometriosis. *Acta Obstet Gynecol Scand Suppl* 1994;159:7-14.
66. Hill JA, Anderson DJ. Lymphocyte activity in the presence of peritoneal fluid from fertile women and infertile women with and without endometriosis. *Am J Obstet Gynecol*. 1989;161:861-4.

67. Gilmore SM, Aksel S, Hoff C, Peterson RD. In vitro lymphocyte activity in women with endometriosis--an altered immune response? *Fertil Steril.* 1992;58:1148-52.
68. Melioli G, Semino C, Semino A, Venturini PL, Ragni N. Recombinant interleukin-2 corrects in vitro the immunological defect of endometriosis. *Am J Reprod Immunol.* 1993;30:218-27.
69. Selam B, Kayisli UA, Akbas GE, Basar M, Arici A. Regulation of FAS ligand expression by chemokine ligand 2 in human endometrial cells. *Biol Reprod.* 2006;75:203-9.
70. Ho HN, Wu MY, Chao KH, Chen CD, Chen SU, Yang YS. Peritoneal interleukin-10 increases with decrease in activated CD4+ T lymphocytes in women with endometriosis. *Hum Reprod.* 1997;12:2528-33.
71. Szylo K, Tchorzewski H, Banasik M, Glowacka E, Lewkowicz P, Kamer-Bartosinska A. The involvement of T lymphocytes in the pathogenesis of endometriotic tissues overgrowth in women with endometriosis. *Mediators Inflamm.* 2003;12:131-8.
72. Osuga Y, Koga K, Hirota Y, Hirata T, Yoshino O, Taketani Y. Lymphocytes in endometriosis. *Am J Reprod Immunol.* 2011;65:1-10.
73. Hirata T, Osuga Y, Hamasaki K, et al. Interleukin (IL)-17A stimulates IL-8 secretion, cyclooxygenase-2 expression, and cell proliferation of endometriotic stromal cells. *Endocrinology.* 2008;149:1260-7.
74. Velasco I, Acien P, Campos A, Acien MI, Ruiz-Macia E. Interleukin-6 and other soluble factors in peritoneal fluid and endometriomas and their relation to pain and aromatase expression. *J Reprod Immunol.* 2010;84:199-205.
75. Berbic M, Hey-Cunningham AJ, Ng C, et al. The role of Foxp3+ regulatory T-cells in endometriosis: a potential controlling mechanism for a complex, chronic immunological condition. *Hum Reprod.* 2010;25:900-7.
76. Berbic M, Fraser IS. Regulatory T cells and other leukocytes in the pathogenesis of endometriosis. *J Reprod Immunol.* 2011;88:149-55.
77. Weed JC, Arquembourg PC. Endometriosis: can it produce an autoimmune response resulting in infertility? *Clin Obstet Gynecol.* 1980;23:885-93.
78. Gleicher N, el Roeiy A, Confino E, Friberg J. Is endometriosis an autoimmune disease? *Obstet Gynecol.* 1987;70:115-22.
79. Gleicher N. Autoantibodies in endometriosis--epiphenomenon? *Fertil Steril.* 1990;54:543-4.
80. Gleicher N, Pratt D. Abnormal (auto)immunity and endometriosis. *Int J Gynaecol Obstet.* 1993;40 Suppl:S21-S27.
81. Berkkanoglu M, Arici A. Immunology and endometriosis. *Am J Reprod Immunol.* 2003;50:48-59.
82. Olovsson M. Immunological aspects of endometriosis: an update. *Am J Reprod Immunol.* 2011;66 Suppl 1:101-4.
83. Hever A, Roth RB, Hevezi P, et al. Human endometriosis is associated with plasma cells and overexpression of B lymphocyte stimulator. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2007;104:12451-6.
84. Startseva NV. Clinical immunological aspects of genital endometriosis. *Akush Ginekol (Mosk).* 1980;23-6.
85. Gagne D, Rivard M, Page M, Shazand K, Hugo P, Gosselin D. Blood leukocyte subsets are modulated in patients with endometriosis. *Fertil Steril.* 2003;80:43-53.
86. Berkkanoglu M, Arici A. Immunology and endometriosis. *Am J Reprod Immunol.* 2003;50:48-59.
87. Poncin S, Lengele B, Colin IM, Gerard AC. Differential interactions between Th1/Th2, Th1/Th3, and Th2/Th3 cytokines in the regulation of thyroperoxidase and dual oxidase expression, and of thyroglobulin secretion in thyrocytes in vitro. *Endocrinology.* 2008;149:1534-42.
88. Raghupathy R. Pregnancy: success and failure within the Th1/Th2/Th3 paradigm. *Semin Immunol.* 2001;13:219-27.
89. Hill JA, Anderson DJ. Lymphocyte activity in the presence of peritoneal fluid from fertile women and infertile women with and without endometriosis. *Am J Obstet Gynecol.* 1989;161:861-4.
90. Fakih H, Baggett B, Holtz G, Tsang KY, Lee JC, Williamson HO. Interleukin-1: a possible role in the infertility associated with endometriosis. *Fertil Steril.* 1987;47:213-7.
91. Taketani Y, Kuo TM, Mizuno M. Comparison of cytokine levels and embryo toxicity in peritoneal fluid in infertile women with untreated or treated endometriosis. *Am J Obstet Gynecol.* 1992;167:265-70.
92. Tsudo T, Harada T, Iwabe T, et al. Altered gene expression and secretion of interleukin-6 in stromal cells derived from endometriotic tissues. *Fertil Steril.* 2000;73:205-11.
93. Martinez S, Garrido N, Coperias JL, et al. Serum interleukin-6 levels are elevated in women with minimal-mild endometriosis. *Hum Reprod.* 2007;22:836-42.
94. Arici A, Head JR, MacDonald PC, Casey ML. Regulation of interleukin-8 gene expression in human endometrial cells in culture. *Mol Cell Endocrinol.* 1993;94:195-204.
95. Arici A, Seli E, Senturk LM, Gutierrez LS, Oral E, Taylor HS. Interleukin-8 in the human endometrium. *J Clin Endocrinol Metab.* 1998;83:1783-7.
96. Arici A, Seli E, Zeyneloglu HB, Senturk LM, Oral E, Olive DL. Interleukin-8 induces proliferation of endometrial stromal cells: a potential autocrine growth factor. *J Clin Endocrinol Metab.* 1998;83:1201-5.
97. Arici A, Tazuke SI, Attar E, Kliman HJ, Olive DL. Interleukin-8 concentration in peritoneal fluid of patients with endometriosis and modulation of interleukin-8 expression in human mesothelial cells. *Mol Hum Reprod.* 1996;2:40-5.
98. Iwabe T, Harada T, Tsudo T, Tanikawa M, Onohara Y, Terakawa N. Pathogenetic significance of increased levels of interleukin-8 in the peritoneal fluid of patients with endometriosis. *Fertil Steril.* 1998;69:924-30.
99. Garcia-Velasco JA, Arici A. Interleukin-8 stimulates the adhesion of endometrial stromal cells to fibronectin. *Fertil Steril.* 1999;72:336-40.
100. Arici A. Local cytokines in endometrial tissue: the role of interleukin-8 in the pathogenesis of endometriosis. *Ann NY Acad Sci.* 2002;955:101-9.
101. Mulayim N, Savlu A, Guzeloglu-Kayisli O, Kayisli UA, Arici A. Regulation of endometrial stromal cell matrix metalloproteinase activity and invasiveness by interleu-

