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 XXI - NÚMERO 2 - AGOSTO DE 2014 - www.saegre.org.ar - saegre@saegre.org.ar

SAEGRE

COMISIÓN DIRECTIVA 2012-2013

Presidenta
Dra. Nora Moses

Vicepresidente
Dra. Susana Pilnik

Secretario
Dr. Gabriel Fiszbajn

Prosecretaria
Dra. Adriana Monastero

Tesorera
Dra. Sandra Demayo

Protesorera
Dra. Cecilia Fenili

Vocales Titulares
Dra. Martina Carro
Dra. Viviana Mesch
Dra. Claudia Peyrallo
Dra. Roxana Reynoso

Vocales Suplentes
Dra. Alejandra Calamari
Dra. Marisa Geller
Dra. Florencia Salort
Dra. Irina Winnykamien

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

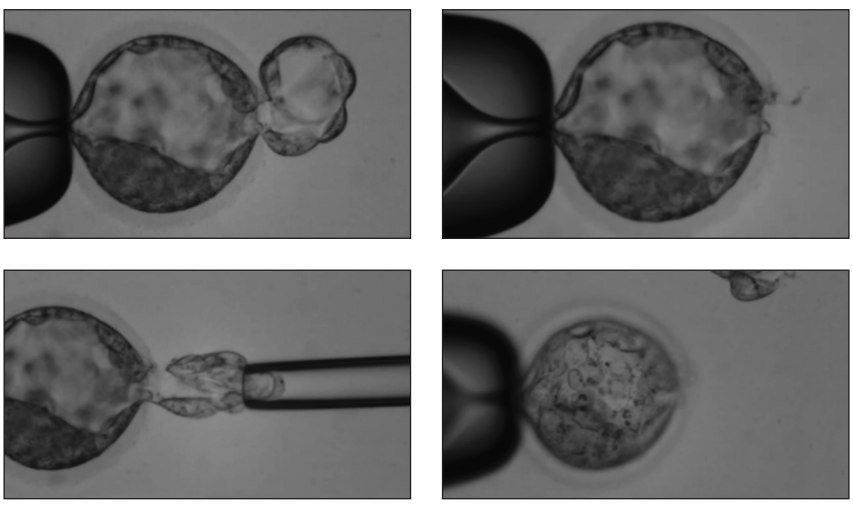
COMITÉ EDITORIAL

Directora de Publicaciones
Dra. Alicia Jawerbaum

Subdirectora
Dra. Claudia Peyrallo

Colaboradores
Dra. Rosa Inés Barañao
Dra. Laura Boero
Dra. Martina Carro
Dr. Gabriel Faraj
Dra. Adriana Monastero
Dra. Jimena Soutelo
Dra. Roxana Reynoso
Dr. Germán Van Thillo

Tapa



Figuras. Biopsia de un blastocisto eclosionando el trofoblasto (fotos Dr. Roberto Coco).

SAEGRE no se hace responsable ni se identifica necesariamente con las opiniones vertidas por los autores.

SUBCOMISIONES 2014

Comisión Revisora de Cuentas
Titulares
Dra. Lara Miechi
Dra. Irene Dell´Agnoletta
Dra. Constanza Franco
Suplentes
Dra. Marina Gelin
Dra. Constanza Franco
Dra. Karina Tozzi

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
Dra. Karina Tozzi

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 Fiszbajn
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. Laura Mitelberg

Por SPGO-CEGIP
Dra. Blanca Fretes de Brom
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 Gadow
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

Normatización 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 6º "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: Nº 5182603. 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

Trabajo original

Premio Prof. Dr. Armando Mendizábal: Diagnóstico genético preimplantatorio por hibridación genómica comparada en *array* en biopsia de trofoblasto en portadores de reordenamientos equilibrados 5
Dres. María Eugenia Ducatelli, Fabián Coco, Belén Irigoyen, Sebastián Neuspiller, Fernando Gismondi, Nicolás Neuspiller y Roberto Coco

¿La hormona foliculoestimulante basal en un ciclo previo de estimulación influye en la cantidad de ovocitos recuperados y ovocitos metafase II en pacientes que realizan técnicas de reproducción asistida? 12
Dres. M. Florencia Ugozzoli Llugdar, Constanza Franco, Cristian Álvarez Sedo, Gabriel Fiszbajn, Susana Kopelman

¿Qué variables de la transferencia embrionaria disminuyen las tasas de embarazo en receptoras de ovodonación? 16
Dres. M. Florencia Ugozzoli Llugdar, Andrea Quinteiro Retamar, Cristian Álvarez Sedo, Sergio Papier, Susana Kopelman

Actualización

Lipodistrofia y alteraciones del ciclo menstrual 20
Dra. Carla Musso

Posible rol de las acuaporinas placentarias en la fisiopatología de la preeclampsia 27
Dres. Natalia Szpilbarg, Ana I. Corominas, Mauricio Castro-Parodi, Alicia E. Damiano

Revisión

Tratamiento de la osteoporosis 33
Dra. Valeria Pastorino Casas

Análisis crítico por expertos de trabajos seleccionados

¿Determina la inflamación el estado de salud metabólica en adultos obesos y adultos no obesos? 40
J Clin Endocrinol Metab. 2013;98:E1610-1619
Comentarios*: Prof. Dra. Gabriela Berg y Dr. Julio C. Montero*

Novedades bibliográficas

Comparación de los efectos del mioinositol y d-quiro-inositol en la función ovárica y en factores metabólicos en mujeres con SOP 43
Gynecologycal Endocrinology. 2014;30:205-208

Efectos endocrinos de la exposición al humo de tabaco durante la lactancia en crías macho al momento del destete y en la adultez 44
J Endocrinol. 2013;218:13-24

Bisfenol A conjugado en suero materno en relación con el riesgo de aborto 44
Fertil Steril. 2014 Jul;102(1):123-128

Suplemento del Libro de Resúmenes del Congreso SAEGRE 2014 45
Calendario de eventos 46
Reglamento de publicaciones 47

Index

Original article

Prof. Dr. Armando Mendizábal Award: Preimplantatory genetic diagnostic by array-comparative genomic hybridization in trophectoderm biopsy in carriers of balanced rearrangements 5
Drs. María Eugenia Ducatelli, Fabián Coco, Belén Irigoyen, Sebastián Neuspiller, Fernando Gismondi, Nicolás Neuspiller and Roberto Coco

The basal follicle stimulating hormone in a previous cycle of stimulation influences the amount of retrieved oocytes and metaphase II oocytes in patients undergoing assisted reproduction techniques? 12
Drs. M. Florencia Ugozzoli Llugdar, Constanza Franco, Cristian Álvarez Sedo, Gabriel Fiszbajn and Susana Kopelman

Variables that reduce embryo transfer pregnancy rates in oocyte donation receptors 16
Drs. M. Florencia Ugozzoli Llugdar, Andrea Quinteiro Retamar, Cristian Álvarez Sedo, Sergio Papier and Susana Kopelman

Updates

Lipodystrophy and menstrual function 20
Dr. Carla Musso

Possible role of placental aquaporins in the pathophysiology of preeclampsia 27
Drs. Natalia Szpilbarg, Ana I. Corominas, Mauricio Castro-Parodi, Alicia E. Damiano

Review

Treatment of osteoporosis 33
Dr. Valeria Pastorino Casas

Critical analysis of selected articles: experts´opinions

Does inflammation determine metabolic health status in obese and nonobese adults? 40
J Clin Endocrinol Metab. 2013;98:E1610-1619
Comments: Drs. Gabriela Berg and Dr. Julio C. Montero

Novel articles

Comparison between effects of myo-inositol and d-chiro-inositol on ovarian function and metabolic factors in women with PCOS 43
Gynecologycal Endocrinology. 2014;30:205-208

Endocrine effects of tobacco smoke exposure during lactation in weaned and adult male offspring 44
J Endocrinol. 2013;218:13-24

Conjugated bisphenol A in maternal serum in relation to miscarriage risk 44
Fertil Steril. 2014 Jul;102(1):123-128

Supplement SAEGRE Journal 45
Upcoming events 46
Instructions for authors 47

Trabajo Original

Diagnóstico genético preimplantatorio por hibridación genómica comparada en *array* en biopsia de trofoblasto en portadores de reordenamientos equilibrados

Preimplantatory genetic diagnosis by array-comparative genomic hybridization in trophectoderm biopsy in carriers of balanced rearrangements

María Eugenia Ducatelli; Fabián Coco; Belén Irigoyen; Sebastián Neuspiller; Fernando Gismondi; Nicolás Neuspiller; Roberto Coco
Fecunditas-Instituto de Medicina Reproductiva afiliado a la Facultad de Medicina UBA
E-mail: robertococo@fecunditas.com.ar