- kin-8. *Fertil Steril*. 2004;81 Suppl 1:904-11.
102. Punnonen J, Teisala K, Ranta H, Bennett B, Punnonen R. Increased levels of interleukin-6 and interleukin-10 in the peritoneal fluid of patients with endometriosis. *Am J Obstet Gynecol*. 1996;174:1522-6.
103. Ho HN, Wu MY, Chao KH, Chen CD, Chen SU, Yang YS. Peritoneal interleukin-10 increases with decrease in activated CD4+ T lymphocytes in women with endometriosis. *Hum Reprod*. 1997;12:2528-33.
104. Fiorentino DF, Zlotnik A, Mosmann TR, Howard M, O'Garra A. IL-10 inhibits cytokine production by activated macrophages. *J Immunol*. 1991;147:3815-22.
105. Hsu CC, Yang BC, Wu MH, Huang KE. Enhanced interleukin-4 expression in patients with endometriosis. *Fertil Steril*. 1997;67:1059-64.
106. Podgaec S, Abrao MS, Dias JA, Jr., Rizzo LV, de Oliveira RM, Baracat EC. Endometriosis: an inflammatory disease with a Th2 immune response component. *Hum Reprod*. 2007;22:1373-9.
107. Zeyneloglu HB, Senturk LM, Seli E, Bahtiyar OM, Olive DL, Arici A. The peritoneal fluid levels of interleukin-12 in women with endometriosis. *Am J Reprod Immunol*. 1998;39:152-6.
108. Mazzeo D, Vigano P, Di Blasio AM, Sinigaglia F, Vignali M, Panina-Bordignon P. Interleukin-12 and its free p40 subunit regulate immune recognition of endometrial cells: potential role in endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab*. 1998;83:911-6.
109. McLaren J, Prentice A, Charnock-Jones DS, Smith SK. Vascular endothelial growth factor (VEGF) concentrations are elevated in peritoneal fluid of women with endometriosis. *Hum Reprod*. 1996;11:220-3.
110. Barcz E, Kaminski P, Marianowski L. VEGF concentration in peritoneal fluid of patients with endometriosis. *Ginek Pol*. 2001;72:442-8.
111. McLaren J, Prentice A, Charnock-Jones DS, Smith SK. Vascular endothelial growth factor (VEGF) concentrations are elevated in peritoneal fluid of women with endometriosis. *Hum Reprod*. 1996;11:220-3.
112. Donnez J, Smoes P, Gillerot S, Casanas-Roux F, Nisolle M. Vascular endothelial growth factor (VEGF) in endometriosis. *Hum Reprod*. 1998;13:1686-90.
113. Bilotas M, Meresman G, Buquet R, Sueldo C, Barañao RI. Effect of vascular endothelial growth factor and interleukin-1beta on apoptosis in endometrial cell cultures from patients with endometriosis and controls. *J Reprod Immunol*. 2010;84:193-8.
114. Barañao RI. Hormonas sexuales y respuesta inmunológica. *Revista de la Sociedad Argentina de Endocrinología Ginecológica y Reproductiva*. 2009;XVI:20-30.
115. McMurray RW. Sex hormones in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *Front Biosci*. 2001;6:E193-E206.
116. McMurray RW, Suwannaroj S, Ndebele K, Jenkins JK. Differential effects of sex steroids on T and B cells: modulation of cell cycle phase distribution, apoptosis and bcl-2 protein levels. *Pathobiology*. 2001;69:44-58.
117. Giltay EJ, Fonk JC, von Blomberg BM, Drexhage HA, Schalkwijk C, Gooren LJ. In vivo effects of sex steroids on lymphocyte responsiveness and immunoglobulin levels in humans. *J Clin Endocrinol Metab*. 2000;85:1648-57.
118. Burger D, Dayer JM. Cytokines, acute-phase proteins, and hormones: IL-1 and TNF-alpha production in contact-mediated activation of monocytes by T lymphocytes. *Ann NY Acad Sci*. 2002;966:464-73.
119. Giron-Gonzalez JA, Moral FJ, Elvira J, et al. Consistent production of a higher TH1:TH2 cytokine ratio by stimulated T cells in men compared with women. *Eur J Endocrinol*. 2000;143:31-6.
120. Bulun SE, Gurates B, Fang Z, et al. Mechanisms of excessive estrogen formation in endometriosis. *J Reprod Immunol*. 2002;55:21-33.
121. Ferguson MM, McDonald FG. Oestrogen as an inhibitor of human NK cell cytotoxicity. *FEBS Lett*. 1985;191:145-8.
122. Straub RH. The complex role of estrogens in inflammation. *Endocr Rev*. 2007;28:521-74.
123. Garzetti GG, Ciavattini A, Provinciali M, Fabris N, Cignitti M, Romanini C. Natural killer cell activity in endometriosis: correlation between serum estradiol levels and cytotoxicity. *Obstet Gynecol*. 1993;81:665-8.
124. Garzetti GG, Ciavattini A, Provinciali M, Muzzioli M, Di Stefano G, Fabris N. Natural killer activity in stage III and IV endometriosis: impaired cytotoxicity and retained lymphokine responsiveness of natural killer cells. *Gynecol Endocrinol*. 1995;9:125-30.
125. Vinatier D, Orazi G, Cosson M, Dufour P. Theories of endometriosis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2001;96:21-34.
126. Garzetti GG, Ciavattini A, Provinciali M, Muzzioli M, Di Stefano G, Fabris N. Natural cytotoxicity and GnRH agonist administration in advanced endometriosis: positive modulation on natural killer activity. *Obstet Gynecol*. 1996;88:234-40.

## Tiroiditis posparto

### *Postpartum thyroiditis*

Dras. Marina Gelin, Alejandra Belardo y Paola García

Hospital Italiano de Buenos Aires. Servicio de Ginecología. Sección Endocrinología Ginecológica

e-mail: marina.gelin@hospitalitaliano.org.ar

#### Resumen

La tiroiditis posparto es una entidad autoinmune asociada con la presencia de anticuerpos antitiroideos. Su incidencia en la población general es baja, entre el 1,1 y el 18,2%. Sin embargo, es considerablemente mayor en mujeres con otros desórdenes autoinmunes, como diabetes tipo I, síndrome de Sjögren, lupus eritematoso sistémico y en mujeres con autoanticuerpos antitiroideos en el primer trimestre del embarazo, en quienes la incidencia llega hasta el 50%. Su presentación clínica es variable. La forma más común, en el 48% de los casos, es un episodio solitario de hipotiroidismo. Le siguen en frecuencia la tirotoxicosis aislada (30%) y la presentación bifásica: una fase de tiroiditis seguida de una de hipotiroidismo (22%). El tratamiento es controvertido. Generalmente se recomienda un  $\beta$ -bloqueante para la fase de tirotoxicosis y ninguna terapéutica o bien levotiroxina, en la fase de hipotiroidismo. Habitualmente es una entidad transitoria que resuelve dentro del primer año posparto.

**Palabras clave:** tiroiditis posparto, función tiroidea y embarazo.

#### Abstract

*Postpartum thyroiditis is an autoimmune disease associated with the presence of antithyroid antibodies. Its incidence in the population is low, between 1.1 and 18.2%. However is significantly increased in women with other autoimmune disorders such as type I diabetes, Sjögren syndrome and systemic lupus erythematosus. Women with antithyroid autoantibodies have higher incidence (50%). The most common presentation is an isolated episode of hypothyroidism. It occurs in 48% of cases, followed by isolated thyrotoxicosis (30%) and biphasic presentation: thyrotoxicosis followed by hypothyroidism (22%). Treatment is controversial. Beta-blocker is generally recommended for thyrotoxicosis phase. The decision to prescribe or not levothyroxine in the hypothyroidism phase depends on many factors. Typically, it is a transitory entity that resolves within the first year postpartum.*

**Keywords:** *postpartum thyroiditis, thyroid function and pregnancy.*

#### Introducción

La tiroiditis posparto (TPP) se define como la aparición *de novo* de autoinmunidad tiroidea dentro del primer año posparto, excluyendo la enfermedad de Graves. Es un desorden autoinmune asociado con la presencia de anticuerpos antitiroideos.

La incidencia de TPP en la población está entre el 1,1 y el 18,2%, con una mediana del 5,4% al 8,1%, lo cual es discutido por varios autores (1,3). Sin embargo, es mayor en mujeres con otros desórdenes autoinmunes, como la diabetes tipo 1, en las que llega hasta el 25% (4,5), lupus eritematoso sistémico (6) (14%), hepatitis viral crónica (7) o síndrome de Sjögren (8) y se desarrollará en el 33 al 50% de mujeres que presenten autoinmunidad tiroidea positiva (ATT+) en el primer trimestre del embarazo.

Las mujeres con mayor título de anticuerpos tienen mayor riesgo de desarrollar la enfermedad (9). Es decir, existe una relación directamente proporcional entre el título de anticuerpos y el riesgo de desarrollar TPP. Por otro lado, cabe destacar su alta recurrencia en embarazos subsiguientes.

#### Fisiopatogenia

Su ocurrencia en el período posparto, momento en el que la relativa “inmunosupresión” propia del embarazo desaparece, apoya la teoría del origen autoinmune de la TPP (1).

Durante el embarazo ocurren muchos cambios en el sistema inmune materno, incluyendo variaciones en las respuestas de los linfocitos T (Th1 y Th2). Al final del embarazo, hay una disminución de las citoquinas de los linfocitos Th1, la IL-2, el TNF- $\alpha$ , los linfocitos TCD4 y CD8, los linfocitos T citotóxicos y las células “*natural killer*”, con un subsiguiente aumento posparto (2).

Este rebote está asociado con una inflamación dolorosa de la glándula tiroidea, muy semejante a la observada en la tiroiditis subaguda. Inicialmente, la alteración folicular conduce a la pérdida de hormona tiroidea hacia la circulación y, en consecuencia, un estado de hipertiroidismo transitorio. Posteriormente, mientras el epitelio tiroideo es regenerado, se produce una etapa de hipotiroidismo. En la mayoría de los casos la función tiroidea se restablece dentro de los 6 a 12 meses (2).

## Presentación clínica

Su forma de presentación es variable. En su forma clásica, llamada bifásica, la fase de tirotoxicosis es sucedida por la fase de hipotiroidismo, para luego instalarse el eutiroidismo. Otras presentaciones incluyen la tirotoxicosis sola o el hipotiroidismo solo.

El orden de frecuencia de las posibles presentaciones es el siguiente (10-12):

1. 48% episodio aislado de hipotiroidismo.
2. 30% tirotoxicosis aislada.
3. 22% presentación bifásica.

### Síntomas de tirotoxicosis

Suelen aparecer entre 1 y 6 meses posparto, mayormente a los 3 meses, y su duración oscila entre 1 y 2 meses (**Cuadro 1**).

El 30% de las pacientes es asintomática. Es importante realizar diagnóstico diferencial con la enfermedad de Graves *de novo* que se desarrolla en el período posparto. Por lo general, los síntomas de tirotoxicosis de la TPP tienden a ser más leves (13).

### Síntomas de hipotiroidismo

Generalmente se desarrollan entre los 3 y los 8 meses posparto y la mayor parte de los casos son asintomáticos. El 40% de las mujeres que desarrollan una única fase de hipotiroidismo y el 25% de las mujeres que presentan la forma bifásica de la TPP van a experimentar sintomatología (14,15) (5) (**Cuadro 1**).

En un estudio de Kuijpers y cols. (16) se demostró que todos los síntomas fueron más frecuentes en aquellas mujeres con TPP que presentaron ATT+.

Se han realizado muchos estudios intentando hallar una asociación entre TPP y depresión posparto, pero los resultados no fueron concluyentes: aproximadamente la mitad de los estudios mostraron la existencia de relación entre depresión posparto y TPP, y la mitad no ha podido establecer dicha asociación (1).

Actualmente, se recomienda dosaje de TSH, T4L y anticuerpos antiperoxidasa (ATPO) en mujeres con depresión posparto (17), y se recomienda el tratamiento con hormona tiroidea solamente en aquellos casos en que la depresión coexiste con el diagnóstico de TPP.

### Tratamiento y seguimiento

Actualmente, el tratamiento de la TPP está basado en la experiencia clínica, ya que no existe consenso acerca de la primera línea terapéutica y no existen estudios prospectivos que comparen diferentes opciones terapéuticas (17).

### Tratamiento de fase de tirotoxicosis

El tratamiento de la fase de tirotoxicosis se determina de acuerdo con la sintomatología predominante. Debido a que se trata de una tiroiditis destructiva, no se deben utilizar drogas anti tiroideas. Si la paciente presenta sintomatología leve a moderada, o bien es asintomática, no se justifica iniciar tratamiento farmacológico; en caso de requerirse, la droga de elección es el propranolol a la menor dosis posible y por el menor tiempo posible. Generalmente se administra por unos pocos meses (**Cuadro 2**).

Resuelta la fase de hipotiroidismo, se debe realizar dosaje de TSH cada 2 meses durante el primer año posparto.

### Tratamiento de la fase de hipotiroidismo (1,17)

El tratamiento de la fase de hipotiroidismo con levotiroxina sólo será necesario en los siguientes casos:

1. Severidad de los síntomas.
2. Lactancia actual.
3. Búsqueda de un nuevo embarazo.
4. Aumento de TSH que persiste por más de seis meses.

Se debe realizar dosaje de TSH a las 4 a 8 semanas de iniciado el tratamiento y se lo mantendrá por el tiempo que sea necesario, de acuerdo con las necesidades de la paciente.

Síntomas de hipotiroidismo	Síntomas de tiroiditis
Asintomática	Asintomática
Piel seca	Palpitaciones
Falta de energía	Pérdida de peso
Falta de concentración	Ansiedad
Disminución de memoria	Irritabilidad
Constipación	Fatiga
Depresión	
Intolerancia al frío	

**Cuadro 1.** Clínica de TPP.

Si la paciente se encuentra asintomática, no es necesario realizar tratamiento farmacológico, y se debe realizar dosaje de TSH en 4 a 8 semanas.

Generalmente la TPP es una entidad transitoria, y la mayor parte las mujeres recuperan su función tiroidea al final del primer año luego del parto, aunque el 20 al 64% de las mujeres permanecen hipotiroideas por varios años (18).

Existen factores de riesgo para el desarrollo de un hipotiroidismo permanente:

1. Multiparidad.
2. Hipocogenicidad en la ecografía tiroidea.
3. Severidad clínica.
4. Presencia de ATPO.
5. Edad materna.
6. Antecedente de abortos previos.

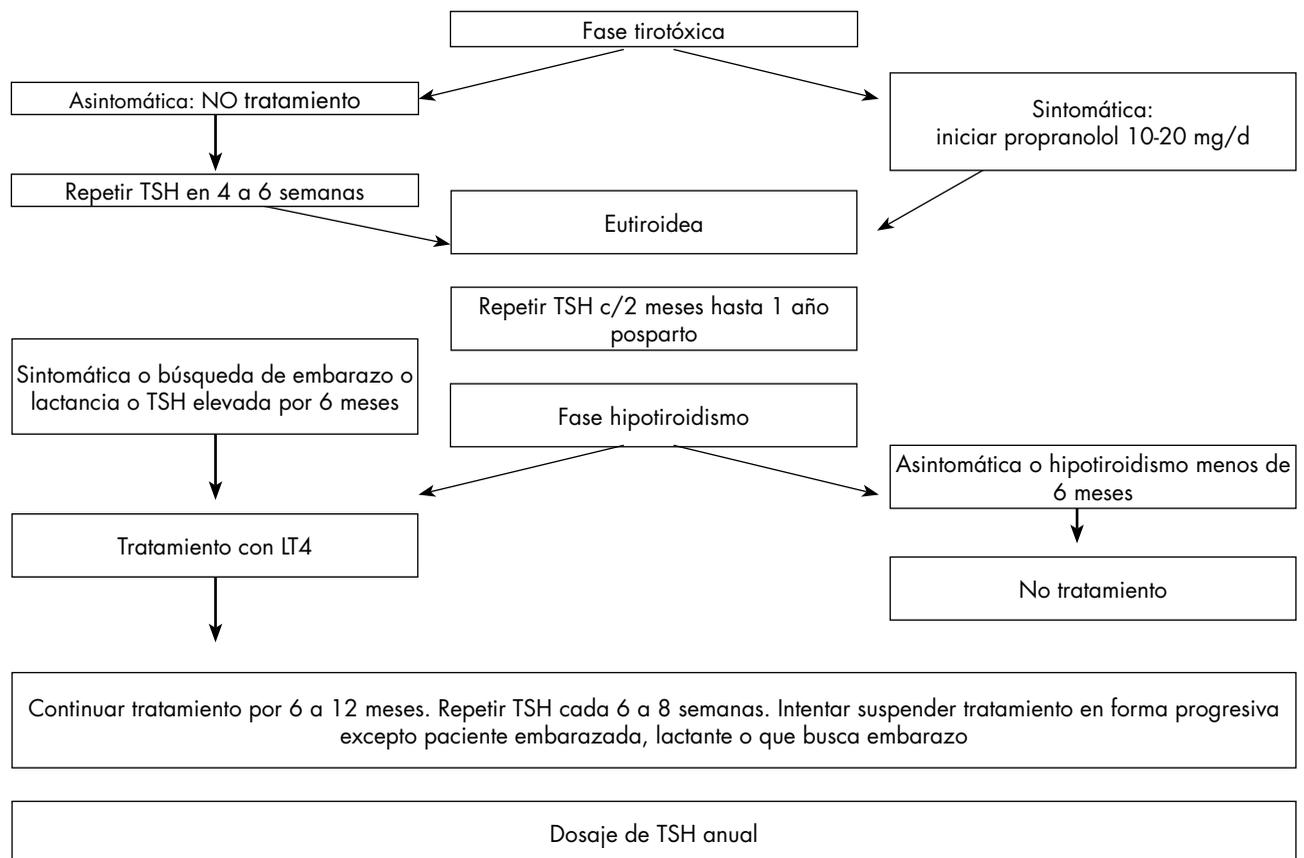
**Conclusión**

La TPP es una entidad poco frecuente, pero debido a su implicancia clínica, y al momento tan peculiar en la vida de la mujer en la que se presenta, es importante conocerla y tenerla en cuenta frente a sintomatología sugerente.