Introducción

Es ampliamente conocida la asociación entre anomalías cromosómicas constitucionales e infertilidad. Dentro del espectro de las anomalías cromosómicas del humano, los rearreglos cromosómicos estructurales balanceados representan aproximadamente el 20% de todas ellas (1). Estas son las translocaciones robertsonianas, translocaciones recíprocas y las inversiones peri y paracéntricas. Todas ellas se caracterizan por no expresar fenotipos somáticos particulares ni retardo mental, pero sí la gran mayoría en vida adulta determinan esterilidad y/o infertilidad; su frecuencia es mucho mayor en población de infértiles respecto de la población general de recién nacidos. Los motivos por los cuales causan infertilidad se relacionan con los disturbios de la sinapsis de los cromosomas involucrados en los rearreglos, que ocasionan diferentes grados de detención en el proceso meiótico, los que originan gónadas disgenéticas, mientras que los rearreglos que no perturban la sinapsis de los cromosomas homólogos, los multivalentes y bucles meióticos formados, tienen más posibilidades de segregaciones anormales. Las segregaciones anómalas originan embriones anormales que son responsables de abortos espontáneos y de nacidos malformados por anomalías cromosómicas transmitidas por el portador del rearreglo. Las translocaciones recíprocas son el producto de dos roturas en dos cromosomas no homólogos e intercambio entre los segmentos fragmentados. Si durante la meiosis los cromosomas no uniformes logran aparearse con los uniformes, forman un cuadrivalente. Existen cinco posibilidades de segregación del cuadrivalente: alternada, adyacente 1, adyacente 2, segregación 3:1 y segregación 4:0. Solo la segregación alternada originaría gametos normales aportando los cromosomas uniformes o los dos translocados. Las demás segregaciones originan gametos anormales con diferentes desbalances cromosómicos. El riesgo empírico de formación de gametos anormales en los portadores de rearreglos cromosómicos coincide o es aún mayor que el teórico del 80%. Estos datos fueron aportados por los patrones de segregación observados en semen de portadores de translocaciones (2) y por el diagnóstico preimplantatorio en cuerpo polar 1 en mujeres portadoras de translocaciones (3). Las translocaciones robertsonianas, también conocidas como fusiones céntricas, son el producto de la fusión de dos cromosomas acrocéntricos, homólogos o no homólogos, con pérdida de los brazos cortos. Las translocaciones robertsonianas homólogas tienen un riesgo del 100% de originar gametos, nulisómicos o disómicos, mientras que las no homólogas tienen cuatro posibilidades de segregación del trivalente meiótico: alternada, adyacente 1, adyacente 2 y segregación 3:0. Solo la segregación alternada origina gametos normales aportando los acrocéntricos libres o los dos fusionados. Las demás segregaciones originan gametos anormales con diferentes desbalances cromosómicos. El riesgo empírico de formación de gametos anormales en los portadores de fusiones es mucho menor que el 75% teórico. Las inversiones cromosómicas, a diferencia de los rearreglos anteriores, son producto de dos roturas en el mismo cromosoma con inversión del segmento entre las dos roturas, que puede o no incluir al centrómero. Si el cromosoma invertido no impide la sinapsis, origina durante la meiosis un bucle meiótico La segregación del par puede ser normal (disyunción normal), anormal (disyunción anormal) u originar cromosomas recombinados con deficiencia-duplicación parcial de segmentos cromosómicos como resultado de un intercambio asimétrico favorecido por el bucle. El riesgo empírico observado en los gametos de los portadores de inversiones en general es más benevolente que el teórico y depende fundamentalmente del cromosoma y tamaño del segmento invertido.

Se debería señalar la diferencia entre los diferentes porcentajes en los riesgos cromosómicos en etapa preimplantacional, embrio-fetal y nacidos. Los riesgos en la formación de gametos anormales y en los embriones preimplantados son mucho mayores a los observados en el segundo trimestre del embarazo o en el recién nacido,

debido a que la mayoría de las anomalías cromosómicas son letales. La letalidad de las aneuploidías completas es del 99%, perdiéndose la mayoría en etapa preimplantatoria. En cambio, las aneuploidías parciales pueden no perderse y dar lugar a nacidos malformados (4). Por este motivo, los portadores de rearreglos cromosómicos equilibrados o balanceados son los candidatos ideales para el diagnóstico preimplantatorio, sobre todo si requieren de los procedimientos de fecundación in vitro y/o ICSI para concebir (5).

Desde el advenimiento del PGD, sigla que se usa mundialmente para la designación del diagnóstico genético preimplantatorio, existen tres tipos de biopsias: en cuerpos polares, en embriones clivados de día 3 y en trofoblasto del blastocisto en día 5. De acuerdo con los últimos datos del *PGD Consortium* de ESHRE, el 16,3% de los diagnósticos efectuados fueron en cuerpos polares; el 79,8% en blastómeras D3 y el 2,3% en blastocistos D5. De acuerdo con el último registro de 1213 PGD en portadores de fusiones céntricas no homólogas, el 72% de los ciclos lograron tener transferencia con embriones no aneuploides con una tasa de embarazo por aspiración del 21% y por transferencia, del 30%. De 2413 ciclos de PGD en portadores de translocaciones recíprocas, el 58% de los ciclos lograron transferencia con embriones no afectados, con una tasa de embarazo por aspiración del 14% y por transferencia, del 24% (6).

El blastocisto es el máximo grado de desarrollo que puede alcanzar un embrión in vitro y está caracterizado por tres elementos: el macizo celular interno (MCI), la capa celular externa o trofoblasto y el blastocele. Un blastocisto usualmente tiene más de 100 células. La mayoría de sus células conformarán la placenta, vellosidades coriales y estructuras extraembrionarias. Solo un pequeño porcentaje del MCI diferenciará al embrión una vez finalizada la implantación del preembrión. Por lo tanto, la biopsia de trofoectodermo se la puede considerar equivalente a la punción de vellosidades coriónicas (VC), con sus mismas limitaciones en cuanto a que la constitución hallada no corresponda con la constitución del embrión-feto-nacido. La eficacia diagnóstica se estima superior al 98%.

Cuando se toma la decisión de hacer biopsia en trofoectodermo es preferible hacer transferencia en ciclo diferido, debido a que no todos los blastocistos se consiguen en día 5 y los estudios genéticos demandan su tiempo. En la actualidad, las mejores condiciones de las modernas incubadoras para el desarrollo embrionario in vitro, la mejora en los medios de cultivo, los buenos resultados de la vitrificación y la transferencia diferida, están convirtiendo a la biopsia de blastocisto en la mejor opción para el PGD, por la robustez de los resultados, el menor costo y el trabajo más económico en equipo (7).

Presentamos nuestra experiencia con biopsia de blastocisto y transferencia diferida en 15 ciclos de PGD en 10 portadores de translocaciones recíprocas, 2 translocaciones robertsonianas y 3 inversiones pericéntricas, todas evaluadas con hibridación genómica comparada en *array* (aCGH) con la plataforma de 24 Sure plus de BlueGnome®.

Pacientes y métodos

Las parejas accedieron al PGD por abortos recurrentes, fallas iterativas en FIV/ICSI, mortinatos malformados y esterilidad primaria de causa femenina y masculina.

Los reordenamientos equilibrados fueron los siguientes:

a) Translocaciones recíprocas

1. 46,XX,t(7;11)(q11.2;q12)
2. 46,XX, der(14)t(14;22)(q32;q11.1)-22
3. 46,XY,t(13;17)(q14;q23)
4. 46,XX,t(6;10)(q13;q24)
5. 46,XY,t(3;6)(q26;q24)
6. 46,XX,t(9;13) (q34.3;q14.3)
7. 46,XX, t(1;8)(q41-42;q12)
8. 46,XX,t(6;7)(q23;q34)
9. 46,XY,t(3;8)(p21;p11.2)
10. 46,XX,t(9;13)(q21;q21.2)

b) Translocaciones robertsonianas o fusiones céntricas

1. 45,XY,rob(13;21)(q10;q10)
2. 45,XY,rob(13;14)(q10;q10),9ph

c) Inversiones pericéntricas

1. 46,XY, inv(5)(p12q22)
2. 46,XX, inv(5)(p14q21)
3. 46,XY, inv(9)(p21q22)

El promedio de edad de las mujeres fue 34,4 años (r: 25-46 años). Previo al PGD, en las mujeres se evaluó el perfil hormonal (FSH, LH, E2 y HAM), se realizó el recuento de folículos antrales e histerosalpingografía. En los varones, se realizó espermograma con espermocultivo completo.

La estimulación ovárica se realizó con gonadotrofinas recombinantes y antagonistas o agonistas de la GnRH. Aspiración ovocitaria transecográfica por vía vaginal 36 h posaplicación hCG.

En todos los casos se realizó ICSI, no por estar indicado en todos, sino por protocolo del PGD.

Los ovocitos fecundados normales se cultivaron hasta 5/6 días hasta alcanzar el estado de blastocisto. En día 4 se perforó la zona pelúcida con disparos láser para favorecer la eclosión del blastocisto y facilitar la remoción del trofoblasto protruido. Para efectuar la biopsia, se prepararon placas de biopsia con una hilera de 4 microgotas que

contenían 25 ul de medio de biopsia sin calcio ni magnesio. En la primera microgota se colocó el blastocisto y con ayuda del microscopio micromanipulativo, se lo sostuvo con una micropipeta sujetora del lado opuesto al de las células protruidas, las cuales fueron cortadas con la ayuda de unos disparos láser y aspiradas con una micropipeta de biopsia de 25 um de diámetro (**FIGURAS 1-2**). Realizada la biopsia, todos los blastocistos biopsiados fueron vitrificados en *cryolocks* y las células del trofoblasto removidas de cada blastocisto fueron lavadas en las tres microgotas restantes y colocadas en un tubo para su posterior estudio del cariotipo molecular. Se utilizó la plataforma 24 Sure plus de BlueGnome®. Solamente un blastocisto desvitrificado normal fue transferido en un ciclo diferido al estimulado, preparando el endometrio con estrógenos y progesterona.