La elección de su tratamiento dependerá de la forma de presentación y la sintomatología predominante

**Referencias**

1. Stagnaro-Green A. Approach to the patient with postpartum thyroiditis. J Clin Endocrinol Metab. 2012;97(2):334-342.
2. Smallridge RC. Hypothyroidism and pregnancy. CME Review Article 31. The Endocrinologist. 2002;12:454-464.
3. Nicholson WK, Robinson KA, et al. Prevalence of postpartum thyroid dysfunction: a quantitative review. Thyroid. 2006;16:573-582.
4. Walfish PG, Meyerson J, Provias JP, et al. Prevalence and characteristics of post-partum thyroid dysfunctions: results of a survey of Toronto, Canada. J Endocrinol Invest. 1992;15:265-272.
5. Alvarez Marfany M, Roman SH, et al. Long term prospective study of postpartum thyroid dysfunction in women with insulin dependent diabetes mellitus. J Clin Endocrinol Metabol. 1994;79:10-16.
6. Stagnaro-Green A, Akther E, Yim C, et al. Thyroid disease in pregnant women with systemic lupus erithematosus: increased preterm delivery. Lupus. 2011;20:690-99.



**Cuadro 2.** Algoritmo de seguimiento y tratamiento de mujeres con TPP (17).

7. Elefsionitis IS, Vezali E, Pantazis KD, Saraglou G. post-partum thyroiditis in women with chronic viral hepatitis. *J Clin Virol.* 2008;41:318-319.
8. Goudbjornsson B, Karls Son-Parra A, Karlsson E, Hallgren R, Kampe O. Clinical and laboratory features of Sjogren's syndrome in young women with previous postpartum thyroiditis. *J Rheumatol.* 1994;21:215-19.
9. Smallridge RC. Postpartum thyroid disease: a model of immunologic dysfunction. *Clin Appl Immunol Rev.* 2000;1:89-103.
10. Amino N, Mori H, Iwatani Y, et al. High prevalence of transient post partum thyrotoxicosis and hypothyroidism. *N England J Med.* 1982;306:849-852.
11. Filippi U, Brizzolara R, Venuti D, et al. Prevalence of Post Partum Thyroiditis in Lyguria: an observational study. *J Endocrinol Invest.* 2008;31:1063-1068.
12. Stagnaro-Green A, Schwartz A, Grismondi R, et al. High rate of persistent hypothyroidism in a large-scale prospective study of postpartum thyroiditis in southern Italy. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011;96:652-657.
13. Stagnaro-Green A. Clinical Review 152: Postpartum Thyroiditis. *J Clin Endocrinol Metabol.* 2002;87:4042-47.
14. Hiaka Y, Tamaki H, Iwatani Y, et al. Prediction of Postpartum Graves's Thyrotoxicosis by Measurement of Thyroid Stimulating Antibody in Early Pregnancy. *Clin Endocrinol.* 1994;41:127-130.
15. de Groot L, Abalovich M, Alexander E, Amino N, et al. Management of Thyroid Dysfunction During Pregnancy and Postpartum: an endocrine society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012 Aug;97(8):2543-2565.
16. Kuijpers JL, Vader HL, Drexhage HA, et al. Thyroid Peroxidase Antibodies During Gestation are a Marker for Subsequent Depression Postpartum. *Eur J Endocrinol.* 2001;145:579-584.
17. Stagnaro Green A, et al. Guidelines of the American Thyroid Association for the Diagnosis and Management of Thyroid Disease During Pregnancy and Postpartum. *Thyroid.* 2011;21:1081-1125.
18. Azizi F. The Occurrence of Permanent Thyroid Failure in Patients with Subclinical Postpartum Thyroiditis. *Eur J Endocrinol.* 2005;153:367-371.
19. Tachi J, Amino N, Tamaki H, Aozasam M, Iwatani Y, Miyai K. Long Term Follow up and HLA Associations in Patients with Postpartum Hypothyroidism. *J Clin Endocrinol Metab.* 1988; 66: 480-484

## Análisis crítico por expertos de trabajos seleccionados

Resumen del trabajo seleccionado para el análisis crítico

### Correlación entre tres ensayos para la determinación de hormona antimülleriana

*Correlation between three assays system for anti-Müllerian hormone (AMH) determination*

Hang Wun Raymond Li, Ernest Hung Yu Ng, Benancy Po Chau Wong, Richard A. Anderson, Pak Chung Ho, William Shu Biu Yeung

*Department of Obstetrics & Gynaecology, Queen Mary Hospital, The University of Hong Kong, 102 Pokfulam Road, Hong Kong, People's Republic of China. Centre for Reproductive Health, The University of Edinburgh, Royal Infirmary of Edinburgh, 51 Little France Crescent, Edinburgh, EH16 4SA, Scotland, UK*

*J Assist Reprod Genet. 2012;29:1443-1446*

#### Resumen

**Propósito:** el análisis de la hormona antimülleriana (HAM) es de reconocida importancia en medicina reproductiva, pero los ensayos no están estandarizados. Nosotros hemos evaluado la correlación entre el nuevo equipo de ELISA Genn II (Beckman-Coulter) y los antiguos equipos de ELISA Immunotech (IOT) y *Diagnostic System Laboratories* (DSL).

**Método:** un total de 56 muestras de suero de pacientes con subfertilidad y desórdenes endocrino-reproductivos fueron analizadas por duplicado usando los tres equipos de ELISA para determinación de HAM. Las muestras cubrieron un amplio rango de concentraciones de HAM (1,9 a 142,5 pmol/l).

**Resultados:** observamos buena correlación en-

tre el nuevo equipo (AMH Gen II) y los antiguos equipos de AMH IOT y DSL ( $R^2 = 0,971$  y  $0,930$  respectivamente). Las ecuaciones de regresión fueron  $AMH (Gen II) = 1,353 \times AMH (IOT) + 0,051$  y  $AMH (Gen II) = 1,223 \times AMH (DSL) - 1,270$  respectivamente.

**Conclusiones:** las concentraciones de HAM obtenidas utilizando el equipo Gen II fueron ligeramente más altas que las encontradas al utilizar los equipos IOT y DSL. La estandarización de los ensayos es un requerimiento mundial de carácter urgente pero este análisis facilita la interpretación de los valores obtenidos históricamente y en futuros estudios usando cualquiera de los tres ensayos disponibles. No se recomienda adaptar valores de corte por conversión directa según trabajos publicados previamente.

#### Comentarios

**Dra. Patricia Otero**

*Bioquímica especialista en Endocrinología - Laboratorio de Endocrinología, Hospital Durand*

#### Comentarios

Este trabajo propone como objetivo la comparación de las 3 metodologías conocidas para dosar hormona antimülleriana. Dos de ellas ya están discontinuadas (DSL e IOT) y la tercera (Gen II) es la única disponible, actualmente, en el mercado.

Esta última, en realidad, es un híbrido entre los otros 2 ensayos ya que combina los anticuerpos usados en el método DSL y los estándares de calibración de IOT.

Se utilizaron 56 sueros de mujeres de entre 18 y 40 años que presentaban subfertilidad y poliquistosis ovárica, abarcando un rango de concentración de HAM desde 1,9 pmol/l (0,26 ng/ml) hasta 142,5 pmol/l (19,8 ng/ml). Se procesaron las muestras por las 3 metodologías mencionadas.

Los test estadísticos usados para el análisis de los resultados permiten evaluar concordancia (test de Bland y Altman) y correlación (test de Passing Bablok) entre los 3 métodos en estudio.

La primera conclusión es que las 3 metodologías se correlacionan entre sí. Los coeficientes de correlación obtenidos son similares a los ya publicados en otros trabajos.