Resultados

El número de ovocitos aspirados varió de 5 a 28 ($\bar{x}$: 14,1); el de ovocitos fecundados normales de 4 a 19 ($\bar{x}$: 8,9) y el número de blastocistos biopsiados de 1 a 10 ($\bar{x}$: 4,1).

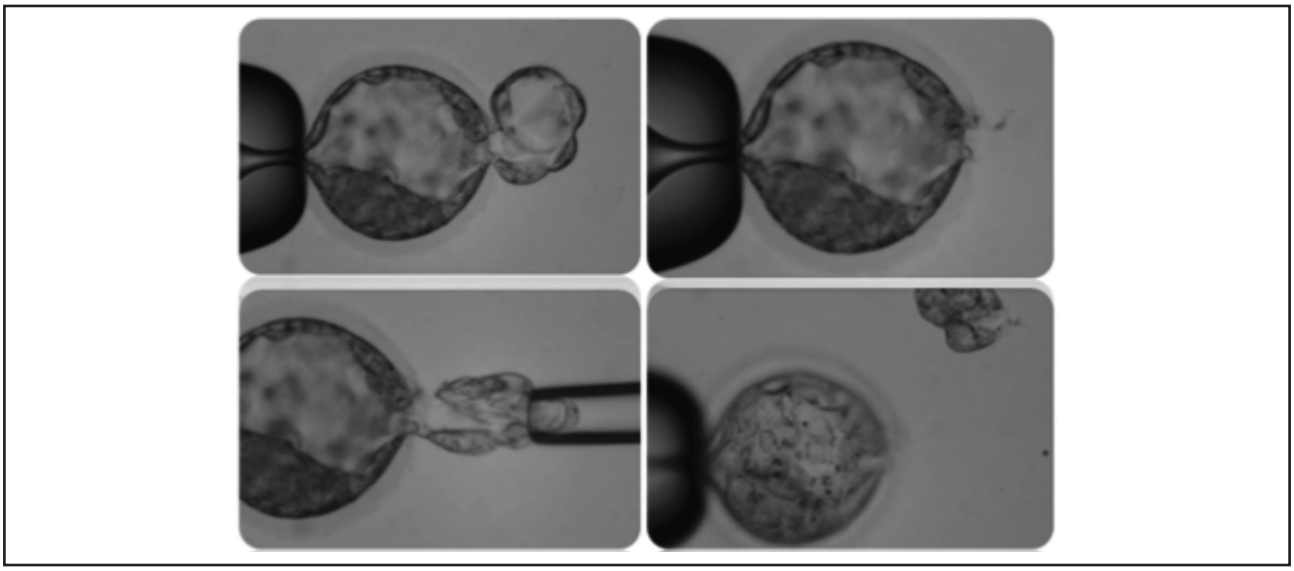


FIGURA 1. Biopsia de un blastocisto eclosionando el trofoblasto. Nótese que solo se aspira el trofoblasto eclosionado. Video http://youtu.be/lFjmcR5BnUw

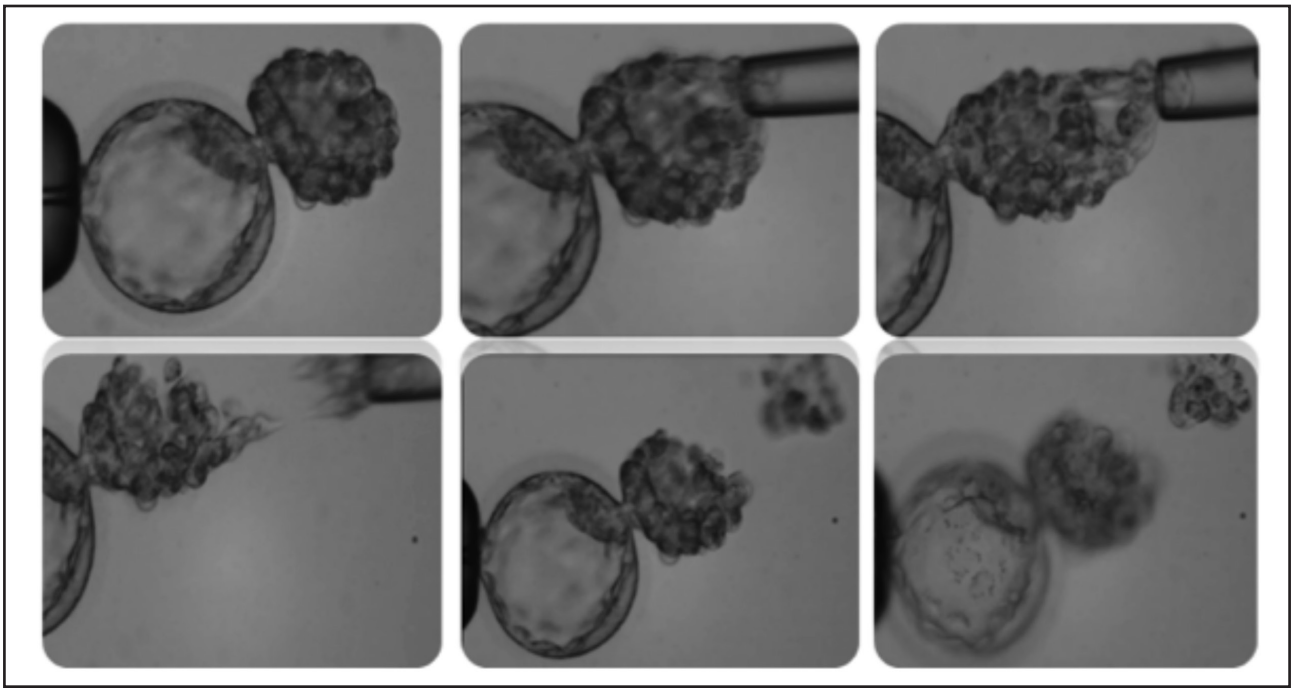


FIGURA 2. Biopsia de un blastocisto eclosionando trofoblasto y parte del macizo celular interno. Nótese que solo se aspira parte del trofoblasto. Video http://youtu.be/DXjlpGciL5Q

Todos ellos tuvieron al menos un blastocisto para biopsiar.

En el grupo de pacientes con translocaciones recíprocas, se biopsiaron 33 blastocistos. Veinte (61%) tuvieron cariotipos normales (**FIGURA 1**), 10 con segregaciones anormales del cuadrivalente y 7 con anomalías de cromosomas no involucrados en la translocación

En el grupo de pacientes con translocaciones robertsonianas, se biopsiaron 14 blastocistos. Nueve (64,3%) tuvieron cariotipos normales, uno con segregación anormal del trivalente y cuatro con anomalías de cromosomas no involucrados en la translocación robertsoniana.

En el grupo de pacientes con inversiones pericéntricas, se biopsiaron 15 blastocistos. Nueve (60%) tuvieron cariotipos normales, dos con cromosomas recombinados producto de aneusomía de recombinación de las inversiones y cuatro con anomalías de cromosomas no involucrados con los rearreglos.

En la **TABLA I** figuran los resultados de los cariotipos anormales de los diferentes reordenamientos.

De los 15 ciclos realizados, 12 de ellos fueron transferidos con un blastocisto normal desvitrificado. Cinco (41,6%) lograron el embarazo y uno de ellos abortó espontáneamente a las 8 semanas de gestación. Tres de las parejas aún no fueron transferidas.

Discusión

Los PGD en los portadores de rearreglos equilibrados previos al advenimiento de los *arrays* se abordaban por FISH utilizando sondas de los cromosomas

Reordenamientos	**Cariotipos embrionarios anormales hallados**	**Tipo de segregación**	**Anomalías no involucradas**
Translocaciones recíprocas			
46,XY,t(3;8)(p21;p11.2)	46,XY,der(3)t(3;8)(p21;p11.2) 46,XY,der(3) t(3;8)(p21;p11.2) 46;XX,+3,-22	Adyacente 1 Adyacente 1 Seg 3:1	 Monosomía 22
46,XX,t(6;10)(q13;q24)	45,X 46,XX,der(6)t(6;10)(q13;q24)	 Adyacente 2	Monosomía X
46,XX,t(6;7)(q23;q34)	45,XY,-22 46,XX,-7,+13 46,XX, der(6)t(6;7)(q23;q34)	 Seg 3:1 Adyacente 2	Monosomía 22 Trisomía 13
46,XX,t(1;8)(q41-42; q12)	46,XY,der(1)t(1;8)(q41-42;q12) 45,XY,-8 46,XY, der(1)t(1;8)(q41-42;q12)	Adyacente 1 Seg 3:1 Adyacente 1	
46,XY,t(3;6)(q26;q24)	45,XY,-15		Monosomía 15
46,XX,t(9;13)(q21;q21.2)	46,XX,+9,-21 47,XX,+2,-9,+13,+17,-18,+20,-21	Seg 3:1	Monosomía 21 Caótico
Fusiones céntricas			
45,XY,rob(13;21)(q10;q10)	45,XY,-13 47,XY,+3 45,XX,-16 47,XXY	Seg 2:1 (Ady 2)	 Trisomía 3 Monosomía 16 Disomía X
45,XY,rob(13;14) (q10;q10),9ph	45,XX,-21		Monosomía 21
Inversiones pericéntricas			
46,XX,inv(5)(p14q21)	46,XX,der(5)inv(5)(p14q21)dup(5q) 46,XX,der(5) inv(5)(p14q21) dup(5q)	Recombinación Recombinación	
46,XY,inv(5)(p12q22)	45,XX,-16 47,XXY 46,XY,+6,-10		Monosomía 16 Disomía X Trisomía 6 + monosomía 10
46,XY,inv(9)(p21q22)	47,XXY		Disomía X