Al aplicar el test de Passing Bablok, cuando se compara Gen II vs. DSL, entre ambos métodos, se observan diferencias de tipo proporcionales, dato concordante con los publicados por Wallace y cols. (Ann Clin Biochem. 2011); y Nelson-La Marca (Reproductive Biomedicine on line. 2011).

Las mismas diferencias de tipo proporcionales se observan al correlacionar Gen II e IOT, en este caso, estos resultados no concuerdan con datos publicados en otros trabajos (Kumar y cols. *J Immunol Methods*. 2010; y, además, esto resulta llamativo ya que el nuevo ensayo Gen II está calibrado con los mismos estándares que el de Immunotech, por lo que no debería mostrar este tipo de diferencias.

Al evaluar la concordancia entre los métodos con el test estadístico de Bland y Altman, los resultados también son discordantes con trabajos publicados anteriormente.

En primer lugar, los autores encuentran que los resultados obtenidos con DSL son mayores, en un promedio del 22%, a los obtenidos con Gen II, datos completamente contradictorios a los obtenidos por otros autores, donde me incluyo con mi experiencia (datos no publicados), que encontramos resultados por DSL más bajos (hasta en el 40%) que por Gen II.

En segundo lugar, se muestran resultados con la metodología Gen II que, en promedio, son hasta el 35% más altos que con IOT, datos que los propios autores no pueden explicar dado que se usa la misma curva patrón. Estas diferencias son mayores a valores más altos de HAM (los autores publican una diferencia mayor (38%)

para valores de HAM “menores a 100 pmol/l”, estimo que debería decir “valores mayores a 100 pmol/l”).

A pesar de que se calculan factores de conversión, que surgen de las ecuaciones de la recta de regresión, y que sirven para poder comparar valores obtenidos por metodologías anteriores con el nuevo método de Beckman, se desaconseja aplicar esta corrección ya que las diferencias no son constantes, tal como lo muestra el análisis de regresión lineal de Passing Bablok, sino que aumentan a valores más altos.

Tampoco es adecuado utilizar los mismos valores de *cut-off* para las diferentes metodologías, sino que se deben estimar los valores de corte para cada metodología aplicada.

Si bien el número de muestras utilizado en el presente trabajo tiene significación estadística, quizás aumentando el n, puedan modificarse algunos de los resultados obtenidos (por ej. la correlación entre Gen II e IOT).

Desde mi punto de vista, es correcto plantear la necesidad de contar con un estándar internacional y, a partir de ello, poder estimar los valores de corte mínimos y máximos imprescindibles para la correcta interpretación de los resultados de esta herramienta de laboratorio que tanta utilidad clínica está demostrando.

---

### Comentarios

#### **Dras. Cecilia Zylbersztejn, Ana María Sequera**

La hormona antimülleriana (HAM o AMH) es la sustancia inhibidora de los conductos müllerianos denominada también MIS (*müllerian-inhibiting substance*). Originalmente la medición de la HAM se desarrolló para determinar la presencia de tejido testicular en niños nacidos con disgenesia gonadal o anorquia. Es una glicoproteína que pertenece a la familia de factores de crecimiento transformante  $\beta$ , sintetizada por las células de Sertoli del testículo.

En la mujer, la HAM producida por las células de la granulosa de los folículos primarios y preantrales pequeños es el parámetro que mejor se correlaciona con el número de estos folículos medidos por ecografía, y representa el mejor marcador de la declinación gradual de la capacidad reproductiva en la mujer (1-3). La HAM inhibe la incorporación al “reclutamiento” de los folículos primordiales, disminuye la mitosis y la acción de la FSH en las CG de los folículos primarios y preantrales. Preserva la reserva folicular y asegura la monoovulación. No depende de FSH y es un marcador más precoz que FSH del envejecimiento ovárico. Su medición permite evaluar la reserva folicular y es proporcional al número de folículos antrales (NFA), contados en la fase folicular temprana por ecografía transvaginal de alta resolución.

El índice de folículos reclutados depende del tamaño del stock de folículos primordiales, estos disminuyen exponencialmente con la edad, lo que se refleja en los valores de la HAM.

El presente trabajo plantea que sobre la base de la estabilidad de la HAM durante el ciclo menstrual y las variaciones intercíclicas no significativas, su medición se emplea en el diagnóstico y en la diferenciación de distintas causas de infertilidad o de oligomenorrea secundaria. Al mismo tiempo, la HAM permite diferenciar pacientes con falla ovárica precoz y reserva ovárica disminuida (HAM bajas), pacientes con síndrome de ovario poliquístico (SOP) (HAM elevadas 2 o 3 veces). Se observó que en pacientes con hipogonadismos hipogonadotróficos e hiperprolactinemias, no se encontraron variaciones significativas de HAM respecto de su edad.

En pacientes sometidas a tratamiento de reproducción asistida, los niveles basales de HAM se correlacionan significativamente con el número de folículos obtenidos posestimulación y de ovocitos recuperados. Es un marcador de respuesta, ya sea insuficiente o excesiva (hiperestimulación ovárica en pacientes SOP). La HAM no es un marcador de predicción de embarazo, aunque sí de pronóstico de respuesta a tratamientos

de estimulación ovárica. Según otros autores, los valores más altos de HAM están asociados a un mayor número de ovocitos maduros, mayor número de embriones, mayor tasa de embarazo y mayor índice de nacidos vivos (4).

En función de este concepto, numerosos trabajos definen los valores de HAM mínimos (*cut-off*) para esperar una respuesta satisfactoria al estímulo hormonal y justificar el procedimiento. Según Muttukrishna y cols. (2005) en 108 pacientes en quienes se usó un “*cut-off*” de 0,2 ng/ml” para HAM por Immunotech (IOT), tiene una sensibilidad del 87% para obtener hasta 4 ovocitos y predecir una pobre respuesta, mientras que Tremellen y cols. (2005), con el mismo método, muestran el 75% de sensibilidad con un valor de corte de 8,1 pmol/l que equivale a 1,13 ng/ml para el mismo número de folículos estimulados. Con el método de DSL (*Diagnostic System Laboratories*), las publicaciones muestran también discrepancias en los valores de corte entre 0,35 ng/ml, 0,71 o 1,26 ng/ml (5).

Los autores plantean la comparación de tres métodos para la medición de HAM en 56 muestras de sueros provenientes de mujeres atendidas en un Centro de Fertilidad y reproducción en Edimburgo-UK. Las metodologías comparadas son tres sistemas de enzimo-inmunoensayo, uno de origen francés: IOT; otro de EE.UU.: DSL y el nuevo sistema AMH Gen II, de Beckman Coulter, EE.UU. El nuevo kit AMH Gen II reemplaza a los dos anteriores, y fue desarrollado luego de la adquisición de las empresas Immunotech y DSL por Beckman Coulter. Las características de los kits utilizados se detallan a continuación:

1. **AMH Elisa** (catálogo N° DSL -10-14400) (DSL, Webster, TX-USA): tiene sensibilidad (S) de 0,04 pmol/l, y el inserto reporta un coeficiente de variación (CV) intra y entre-ensayos menor del 4,6% y 8,0 respectivamente.
2. **EIA AMH IOT** (catálogo N° A16507) (IOT, Marsella-Francia): tiene S de 0,7 pmol/l, y el inserto reporta un coeficiente de variación (CV) intra y entre-ensayos menor del 12,3% y 14,2 respectivamente.
3. **AMH Gen II** (catálogo N° A79765) (Beckman Coulter, Chaska, MN-USA): tiene S de 0,57 pmol/l, y el inserto reporta un coeficiente de variación (CV) intra y entre-ensayos menor del 5,4% y 5,6 respectivamente.

El primer método en el mercado para la medición de HAM fue el de IOT, desarrollado para el uso en pediatría. La presencia de testículos determina valores altos de HAM. Esta aplicación explica la menor sensibilidad del método en los comienzos.

La utilización de HAM en mujeres con alteraciones de su fertilidad, para evaluar su reserva

ovárica (6), determinó el incremento de su medición, lo que requirió mayor sensibilidad en los métodos. Si bien el kit de DSL presentaba una mayor sensibilidad (tal cual los resultados del presente trabajo) fueron necesarios varios años antes de que fuera empleado en trabajos de investigación por los grupos europeos. Se discutió su uso por presentar valores más bajos que los encontrados por IOT. En nuestra experiencia, comparando resultados por ambos métodos, los valores por IOT eran significativamente más elevados, siendo mayor aún su diferencia en los valores de HAM por encima de 2 ng/ml, determinados por DSL. Los valores por debajo de 1 ng/ml medidos por DSL no pudieron ser discriminados por IOT.

Los autores muestran una buena correlación entre Gen II y DSL ( $R^2: 0,930, p<0,0001$ ) y entre Gen II y IOT ( $R^2: 0,971, p<0,0001$ ). Las ecuaciones de regresión obtenidas (Passing y Bablock) fueron:

$$\text{AMH (Gen II)} = 1,223 \times \text{AMH (DSL)} - 1,270$$

$$\text{AMH (Gen II)} = 1,353 \times \text{AMH (IOT)} + 0,051$$

$$\text{AMH (IOT)} = 0,910 \times \text{AMH (DSL)} - 1,103$$

Esto expresa que las diferencias entre IOT y DSL son menores que las encontradas entre Gen II y DSL y entre Gen II e IOT. En este trabajo se describe el diseño del AMH Gen II, que utiliza el anticuerpo del método de DSL y los calibradores de IOT. La curva estándar de IOT se construía a partir de un estándar de alta concentración que se diluía en forma seriada, al momento del procesamiento de las muestras. Estas preparaciones resultaban inestables, de acuerdo con indicaciones del fabricante, y no podían ser guardadas. En cambio, los calibradores del equipo DSL venían preparados, listos para su uso, manteniendo su estabilidad hasta su vencimiento. Es de notar que en el AMH Gen II, la curva estándar ya viene preparada y se comercializa en forma independiente del resto de los reactivos.

El sistema Gen II, a pesar de utilizar los calibradores del IOT, presenta valores el 35% más altos que este método y el 22% más altos que DSL, lo que no pueden explicar los autores.

Los análisis por Bland y Altman confirmaron que los valores obtenidos por AMH Gen II son sistemáticamente más altos que los encontrados por IOT y DSL. La media de las diferencias entre los valores por Gen II y DSL es de 8,0 pmol/l (equivalentes a 1,11 ng/ml), entre Gen II e IOT de 15,7 pmol/l (2,19 ng/ml), mostrando la tendencia mayor para Gen II. Mientras que entre IOT y DSL el promedio de las diferencias es de -7,7 pmol/l (1,07 ng/ml), con valores mayores para IOT, como se había descripto.

En el trabajo solamente se evalúan las discrepancias en valores de HAM <100 pmol/l (equivalentes

a 13,9 ng/ml). Los valores altos presentan mayor discrepancia entre métodos, lo que puede contribuir a magnificar estas diferencias. La importancia de la medición de HAM es caracterizar a las pacientes pobres respondedoras, con valores bajos de HAM, con menor discrepancia entre métodos, que lamentablemente no ha sido evaluado por estos autores.

Llama la atención que siendo muestras de un centro de fertilidad, los valores sean tan altos. Si bien el rango de edad estudiado es muy amplio (18,6-40,6 años), posiblemente la proporción de pacientes jóvenes con SOP esté significativamente aumentada con respecto a las añosas, con reserva ovárica disminuida (población mayoritaria que consulta por problemas de fertilidad), por lo cual son escasos los resultados bajos de HAM en este estudio.

Los mismos autores plantean las limitaciones de este trabajo reconociendo que las variaciones encontradas en la zona de valores altos de HAM no tienen impacto clínico. Por otra parte, la escasa cantidad de muestras a concentraciones bajas de HAM (zona del *cut-off* para definir pobres respondedoras) deja sin evaluar la zona más crítica, que caracteriza a las pacientes que consultan por infertilidad.

Con el propósito de evitar las diferencias entre métodos, los autores proponen encontrar una estandarización universal. No recomiendan adoptar los *cut-off* de las publicaciones previas, por conversión directa y opinan que es más apropiado redefinir los *cut-off* con un estándar internacional unificado. Lamentablemente, consideramos que esa es casi una utopía, por cuanto ningún otro analito del laboratorio lo ha podido cumplir hasta el momento. Los autores proponen utilizar los del Gen II, que está reemplazando los dos métodos previos, pero como se ha visto, el mismo estándar tiene comportamientos distintos en cada sistema (IOT/Gen II).

Consideramos que a fin de lograr la estandarización universal de los resultados de los ensayos, se debería aspirar a lograr una estandarización única, utilizando un estándar patrón, con trazabilidad asegurada y con sensibilidad en la zona de relevancia clínica. De lograrse, los resultados permitirían redefinir la determinación de HAM con un *cut-off* cuyo valor es esencial tanto para estudios de investigación como para la práctica clínica a nivel general.

**Conclusiones del análisis:** el análisis estadístico realizado muestra que una buena correlación no

es suficiente para demostrar la validación de un sistema frente a otro. El análisis por Bland y Altman aporta, aunque sea en forma total, cuál sería el promedio de las diferencias de un método frente al otro.

Lo observado en este trabajo pone en evidencia la importancia de que el seguimiento de las pacientes se realice con la misma metodología, más aún cuando se evalúa la eficacia de los tratamientos para estimular su “rejuvenecimiento” ovárico, con DHEA u otras sustancias, o simplemente para establecer el seguimiento de su reserva ovárica.

La aparición de nuevos kits siempre es un desafío para el laboratorio. Es necesario tener en cuenta no sólo las mejores características analíticas de un sistema, sino conocer su *performance* para discriminar las zonas de relevancia clínica. Actualmente ya hay otros kits comerciales para la medición de la HAM, que están en el mercado internacional y que deberán ser evaluados.

## Referencias

1. Hehenkamp WJ, Looman CW, Themmen AP, de Jong FH, Te Velde ER, Broekmans FJ. Anti-Müllerian hormone levels in the spontaneous menstrual cycle do not show substantial fluctuation. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006;91:4057-4063.
2. Visser JA, de Jong FH, Laven JS, Themmen AP. Anti-Müllerian hormone: a new marker for ovarian function. *Reproduction.* 2006 Jan;131(1):1-9.
3. Sequera AM, Lucini C, Pasqualini S, Tomatis C, Zylbersztein C. Hormona Antimülleriana: ¿Un marcador precoz de disfunción ovárica? Congreso XVI de SAEM. RAEM. 2009;46:133.
4. Li HWR, Yeung WSB, Lau EYL, Ho PC, Ng EHY. Evaluating the performance of serum antimüllerian hormone concentration in predicting the live birth rate of controlled ovarian stimulation and intrauterine insemination. *Fertil Steril.* 2010;94(6):2177-81.
5. La Marca A, Sighinolfi G, Radi D, Argento C, Baraldi E, Carducci Arsenio A, Stabile G, Volpe A. Anti-Müllerian hormone (AMH) as a predictive marker in assisted reproductive technology (ART). *Human Reproduction Update.* 2010;16(2):113-130.
6. Zylbersztein C, Sequera AM, Cortelezzi M. Aspectos bioquímicos de la reserva ovárica. En: SAEGRE (eds.). *Avances en Endocrinología Ginecológica y Reproductiva.* Buenos Aires: Editorial Ascune. 2012; pp. 559-572.

## Novedades bibliográficas

### Resultados preliminares del primer trasplante humano de útero de una donante multiórgano

*Preliminary results of the first human uterus transplantation from a multiorgan donor*

Omer Ozkan, M.D.,<sup>a</sup> Munire Erman Akar, M.D.,<sup>b</sup> Ozlenen Ozkan, M.D.,<sup>a</sup> Okan Erdogan, M.D.,<sup>c</sup> Necmiye Hadimioglu, M.D.,<sup>d</sup> Murat Yilmaz, M.D.,<sup>d</sup> Filiz Gunseren, M.D.,<sup>e</sup> Mehmet Cincik, M.D.,<sup>f</sup> Elif Pestereli, M.D.,<sup>g</sup> Huseyin Kocak, M.D.,<sup>b</sup> Derya Mutlu, M.D.,<sup>i</sup> Ayhan Dinckan, M.D.,<sup>d</sup> Omer Gecici, M.D.,<sup>j</sup> Gamze Bektas, M.D.,<sup>b</sup> and Gultekin Suleymanlar, M.D.<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Department of Plastic Surgery; <sup>b</sup> Department of Obstetrics and Gynecology; <sup>c</sup> Department of General Surgery; <sup>d</sup> Department of Anaesthesiology and Reanimation; and <sup>e</sup> Department of Infectious Diseases, Akdeniz University, Antalya, Turkey; <sup>f</sup> Acibadem Private Hospital IVF Center, Kadikoy, Istanbul; <sup>g</sup> Department of Pathology and Nephrology, <sup>b</sup> Department of Infectious Diseases, <sup>i</sup> Department of Microbiology; and <sup>j</sup> Department of Psychiatry, Akdeniz University, Antalya, Turkey  
*Fertility and Sterility. 2013 Feb;99(2).*

**Objetivo:** describir los resultados, luego de 1 año, del primer trasplante humano de útero de una paciente donante multiórgano.