TABLA I. Cariotipos embrionarios anormales involucrados y/o no en el reordenamiento equilibrado.

involucrados o por QF-PCR utilizando STR ligados a los cromosomas involucrados en los rearreglos. Hoy con la posibilidad del cariotipado molecular por aCGH (hibridación genómica comparada) o aSNP (polimorfismos de simples nucleótidos) el FISH ya no es recomendable. Si uno tuviera en cuenta los costos de los cariotipos moleculares, estos deberían realizarse en aquellos embriones que han alcanzado el grado máximo de desarrollo in vitro, sin embargo, de acuerdo con el último registro del *PGD Consortium* de la ESHRE solo el 2,3% de los PGD se realiza en biopsia de trofoblasto, como así también la transferencia en ciclos diferidos no estimulados. Frente a los mejores resultados que se estaban publicando con la transferencia en blastocisto en ciclos frescos y diferidos, en nuestro programa decidimos abandonar la biopsia en D3 por la de blastocisto en D5/6 con transferencia diferida al ciclo estimulado. La menor invasividad de la biopsia, el mayor número de células aspiradas, la robustez de los resultados y la programación de los estudios en días laborables fueron los responsables del cambio. El estudio genético en una sola molécula de ADN es dificultoso y un verdadero desafío tanto para los pacientes como para el equipo biomédico. Las posteriores publicaciones sobre la revisión sistemática y metaanálisis de 11 ensayos que mostraron mejores resultados obstétricos y perinatales con los embriones criopreservados *versus* no-criopreservados (8-12) nos ha permitido no arrepentirnos de la decisión de tal cambio que, en definitiva, favorece la eficacia de los PGD.

En la presente serie de 15 ciclos, de 63 blastocistos biopsiados, 38 resultaron con cariotipos normales (61%) y 25 con cariotipos anormales (39%). Estos valores son muy inferiores a lo hallado en biopsias en D3 (13-15). Si bien hay una selección hacia la euploidía con el desarrollo de un buen blastocisto, la eficacia en el caso de los portadores de rearreglos bajó a la mitad respecto de lo observado en D3, lo que reafirma que en los portadores de rearreglos que requieran FIV/ICSI es conveniente la realización del PGD ya que esos blastocistos aneuploides pueden implantar y terminar en un nacido malformado, sobre todo por aneuploidías parciales. De los 25 cariotipos anormales, 15 presentaron anomalías de cromosomas enteros no involucrados en el reordenamiento. Estas anomalías pueden deberse a un efecto intercromosómico durante la meiosis del portador del rearreglo, pero también podría deberse a una no disyunción en la pareja simplemente por efecto de la edad materna. Nosotros, en el caso del varón con la translocación robertsoniana 13,21, usando marcadores ligados a los cromosomas aneuploides, demostramos que las aneuplodías correspondían a la pareja, por lo tanto, en ese caso se descartó la existencia de efecto intercromosómico (16).

Consideramos que 5 de 12 transferencias de un único blastocisto euploide con embarazo es un excelente incentivo como para continuar con la biopsia de trofoblasto y transferencia diferida en ciclo diferido. En todos los casos, al menos se logró biopsiar un blastocisto y en todos se obtuvo al menos uno para transferir. Otro punto no menos importante es el económico, que adquiere relevancia en nuestras economías, sobre todo por el costo de un cariotipo molecular, por lo que es más **lícito pagar el estudio para un embrión potencialmente implantable que para uno que pueda detenerse antes de llegar a blastocisto.**

Conclusiones

Los cariotipos moleculares que se realizan en pocas células son costosos. Por lo tanto, su realización en embriones potencialmente transferibles toma su relevancia sobre todo en nuestras economías. Pasar de la realización del estudio en una única célula a unas cuantas células significa que en la mayoría de los estudios se obtendrán resultados. De hecho en nuestra serie de 63 muestras con varias células de trofoblasto del blastocito, en todos se obtuvo resultado, mientras que en una sola blastómera el riesgo de no tener resultados es de entre el 10 y el 15%. Un programa de PGD con transferencia en fresco exige que el equipo de genetistas moleculares trabaje de lunes a lunes *full time*. En un programa de PGD con transferencia diferida es mucho más programable el trabajo de los genetistas y ante cualquier duda con los resultados de los estudios, se pueden repetir o completar con estudios complementarios.

Hoy no existen dudas de que la tasa de embarazo con la transferencia en ciclo no estimulado es mejor en cuanto a tasa de embarazo y resultados obstétricos y perinatales que las transferencias en fresco. Los mejores resultados probablemente se deban a una mejor sincronización embrión-endometrio en un ciclo natural o preparado fisiológicamente y a la ausencia de altas concentraciones hormonales durante el desarrollo embrionario pre y posimplantación, que perjudica la receptividad endometrial (10). Por lo tanto, sostenemos que el cambio de la biopsia de blastómeras en D3 por el de trofoblasto en D5/6 con transferencia diferida de los blastocistos normales desvitrificados puede mejorar la tasa de embarazo y disminuir la tasa de abortos espontáneos y el riesgo de malformados por cromosomopatías en la descendencia de los portadores de rearreglos equilibrados.

Referencias

1. Nielsen J, Wohlert M. Chromosome abnormalities found among 34,910 newborn children: results from a 13-year incidence study in Arhus. Denmark. Hum Genet. 1991;87(1):81-3.
2. Coco R, Coco Ludueña F, Urquiza M, Mincman J, Gallo A, Neuspiller N. Riesgo genético reproductivo en portadores de rearreglos cromosómicos. Reproducción. 2005;20(1):25-36.
3. Durban M, Benet J, Boada M, Fernandez E, Calafell JM, Lailla JM, et al. PGD in female carriers of balanced Robertsonian and reciprocal translo-

cations by first polar body analysis. Hum Reprod Update. 2001;7(6):591-602.
4. Scriven PN, Flinter FA, Braude PR, Ogilvie CM, et al. Robertsonian translocations–reproductive risks and indications for preimplantation genetic diagnosis. Hum Reprod. 2001;16(11):2267-73.
5. Hassold T, Hunt P. To err (meiotically) is human: the genesis of human aneuploidy. Nature Genet. 2001;2:280-291.
6. Goossens V, Traeger-Synodinos J, Coonen E, De Rycke M, Moutou C, Pehlivan T, Derks-Smeets IAP, Harton G. ESHRE PGD Consortium data collection XI: cycles from January to December 2008 with pregnancy follow-up to October 2009. Hum Reprod. 2012;27(7):1887-1911.
7. Coco R, Mondadori A, Ducatelli ME, Mincman J, Gallo A, Coco F, Neuspiller S, Gismondi FL, Neuspiller N. Preimplantation diagnosis in blastocyst biopsy and deferred cycle transfer. JBRA Assist Reprod. 2012;16(5):268-270.
8. Davies MJ, Moore VM, Willson KJ, Van Essen P, Priest K, Scott H, Haan EA, Chan A. Reproductive Technologies and the Risk of Birth Defects. N Engl J Med. 2012;366:1803-1813.
9. Maheshwari A, Pandey S, Shetty A, Hamilton M, Bhattacharva S. Obstetric and perinatal outcomes in singleton pregnancies resulting from the transfer of frozen thawed versus fresh embryos generated through in vitro fertilization treatment: a systematic review and meta-analysis. Fertil Steril. 2012;98(2):368-377.
10. Haouzi D, Assou S, Dechanet C, Anahory T, Dechaud H, De Vos J, Hamamah S. Controlled ovarian hyperstimulation for In Vitro Fertilization alters endometrial receptivity in Humans: Protocol effects. Biol Reprod. 2010;82(4):679-686.
11. Shapiro B, Daneshmand S, De Leon L, Garner FC, Aguirre M, Hudson C. Frozen-thawed embryo transfer is associated with a significantly reduced incidence of ectopic pregnancy. Fertil Steril. 2012;98(6):1490-1494.
12. Roque M, Lattes K, Serra S, Solà I, Geber S, Carreras R, Checa MA. Fresh embryo transfer versus frozen embryo transfer in in vitro fertilization cycles: a systematic review and meta-analysis. Fertil Steril. 2013;99(1):156-152.
13. Harper JC, Sengupta SB. Preimplantation genetic diagnosis: state of the art 2011. Hum Genet. 2011;131(2):175-186.
14. Yinghui Ye, Yuli Qian, Chenming Xu, Fan Jin. Meiotic segregation analysis of embryos from reciprocal translocations carriers in PGD cycles. Reprod Biomed Online. 2012;24(1):83-90.
15. Chang EM, Han JE, Kwak IP, Lee WS, Yoon TK, Shim SH. Preimplantation genetic diagnosis for couples with a Robertsonian translocation: practical information for genetic counseling. J Assist Reprod Genet. 2012;29(1):67-75.
16. Ducatelli ME, Mondadori A, Coco F, Neuspiller S, Mincman J, Coco R. PGD in carriers of Reciprocal Translocations by aCGH in trophectoderm biopsy and deferred cycle transfer. JBRA Assist Reprod. 2013;17(2):122-123.