**Diseño:** estudio de un caso.

**Lugar de estudio:** Hospital universitario.

**Paciente:** una mujer de 21 años con agenesia mülleriana completa a quien se le había realizado previamente una cirugía de reconstrucción vaginal.

**Intervención:** se procedió a un trasplante de útero que consistió en el reemplazo ortotópico y fijación del útero recuperado, revascularización y la anastomosis bilateral de las arterias y venas hipogástricas y las arterias y venas ilíacas externas.

**Principales medidas de resultados:** reanudación de los ciclos menstruales.

**Resultados:** la paciente tuvo su menarca 20 días después del trasplante. Ella ya ha tenido 12 ciclos menstruales desde la operación.

**Conclusiones:** nosotros hemos descrito el trasplante de útero humano más prolongado al día de la fecha con la adquisición de ciclos menstruales.

**Palabras clave:** agenesia mülleriana, infertilidad por factor uterino, trasplante de útero.

## Comparación de la detección de la pubertad normal en niñas mediante test hormonal nocturno y test de agonista de la hormona liberadora de gonadotrofinas

*Comparison of detection of normal puberty in girls by a hormonal sleep test and a gonadotropin-releasing hormone agonist test*

Rosenfield RL, Bordini B, Yu C.

Sección de Endocrinología, Metabolismo y Diabetes de Adultos y Niños, Universidad de Chicago, Chicago, Illinois  
*J Clin Endocrinol Metab.* 2013 Apr;98(4):1591-601.

**Contexto:** la magnitud del incremento de las gonadotrofinas relacionadas con el sueño, necesario para activar la feminización puberal, no ha sido establecida.

**Objetivo:** el objetivo de este estudio fue determinar la relación normal de las respuestas de las hormonas puberales al sueño y al desafío con un agonista de la hormona liberadora de gonadotrofinas (GnRH) durante la transición puberal femenina.

**Diseño/contexto:** este fue un estudio prospectivo en un Centro de Investigación Clínica General.

**Participantes:** participaron del estudio 62 niñas voluntarias sanas, de entre 6 y 13 años de edad.

**Intervención:** las intervenciones incluyeron: (i) extracciones nocturnas periódicas de muestras de sangre durante el sueño; (ii) la administración de un agonista de GnRH (acetato de leuprolina), y extracciones reiteradas de muestras de sangre durante 24 horas subsiguientes.

**Variables de resultados primarios:** se incluyeron como variables primarias LH, FSH y estradiol.

**Resultados:** los niveles de LH aumentaron de manera constante tanto durante el sueño como después de la administración del agonista de GnRH, a lo largo de los años prepuberales.

La respuesta de la LH al sueño y al agonista de GnRH mostró una buena correlación entre los grupos (por ejemplo,  $r = 0,807$ , valor del pico durante el sueño vs. valor 4 horas posteriores a la administración del

agonista de GnRH); sin embargo, esta correlación fue menos robusta que en los varones ( $r = 0,964$ ,  $P < 0,01$ ).

Respecto a la detección de la pubertad (telarca): (i) los picos de LH durante el sueño con valores mayores o iguales a 1,3 U/l tuvieron una sensibilidad del 85%, y picos de LH mayores o iguales a 2,1 U/l tuvieron una especificidad del 96%; (ii) valores de LH obtenidos 1 hora posteriores a la administración del agonista de GnRH mayores o iguales a 3,2 U/l tuvieron una sensibilidad del 95%, y valores mayores o iguales a 5,5 U/l tuvieron una especificidad del 96%.

Las niñas entraron a la pubertad con niveles más bajos de LH que los varones.

Los niveles de FSH se elevaron tanto en el día como en la noche durante los años prepúberes y alcanzaron valores de 1,0 U/l o superiores durante la pubertad; sin embargo, los niveles de dicha hormona no permitieron discriminar el estadio prepuberal del puberal.

Entre 20 y 24 horas posadministración del agonista de GnRH se obtuvo una sensibilidad del 95% para la detección de la pubertad cuando se consideraron valores de estradiol mayores o iguales a 34 pg/ml, y una especificidad del 95% con valores mayores o iguales a 60 pg/ml.

En el 36% de las niñas en estadios tempranos de la pubertad con sobrepeso, se observó escasa evidencia hormonal de la pubertad.

## Calendario de Eventos

### Eventos nacionales

#### Octubre de 2013

■ **XXVIII Congreso Argentino de Ginecología y Obstetricia - FASGO 2013**

30 de octubre al 1 de noviembre

Córdoba, Argentina

Informes e inscripción: [fasgo@fasgo.org.ar](mailto:fasgo@fasgo.org.ar);

[www.fasgo.org.ar](http://www.fasgo.org.ar)

■ **XII Congreso Nacional Bioquímico-70° Congreso Argentino de Bioquímica**

9 al 11 de octubre

Salón Palais Rouge,

Buenos Aires, Argentina

Informes e inscripción: [www.cubraxii-2013.com.ar](http://www.cubraxii-2013.com.ar)

#### Noviembre de 2013

■ **LVIII Reunión Científica Anual de Investigación Clínica**

Mar del Plata, Argentina

20 al 23 de noviembre

Informes e inscripción: [www.saic.org.ar](http://www.saic.org.ar)

#### Abril de 2014

■ **IX Congreso Argentino de Endocrinología Ginecológica y Reproductiva, VIII Encuentro Latinoamericano de Endocrinología Ginecológica y Reproductiva**

Buenos Aires, Argentina

27 al 29 de abril

Informes e inscripción: <http://www.saegre.org.ar>

### Eventos internacionales

#### Septiembre de 2013

■ **I Encuentro Sudamericano del Virus Papiloma Humano**

4 al 6 de septiembre

Santiago de Chile, Chile

Informes e inscripción: <http://www.hpvhchile2013.com/>

■ **XXIV Reunión Anual de la Sociedad Chilena de Reproducción 2013**

4 al 7 de septiembre

Valdivia, Chile

Informes e inscripción: <http://www.schrd.cl/>

■ **14<sup>th</sup> International Congress of Antiphospholipid Antibodies and 4<sup>th</sup> Latin American Congress of Autoimmunity**

18 al 21 de septiembre

Rio de Janeiro, Brasil

Informes e inscripción: <http://www2.kenes.com/apl-laca/pages/home.aspx>

#### Octubre de 2013

■ **24<sup>th</sup> Annual Meeting of The North American Menopause Society (NAMS)**

9 al 12 de octubre

Dallas, Texas, Estados Unidos

Informes e inscripción: [info@menopause.org](mailto:info@menopause.org);

[www.menopause.org](http://www.menopause.org)

■ **21<sup>st</sup> World Congress on Fertility & Sterility. International Federation of Fertility Societies (IFFS) and 69<sup>th</sup> Annual Meeting American Society for Reproductive Medicine (ASRM)**

12 al 17 de octubre

Boston, Massachusetts, Estados Unidos

Informes e inscripción: [secretariat@iffs-reproduction.org](mailto:secretariat@iffs-reproduction.org);

[www.iffs-reproduction.org](http://www.iffs-reproduction.org), [asrm@asrm.org](mailto:asrm@asrm.org), [www.asrm.org](http://www.asrm.org)

■ **IVF WorldWide Life Congress**

31 de octubre al 2 de noviembre

Berlín, Alemania

Informes e inscripción: [www.IVF-Worldwide.com](http://www.IVF-Worldwide.com)

#### Noviembre 2013

■ **The 3<sup>rd</sup> World Congress of the International Society for Fertility Preservation (ISFP)**

7 al 9 de noviembre

Valencia, España

Informes e inscripción: [www.comtecmed.com](http://www.comtecmed.com)

■ **Ovarian Club III**

14 al 17 de noviembre

París, Francia

Informes e inscripción: <http://comtecmed.com/oc/2013/>

■ **Building Consensus out of Controversies in Maternal and Fetal Medicine (BCMFM)**

21 al 23 de noviembre

Shangai, China

Informes e inscripción: <http://www.comtecmed.com/bcmfm/2013/Default.aspx>

## Reglamento de Publicaciones

### Generalidades

Se podrán enviar artículos para publicar en las siguientes secciones: Trabajo original de Investigación (requiere de resultados originales, no publicados previamente en otras Revistas Nacionales e Internacionales); Actualización; Revisión; Casos clínicos (en estas tres secciones los trabajos se realizarán por invitación del Comité Editorial, deben ser originales, no publicados previamente en Revistas Nacionales e Internacionales y deberán citarse las fuentes de los mismos); y Correo de lectores.