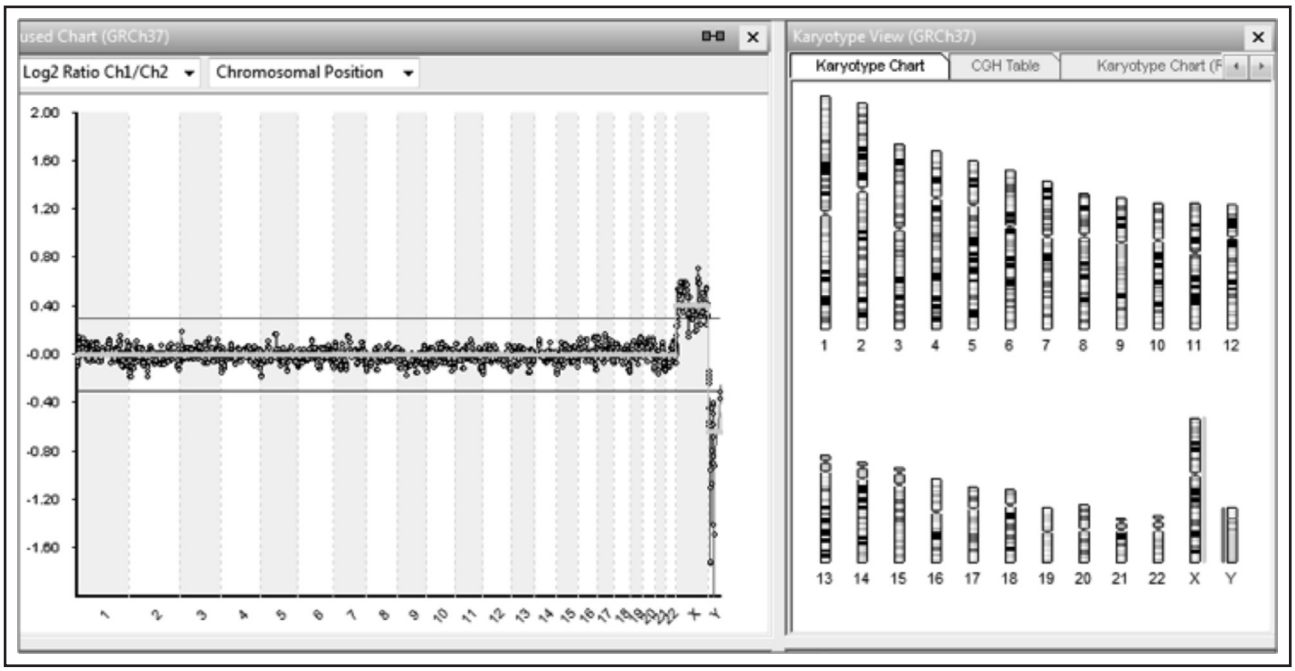


FIGURA 3. Cariotipo molecular normal (46,XX).

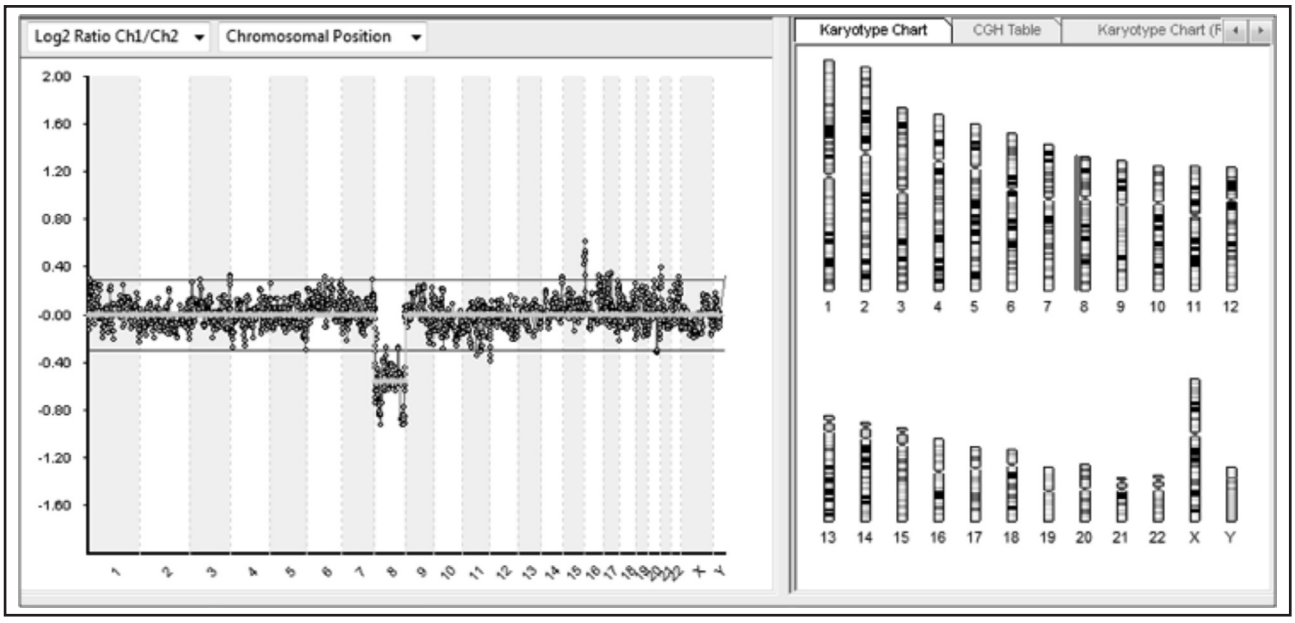


FIGURA 4. Cariotipo anormal: 45,XY,-8. Nótese la ausencia completa del cromosoma 8 (embrión proveniente del caso con *t*(1;8)(q41-42;q12), que corresponde a una segregación 3:1).

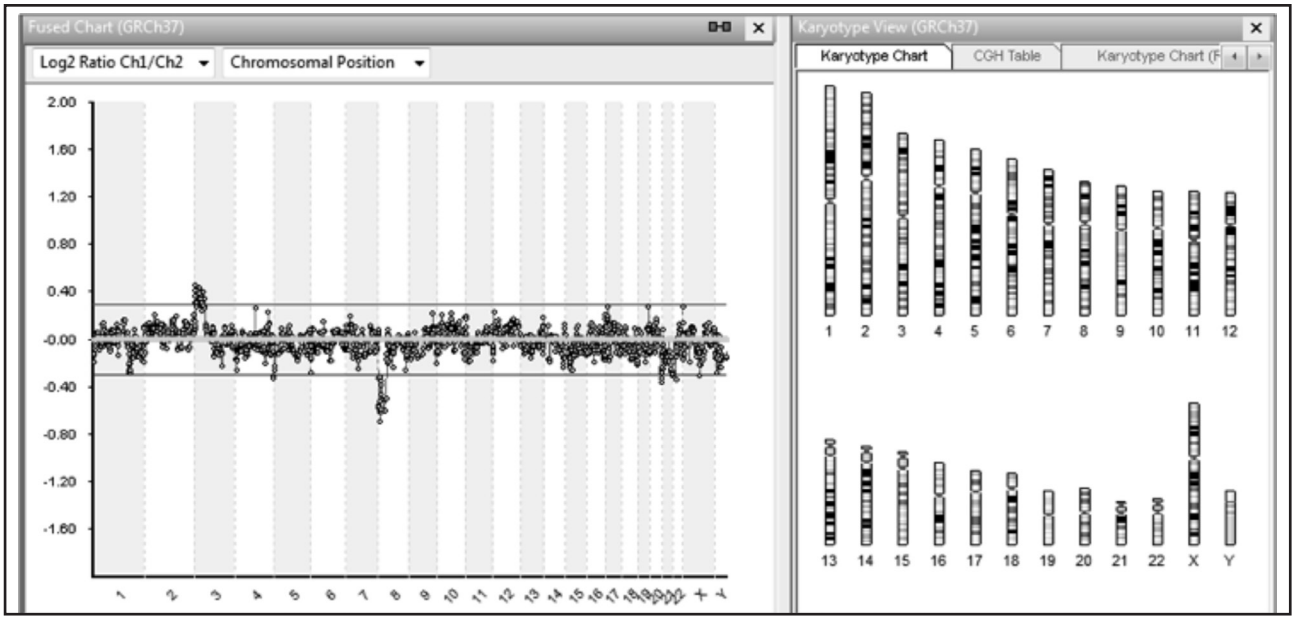


FIGURA 5. Cariotipo anormal: 46,XY,der(3) *t*(3;8)(p21;p11.2). Nótese la duplicación parcial en el cromosoma 3 y la deleción parcial en el cromosoma 8 (embrión proveniente del caso con *t*(3;8)(p21;p11.2), que corresponde a una segregación Adyacente 1).

Trabajo Original

¿La hormona foliculoestimulante basal en un ciclo previo de estimulación influye en la cantidad de ovocitos recuperados y ovocitos metafase II en pacientes que realizan técnicas de reproducción asistida?

The basal follicle stimulating hormone in a previous cycle of stimulation influences the amount of retrieved oocytes and Metaphase II oocytes in patients undergoing Assisted Reproduction Techniques?

M. Florencia Ugozzoli Llugdar; Constanza Franco; Cristian Álvarez Sedo; Gabriel Fiszbajn; Susana Kopelman.*
**Centro de Estudio Genética y Reproducción (CEGYR), Buenos Aires*
E-mail: fugozzoli@cegyr.com

Resumen

Objetivo: determinar si los valores de la hormona foliculoestimulante (FSH) basal en ciclo previo de estimulación influyen en la cantidad de ovocitos recuperados totales y ovocitos metafase II (MII) en pacientes que realizan tratamiento de reproducción asistida (TRA) de alta complejidad en nuestra Institución.

***Materiales y métodos*:** estudio retrospectivo y comparativo. Se incluyeron 135 ciclos de pacientes <38 años, que realizaron TRA en CEGYR (enero-diciembre de 2012). Las pacientes recibieron 14 a 21 días de anticonceptivos orales combinados en ciclo previo, seguidos de hiperestimulación ovárica controlada (FSHr y antagonista GnRH en forma flexible). Solo se consideró el primer ciclo realizado por la paciente.

Se excluyeron aquellas pacientes en las que no se recuperaron ovocitos MII.

Se conformaron tres grupos, homogéneos para edad, dosis, medicación y conteo de folículos antrales: Grupo I: FSH menor o igual a 5 mUI/ml (33 pacientes). Grupo II: FSH entre 5,1-10 mUI/ml (91 pacientes). Grupo III: FSH mayor o igual a 10,1 mUI/ml (11 pacientes).

Se realizó el análisis estadístico de ANOVA.

***Resultados*:** el Grupo I obtuvo un promedio de 11,4 ovocitos recuperados (DS ± 5,9) y 8,3 ovocitos MII (DS ± 4); el Grupo II, 11,6 (DS ± 7,2) y 8,4 (DS ± 4,5); y el Grupo III, 8,8 (DS ± 5,4) y 6,3 (DS ± 4) respectivamente, sin haber diferencias significativas entre los grupos (p<0,05).

***Conclusión*:** los niveles de FSH basal no afectan de manera significativa la tasa de ovocitos recuperados ni la de ovocitos MII luego de realizar TRA en este grupo de estudio.

Palabras clave: hormona foliculoestimulante, ovocitos metafase II, ovocitos recuperados.

Abstract

Objective: *To determine if the basal values of follicle stimulating hormone (FSH) in the previous cycle to the ovarian stimulation, influences the amount of total oocytes and metaphase II oocytes (MII), in patients undergoing assisted reproductive techniques (TRA) at our institution.*

Materials and methods: *Retrospective comparative study. Cycles from 135 patients <38 years, who performed TRA in CEGYR (January to December 2012) where included. Patients received 14 to 21 days of OCs in the previous cycle to controlled ovarian hyperstimulation (rFSH and GnRH antagonist, flexible protocol). Only the first cycle performed by the patient was considered.*

We excluded those patients who did not have MII oocytes retrieved.

Three groups were formed, comparable for age, medication doses and antral follicle count: Group I: FSH equal to or less than 5 mUI/ml (33 patients). Group II: FSH between 5.1-10 mUI/ml (91 patients). Group III: FSH 10.1 mUI/ml or greater (11 patients). Statistical analysis was performed by ANOVA.

Results: *Group I had an average of 11.4 oocytes retrieved (SD ± 5.9) and 8.3 MII oocytes (SD ± 4); Group II, 11.6 (SD ± 7.2) and 8.4 (SD ± 4.5) and Group III, 8.8 (SD ± 5.4) and 6.3 (SD ± 4) respectively, without significant differences between groups (p<0,05).*

Conclusion: *Basal FSH levels did not significantly affect the rate of total number of oocytes or MII oocytes retrieved after performing ART in this study group.*

Key words*: follicle stimulating hormone, metaphase II oocytes, oocytes retrieved.*

Introducción

Una prioridad en los TRA es poder brindar a las parejas una información apropiada acerca de sus posibilidades de embarazo (1).

Los resultados del tratamiento con técnicas de alta complejidad son directamente dependientes de la respuesta ovárica a la estimulación hormonal. La baja respuesta ovárica se asocia con mayor tasa de cancelación, menor cantidad de ovocitos recuperados y menor tasa de embarazo (1-2). La capacidad ovárica de responder al estímulo hormonal con un desarrollo folicular adecuado en los TRA está directamente relacionada con la reserva ovárica (cantidad y calidad de los ovocitos presentes en el

ovario). La correcta identificación de pacientes con pobre respuesta ovárica potencial es necesaria para poder brindar el asesoramiento indicado y decidir el manejo terapéutico (2).

Existen factores predictivos de la reserva ovárica, como son la edad de la paciente, el nivel basal de FSH, estradiol y el conteo de folículos antrales (CFA) (1-5).

Se han propuesto también el nivel de estradiol (4, 6, 7) y el volumen ovárico (1, 5, 6, 8) como parámetros predictores de la reserva ovárica, pero ninguno de ellos ha mostrado ser un buen indicador clínico.

El envejecimiento reproductivo está asociado con una reducción de la fuente de folículos primordiales y la pérdida de la calidad ovocitaria (9).

Se acepta que una disminución en la fuente de folículos ováricos se refleja por una caída en la producción de inhibina por las células de la granulosa, lo cual aumentaría los niveles de FSH, acelerando el crecimiento folicular en los folículos disminuidos en cantidad, pero aún con capacidad de respuesta, produciendo así un aumento en la secreción de estradiol. De esta manera, los niveles elevados de FSH y estradiol basales en la fase folicular temprana se correlacionan negativamente con el número de folículos reclutados y el número de ovocitos aspirados (8, 10, 11).

La fecundidad de la mujer disminuye con la edad mucho antes de ocurrir la menopausia.

La concentración de folículos primordiales en la corteza ovárica sufre una reducción exponencial por atresia a lo largo de los años, que empieza antes del nacimiento.

Un embrión de 8 semanas tiene un *pool* de 6 x 10^5 ovocitos, que a los 5 meses aumenta a 7 x 10^6. Al nacer el *pool* se reduce a 1 ó 2 x 10^6 ovocitos. En la pubertad, esta reserva se encuentra disminuida al 25%.

Alrededor de los 37 años, la pérdida de folículos se acelera, con la consiguiente pérdida de la capacidad reproductiva, aunque los ciclos menstruales pueden ser aún regulares.

Al llegar a la menopausia solo quedan presentes, y por muchos años, alrededor de 1000 folículos (4-6). La edad materna, por lo tanto, se asocia con una progresiva disminución de la cantidad de folículos capaces de responder a la estimulación ovárica y una menor calidad ovocitaria (5, 8).

El nivel de FSH al día 3 del ciclo es una estimación indirecta de la reserva ovárica y es la respuesta, por *feedback* a nivel de la pituitaria, de la cantidad de inhibina B y estradiol que producen una cohorte de folículos.

El envejecimiento del ovario conlleva una reducción en el número de folículos primordiales.

Si se pudiera medir el total de folículos remanentes, esta sería una medida adecuada para evaluar el potencial de fertilidad de una mujer. Una representación del *pool* de ovocitos remanentes es la determinación del CFA, visible por ultrasonido al inicio de la fase folicular (4, 6, 8). Estos son la pequeña fracción (<0,5%) del *pool* total de folículos que se desarrolla y aumenta de tamaño durante cada ciclo menstrual (5). Por lo tanto, una disminución en el CFA asociada a la edad es un reflejo de la reducción del *pool* de folículos primordiales (1, 4) que se manifiesta antes que los cambios en los niveles hormonales (6). El número de folículos sería un indicador de reserva ovárica, diferente a la edad cronológica, y su uso clínico parece ser prometedor (4, 5, 7).

Objetivo

El objetivo del presente trabajo es determinar si los valores de FSH basal en ciclo previo de estimulación influyen en la cantidad de ovocitos recuperados totales y ovocitos metafase II en pacientes que realizan tratamiento de reproducción asistida de alta complejidad en nuestra Institución.

Materiales y métodos

Estudio retrospectivo y comparativo. Se incluyeron 135 ciclos de pacientes menores de 38 años de edad, que realizaron TRA-ICSI (inyección intracitoplasmática de espermatozoides) en CEGYR desde enero a diciembre del 2012. Las pacientes recibieron de 14 a 21 días de anticonceptivos orales combinados en el ciclo previo seguido de hiperestimulación ovárica controlada con FSHr 225-300 UI y antagonista de GnRH en forma flexible. Solo se consideró el primer ciclo de ICSI realizado por la paciente en el período de tiempo estudiado.

Se excluyeron aquellas pacientes en las que no se recuperaron ovocitos MII.

Se conformaron tres grupos, homogéneos para edad, dosis, medicación y conteo de folículos antrales:
Grupo I: FSH menor o igual a 5 mUI/ml (33 pacientes).
Grupo II: FSH entre 5,1-10 mUI/ml (91 pacientes).
Grupo III: FSH mayor o igual a 10,1 mUI/ml y menor o igual a 15 UI/ml (11 pacientes).

La ecografía con CFA se realizó en CEGYR el ciclo previo a la hiperestimulación ovárica en fase folicular temprana (mismo operador y mismo equipo).

Se realizó la aspiración folicular ovárica bajo anestesia general y mediante punción transvaginal bajo guía ecográfica se punzaron los folículos y se obtuvieron los líquidos foliculares, que fueron analizados por los biólogos en el laboratorio. Se consideraron ovocitos MII aquellos en los que se observó la presencia del primer corpúsculo polar.

Se realizó el análisis estadístico de ANOVA.