Los manuscritos deben tipearse a doble espacio en papel tamaño A4, en Word for Windows, fuente Times New Roman, tamaño 12, con márgenes de al menos 25 mm.

Los autores deberán enviar original y copia en papel, y una versión electrónica (e-mail, disquete o disco compacto).

### Contenido de la Revista

La Revista consta de los siguientes espacios: Trabajo original de Investigación; Trabajos distinguidos; Actualización; Revisión; Análisis crítico; Casos clínicos; Novedades bibliográficas; Sesión científica; Simposio; Cursos; Correo de lectores; Calendario de eventos; Reglamento de publicaciones.

### Todos los artículos enviados deberán incluir en la primera página:

Título completo del artículo en castellano y en inglés; nombre y apellido del/los autor/es; título profesional; institución/es afiliada/s; dirección postal y electrónica del autor principal. Se deberá incluir además un título breve, de menos de 50 caracteres.

Se debe utilizar el formato que se ejemplifica a continuación:

#### **La endometriosis es un factor de riesgo de hemoperitoneo espontáneo durante el embarazo**

*Endometriosis is a risk factor for spontaneous hemoperitoneum during pregnancy*

Ivo A. Brosens, Luca Fesi, Jan J. Brosens

*Leuven Institute for Fertility and Embryology, Leuven, Belgium*

*E-mail: info@lifeleuven.be*

### Actualizaciones y Revisiones

Se deberá incluir un resumen de menos de 250 palabras en castellano y en inglés, y hasta 6 palabras clave.

### Trabajos originales de investigación

Se deberá configurar el manuscrito de la siguiente forma: Resumen en castellano e inglés, que deberá incluir el objetivo, diseño, metodología, los resultados y las conclusiones, de extensión no superior a las 250 palabras. Hasta 6 palabras clave. Secciones: Introducción; Materiales y métodos; Resultados; Discusión; Agradecimientos; Referencias; Tablas; Figuras; Epígrafes.

### Casos clínicos

Los casos clínicos deben ser concisos, informativos y con un límite de hasta 10 páginas a doble espacio, con hasta dos tablas/figuras.

### Correo de lectores

Esta sección consiste en un espacio para comentarios de artículos publicados o comunicaciones de interés. Las cartas no deben exceder las 600 palabras, a doble espacio y con un límite de hasta 10 referencias. Incluir dirección completa, teléfono/fax y dirección de correo electrónico. No incluir resumen ni título en inglés.

El editor de la REVISTA SAEGRE se reserva el derecho de acortar las cartas que no se ajusten a las especificaciones mencionadas y realizar todo cambio que considere necesario con el objetivo de mantener el estilo de la Revista.

### Referencias bibliográficas

Se solicita prestar especial atención para incluir y utilizar el formato apropiado al citar las referencias bibliográficas. Se debe utilizar el estilo Vancouver. El número de referencias máximo por artículo es 50. Numerar las referencias bibliográficas en forma consecutiva, en el orden en que fueron mencionadas por primera vez en el texto y entre paréntesis (Ejemplos: Texto (1), Texto (1-3), que identifica las citas 1 y 3, Texto (1,4), que identifica las citas 1 y 4, Texto (1, 5-7) que identifica las citas 1 y 5 a 7). En cada una de ellas deben figurar todos los autores si el trabajo tuviera hasta 6 autores, o 6 autores, seguido de "et al." si tuviera más de 6 autores. Las referencias bibliográficas que aparecen por primera vez en tablas y figuras deben ser numeradas en el orden que sigue el texto en donde se menciona el texto o la figura.

Las observaciones personales no publicadas o comunicaciones personales no podrán ser utilizadas

como referencias. Pueden incluirse referencias a textos aceptados no publicados aún agregando la frase “en prensa”. La información de artículos en vías de aceptación puede ser incluida como “observaciones no publicadas”.

Se debe utilizar el formato de referencias bibliográficas que se ejemplifica a continuación:

#### • Artículos de Revistas

1. Takihara H, Sakatoku J, Cockett ATK. The pathophysiology of varicocele in male infertility. *Fertil Steril*. 1991;55:861-8.

#### • Libros

2. Colson JH, Armour WJ. *Sports injuries and their treatment*, 2nd ed. rev. London: S. Paul; 1986:478.

3. Weinstein L, Swartz MN. Pathologic properties of invading microorganisms. En: Sodeman WA Jr, Sodeman WA, eds. *Pathologic physiology: mechanisms of disease*, Vol. 1. Philadelphia: WB Saunders; 1974:457-72.

#### • Resúmenes publicados en actas de Congresos y Simposios

4. O’Hanley P, Sukri N, Intan N. Morbidity and mortality trends of typhoid fever due to *Salmonella typhi* at the Infectious Disease Hospital (IDH) in North Jakarta from 1984 to 1991 [abstract no. 945]. En: Program and abstracts of the 32nd Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. Washington, DC: American Society for Microbiology; 1992:268.

#### • Cartas

6. Kremer J. Yardsticks for successful donor insemination [letter]. *Fertil Steril*. 1991;55:1023-4.

#### • En Prensa

7. Lillywhite HB, Donald JA. Pulmonary blood flow regulation in an aquatic snake. *Science* 2009 (En prensa).

#### • Textos electrónicos, bases de datos y programas informáticos.

8. Library of Congress. History and development of the Library of Congress machine-assisted realization of the virtual electronic library [en línea]. [Washington, DC: Library of Congress], 15 June 1993. <gopher://lcmavel.loc.gov:70/00/about/history> [Consulta: 5 mayo 1997].

Las características de las citas electrónicas son:  
Responsable principal. Título [tipo de soporte]. Responsable(s) secundario(s)\*. Edición. Lugar de publicación: editor, fecha de publicación, fecha de actualización/revisión. Descripción física\*. (Colección)\*. Notas\*. Disponibilidad y acceso\*\* [Fecha de consulta]\*\*. Número normalizado\*.

Los elementos en letra cursiva deben ir en cursiva o subrayados en la referencia; los elementos entre corchetes deben anotarse con esta puntuación; los elementos señalados con un asterisco (\*) son opcionales; los elementos señalados con dos asteriscos (\*\*) son obligatorios en el caso de los documentos en línea.

#### Abreviaturas y símbolos

Utilizar sólo abreviaturas estándar; en caso contrario, definir las la primera vez que son utilizadas y procurar no incluirlas en exceso.

#### Tablas, ilustraciones, epígrafes y permisos

##### • Tablas

Deberán tipearse a doble espacio en páginas separadas y deberán ser numeradas en números arábigos en el orden que fueron citadas en el texto por primera vez. Los textos explicativos se incluirán en la forma de notas de pie de página, no en el encabezado. Para las notas de pie de página, utilizar letras minúsculas en forma secuencial (a, b, c, etc.) en superíndice. Las tablas se referirán en el texto entre paréntesis, en letra mayúscula, y en números arábigos consecutivos, ejemplo (TABLA 1).

##### • Ilustraciones y epígrafes

No se aceptarán gráficos ni fotos en color. Las fotografías se enviarán en blanco y negro, en formato digital y con la mayor resolución posible (mayor de 200 ppp o, de ser posible, mayor de 280 ppp). Las ilustraciones se referirán en el texto entre paréntesis, en letra mayúscula y en números arábigos consecutivos, ejemplo (FIGURA 1). Los epígrafes (aclaraciones de las figuras) deberán tipearse a doble espacio al pie de la figura correspondiente.

##### • Permisos

Todo material tomado de otras fuentes debe ser citado y en caso de ser mayor a un resumen (250 palabras), deberá estar acompañado de un consentimiento por escrito que otorgue el permiso a la REVISTA DE SAEGRE para su reproducción.