Resultados

En los tres grupos, la edad, dosis, medicación y conteo de folículos antrales fueron comparables. Todas

las pacientes tenían menos de 38 años de edad, con un promedio de 36 años en el Grupo I (DS ±2); 34 años en el Grupo II (DS ±3); y 37 años en el Grupo III (DS ±1). La dosis de medicación recibida diariamente para realizar la hiperestimulación ovárica fue entre 225-300 UI de FSHr y en todos los ciclos se utilizó conjuntamente antagonista de GnRH en forma flexible (cetrorelix 0,25 mg). La ecografía con CFA se realizó el ciclo previo de la estimulación en CEGYR, en fase folicular temprana. En todas las pacientes se observó la presencia de entre 10 y 15 folículos antrales.

El Grupo I obtuvo un promedio de 11,4 ovocitos recuperados (DS ± 5,9) y 8,3 ovocitos MII (DS± 4); el Grupo II, 11,6 (DS ± 7,2) y 8,4 (DS ±4,5); y en el Grupo III, 8,8 (DS ± 5,4) y 6,3 (DS ± 4) respectivamente, sin haber diferencias estadísticamente significativas entre los grupos (p<0,05) (**TABLA I**).

Discusión

En un metaanálisis en el que se evaluó el papel de la FSH basal en la predicción de una respuesta ovárica pobre y el fracaso en lograr el embarazo después de un TRA, se demostró una posible aplicación clínica de la FSH basal referida solo a una minoría de pacientes con niveles de FSH extremadamente altos (12). Sin embargo, a la fecha, la FSH basal todavía es ampliamente usada en muchos centros de fertilidad.

Scheffer y cols. (7) estudió mujeres de diferentes edades para evaluar el nivel basal de FSH y estradiol, y el CFA. Estos fueron la única variable que mostró diferencias significativas, incluso a edades entre 35 y 40 años. Los niveles de FSH y estradiol basales solo mostraron variaciones significativas a edades mayores (41-46 años).

El nivel de corte de FSH basal considerado predictor de embarazo o de ovocitos recuperados es muy variable en la literatura. Un nivel de FSH al día 3 del ciclo mayor de 10 UI/l se ha relacionado con una mala respuesta y es considerado un factor predictor de resultado para el parámetro ovocitos maduros. Otro trabajo ha establecido el nivel de 11 UI/l como indicador de mala respuesta para este mismo parámetro. En el trabajo de Papaleo y cols. (2) se establece el nivel menor a 10-12 UI/l como valor predictivo de embarazo. Bukman y Heineman (5) establecen valores máximos de entre 10,8 y 17 UI/l como valores predictivos de embarazo y de ovocitos recuperados. En el trabajo de Broekmans y cols. (8) se mencionan valores máximos de entre 17 y 25 UI/l para predecir embarazo. Bancsi y cols. (12) mencionan rangos aún más amplios de valores de FSH predictores de pobre respuesta ovárica (8 a 25 UI/l) o de embarazo (6 a 25 UI/l).

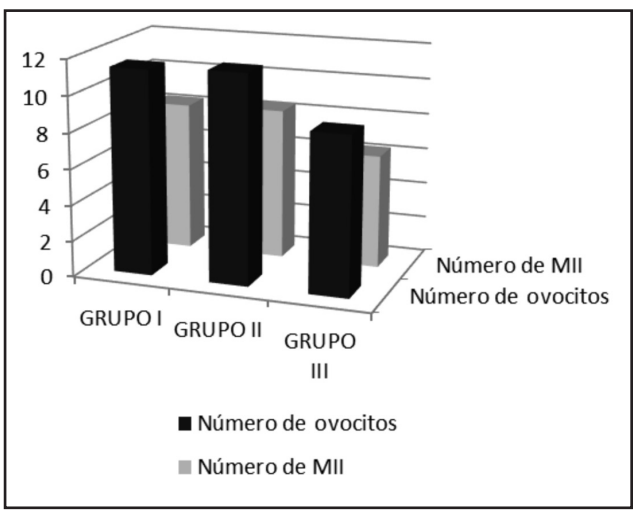


TABLA I. Promedio de ovocitos recuperados y ovocitos metafase II en los diferentes grupos de estudio.

Se han propuesto otras pruebas endocrinas de reserva ovárica como predictoras de respuesta ovárica, en la década pasada (5). En el campo de la ultrasonografía, también se ha informado sobre pruebas para evaluar la reserva ovárica.

Después de las comunicaciones iniciales de Scheffer y cols. (13) de que el ultrasonido transvaginal podría detectar una disminución en el conteo de los folículos relacionada con la edad, Chang y cols. (14) introdujeron el conteo de folículos antrales como un método no invasivo y fácil de realizar, que provee información esencial sobre la respuesta ovárica antes de iniciar la estimulación a gonadotrofinas en los TRA. Un número pequeño de folículos antrales está asociado con una respuesta ovárica disminuida durante la hiperestimulación ovárica controlada para los TRA, lo que respalda el concepto de que un número reducido de folículos primordiales brinda una cohorte pequeña de folículos antrales (15, 16).

Conclusión

Son cada vez más las pacientes menores de 38 años que consultan en los centros de reproducción asistida para realizar un tratamiento de alta complejidad. Poder estimar la reserva ovárica es útil no sólo para asesorar sobre las posibilidades de éxito en un TRA, sino también para poder aconsejar a una pareja que desea posponer los embarazos.

Los indicadores de reserva ovárica no deben utilizarse para excluir pacientes del tratamiento, sino para, evaluados en conjunto, poder ofrecer asesoramiento a la pareja acerca de las probabilidades de embarazo y poder diseñar el plan de tratamiento.

En este trabajo, los niveles de FSH basal previos al ICSI no afectan de manera significativa las tasas de ovocitos recuperados ni la de ovocitos MII luego de realizar TRA en estos grupos de estudio.

Referencias

1. Kwee J, Elting M, Schats R, Bezemer PD, Lambalk CB, Schoemaker J. Comparison of endocrine tests with respect to their predictive value on the outcome of ovarian hyperstimulation in IVF treatment: results of a prospective randomized study. Hum Reprod. 2003;18:1422-7.
2. Papaleo E, De Santis L, Fusi F, et al. Natural cycle as first approach in aged patients with elevated follicle-stimulating hormone undergoing intracytoplasmic sperm injection: A pilot study. Gynecol Endocrinol. 2006;22:351-354.
3. Fábregues F, Balasch J, Creus M, Carmona F, Puerto B, Quintó L, Casamitjana R, Vanrell JA. Ovarian reserve test with human menopausal gonadotropin as a predictor of in vitro fertilization outcome. J Assist Reprod Genet. 2000;17:13-9.
4. Hansen KR, Morris JL, Thyer AC, Soules MR. Reproductive aging and variability in the ovarian antral follicle count: application in the clinical setting. Fertil Steril. 2003;80:577-83.
5. Bukman A, Heineman MJ. Ovarian reserve testing and the use of prognostic models in patients with subfertility. Hum Reprod Update. 2001;7:581-90.
6. Kline J, Kinney A, Kelly A, et al. Predictors of antral follicle count during the reproductive years. Hum Reprod. 2005;20:2179-2189.
7. Scheffer GF, Broekmans FJM, Looman CWN, et al. The number of antral follicles in normal women with proven fertility is the best reflection of reproductive age. Hum Reprod. 2003;18:700-706.
8. Broekmans FJ, Scheffer GJ, Bancsi LFJMM, et al. Ovarian reserve tests in infertility practice and normal fertile women. Maturitas. 1998;30:205-214.
9. Te Velde ER, Pearson PL. The variability of female reproductive ageing. Human Reproduction Update. 2002;8(3):141-54.
10. Lorusso F, Vicino M, Lamanna G, Trerotoli P, Serio G, Depalo R. Performance of different ovarian reserve markers for predicting the numbers of oocytes retrieved and mature oocytes. Maturitas. 2007;56:429-35.
11. Dumesic DA, Damario MA, Session DR, Famuyide A, Lesnick TG, Thornhill AR, McNeilly AS. Ovarian morphology and serum hormone markers as predictors of ovarian follicle recruitment by gonadotropins for in vitro fertilization. J Clin Endocrinol Metab. 2001;86:2538-43.
12. Bancsi LF, Broekmans FJ, Mol BW, Habbema JD, te Velde ER. Performance of basal folliclestimulating hormone in the prediction of poor ovarian response and failure to become pregnant after in vitro fertilization: a metaanalysis. Fertil Steril. 2003;79:1091-100.
13. Scheffer GJ, Broekmans FJ, Dorland M, Habbema JD, Looman CW, te Velde ER. Antral follicle counts by transvaginal ultrasonography are related to age in women with proven natural fertility. Fertil Steril. 1999;72:845-51.
14. Chang MY, Chiang CH, Hsieh TT, Soong YK, Hsu KH. Use of the antral follicle count to predict the outcome of assisted reproductive technologies. Fertil Steril. 1998;69:505-10.
15. Hendriks DJ, Mol BW, Bancsi LF, te Velde ER, Broekmans FJ. Antral follicle count in the prediction of poor ovarian response and pregnancy after in vitro fertilization: a metaanalysis and comparison with basal folliclestimulating hormone level. Fertil Steril. 2005;83:291-301.
16. Hendriks DJ, Mol BW, te Velde ER, Broekmans FJ. Ultrasonography as a tool for the prediction of outcome in IVF patients: a comparative meta-analysis of ovarian volume and antral follicle count. Fertil Steril. 2007;87:764-75.

¿Qué variables de la transferencia embrionaria disminuyen las tasas de embarazo en receptoras de ovodonación?

Variables that reduce embryo transfer pregnancy rates in oocyte donation receptors

M. Florencia Ugozzoli Llugdar, Andrea Quinteiro Retamar, Cristian Álvarez Sedo; Sergio Papier, Susana Kopelman*
**Centro de Estudios en Genética y Reproducción (CEGYR), Buenos Aires - E-mail: fugozzoli@cegyr.com*

Resumen

Objetivo: determinar qué variables de la transferencia embrionaria (TE) disminuyen las tasas de embarazo en receptoras de ovodonación.

Materiales y métodos: estudio prospectivo de análisis multivariado.

Se incluyeron 200 receptoras del programa de ovodonación del CEGYR (julio 2011-diciembre 2012) que realizaron TE de 2 embriones de buena morfología el día 3. Se evaluaron las variables: posición uterina, uso de pinza erina, uso de cánula metálica, sitio de transferencia, sangre dentro del catéter y regreso del catéter al laboratorio con embriones retenidos.

Resultados: el análisis multivariado dio como resultado lo siguiente: en el 88% de los casos, la posición uterina fue anteversoflexión (AVF) (OR: 1,2; IC95%:

0,5-2,8; *p*=0,84). El 10% de las pacientes utilizó pinza erina (OR: 0,53; IC95%: 0,2-1,36; *p*=0,27), al igual que el uso de la cánula metálica (OR: 1,39; IC95%: 0,3-4,41; *p*=0,78), y el regreso de los embriones dentro del catéter al laboratorio (OR: 0,58; IC95%: 0,05-6,5; *p*=0,09). La transferencia en tercio medio (30%) con relación al tercio superior (70%) demuestra tener una mayor relación con la tasa de embarazo, así como la presencia de sangre dentro del catéter (5%) se relaciona de forma significativa con menores tasas de embarazo.

Conclusión: la TE en tercio superior del útero y la presencia de sangre dentro del catéter postransferencia son variables que afectaron significativamente las tasas de embarazo. El uso de cánula metálica, pinza erina, posición uterina y regreso de embriones retenidos dentro del catéter al laboratorio no han demostrado ser variables que afecten los resultados.

Palabras clave: variables, transferencia embrionaria, ovodonación.

Abstract

Objective: *To determine which variables of embryo transfer (ET) pregnancy rates decline in eggs donation receptors.*

Materials and methods: *Prospective multivariate analysis.*

We included 200 recipients of oocyte donation program in CEGYR (July 2011-December 2012) who performed ET of two embryos of good morphology on day 3. The variables evaluated were: uterine position, use of forceps erina, using metal cannula, transfer site, presence of blood within the catheter and returned to the laboratory catheter retained embryos.

Results: *Multivariate analysis resulted in the following: 88 % of cases uterine position was AVF (OR: 1.2, 95% CI: 0.5-2.8, p=0.84), 10% of patients erina clamp used (OR: 0.53, 95% CI: 0.2-1.36 , p=0.27) , as did the use of the metal cannula (OR: 1.39, 95% CI: 0.3-4.41, p=0.78), and the return of the embryos in the laboratory catheter (OR: 0.58, 95% CI: 0.05-6.5, p=0.09). The transfer in the middle third (30%) relative to the upper third (70 %) proves to have a closer relationship with the pregnancy rate, and the presence of blood within the catheter (5%) was significantly associated with lower pregnancy rates.*

Conclusion: *Embryo transfer in the upper third of the uterus and the presence of blood in the catheter post-transfer are variables that significantly affect the results of pregnancy rates. The use of metal cannula, erina clamp the uterine position and return to the laboratory embryos retained within the catheter have not proven variables that affect the results.*

Keywords: *Variables, embryo transfer, egg donation.*

Introducción

La transferencia embrionaria (TE) es la intervención que permite el contacto entre el endometrio y el preembrión, haciendo posible su implantación y el establecimiento de una gestación. Para ello, es necesario que el potencial biológico del preembrión sea adecuado, que el endometrio sea receptivo y que la intervención sea técnicamente correcta, evitando el deterioro tanto del uno como del otro (1).

Como afirmaron Schoolcraft y cols. (1), tradicionalmente se ha concedido escasa importancia a la técnica de la TE que, en el momento de realizar una revisión en el año 2001, apenas se había modificado desde su descripción por Edwards y cols.

Sin embargo, con el tiempo, distintos aspectos de la transferencia fueron adquiriendo una relevante importancia hasta el punto que, actualmente, se hace necesario que un centro de reproducción disponga de un protocolo de trabajo en la TE que evite la variabilidad clínica y permita actuar de la forma más adecuada en cada caso.

En cada caso, el embriólogo responsable debe decidir el momento en que debe realizar la transferencia (preembrión en células o blastocisto), cuáles y cuántos son los embriones que debe transferir, el catéter que debe utilizar, etc. Por otra parte, debe obtener los datos necesarios para poder relacionar la calidad de la transferencia con los resultados clínicos y tasas de gestación e implantación, fundamentalmente.

El objetivo de este trabajo es determinar qué variables de la transferencia embrionaria disminuyen las tasas de embarazo en receptoras de ovodonación.

Materiales y métodos

Estudio prospectivo de análisis multivariado.

Se incluyeron 200 receptoras de ovocitos del programa de ovodonación (julio 2011-diciembre 2012) que realizaron la transferencia en CEGYR de 2 embriones de buena morfología en día 3. Se excluyeron los casos en los que se utilizaron las siguientes técnicas: "*assisted hatching*", columnas de anexina, IMSI (*intracytoplasmic morphologically-selected sperm injection*), muestras de biopsia testicular; además se excluyeron las pacientes con alteraciones de la cavidad uterina (mioma intramural >5 cm o que deforme la cavidad uterina, presencia de pólipos endometriales ≥1 cm).

Las variables que se evaluaron fueron: la posición uterina en AVF o en retroversoflexión (RVF), uso de pinza erina, uso de cánula metálica, sitio de transferencia: considerando tercio medio (realizada a más de 20 mm del fondo uterino) y tercio superior (realizada a menos de 20 mm del fondo uterino). Se evaluó la presencia de sangre dentro del catéter y el regreso del catéter al laboratorio con embriones retenidos. Se evaluó la tasa de embarazo mediante la subunidad βhCG positiva.

Resultados

La tasa de embarazo global fue del 54%. El análisis multivariado dio como resultado lo siguiente: en el 88% de los casos, la posición uterina fue en AVF con

relación a RVF, el análisis manifestó que esta variable no afecta los resultados (OR: 1,2; IC95%: 0,5-2,8, *p*=0,84). El 10% de las pacientes utilizó pinza erina, y los resultados fueron no significativos (OR: 0,53; IC95%: 0,2-1,36; *p*=0,27), al igual que el uso de la cánula metálica (6,5% de las pacientes) (OR: 1,39; IC95%: 0,3-4,41; *p*=0,78), y el regreso de los embriones dentro del catéter al laboratorio (OR: 0,58; IC95%: 0,05-6,5; *p*=0,09). Sin embargo, realizar la transferencia en el tercio medio (30%) o en el tercio superior (70%) demuestra tener una mayor relación con la tasa de embarazo (OR: 0,5 IC95%: 0,28-0,95; *p*=0,03), así como la presencia de sangre dentro del catéter (5%) se relaciona de forma significativa con menores tasas de embarazo (OR: 0,19; IC95%: 0,04-0,95; *p*=0,04) (**TABLA I**).

Discusión

La TE es el último paso, y probablemente uno de los más importantes, en el tratamiento de la FIV/ICSI y requiere el adecuado trabajo conjunto de clínicos y embriólogos. El objetivo de una transferencia exitosa es depositar aséptica y atraumáticamente los embriones en una localización de la cavidad uterina donde estos tengan las mayores probabilidades de implantarse. Tanto si no se dispone de embriones con capacidad biológica para implantar como si el proceso de la transferencia es inadecuado, se producirá el fracaso del tratamiento.

Con el tiempo, distintos aspectos de la transferencia fueron adquiriendo una relevante importancia hasta el punto que, actualmente, se hace necesario que un centro de reproducción disponga de un protocolo de trabajo en la TE que evite la variabilidad clínica y permita actuar de la forma más adecuada en cada caso.

Además de la receptividad endometrial y la calidad embrionaria, en la TE pueden confluir variables que influyen sobre su eficacia, tales como la experiencia del clínico, transferencia ecoguiada, tipo de catéter, técnica de transferencia, presencia de moco o sangre en el catéter, contracciones uterinas o dificultad del procedimiento (1-4).

Un estudio prospectivo de cohortes reveló que la experiencia del clínico en transferencias posee un valor significativamente estadístico para el éxito de la técnica (5).

Inicialmente, la TE se efectuaba haciendo avanzar el catéter de transferencia con los embriones en su interior hasta que su punta contactaba con el fondo uterino; acto seguido se retiraba 5-10 mm y se expulsaban los embriones hacia la cavidad uterina. Esta "transferencia a ciegas" tenía los inconvenientes de la subjetividad (se basaba en la capacidad del clínico para "sentir" la adecuada colocación del catéter) y de que el operador ignoraba cuándo el catéter había sido mal colocado, circunstancia esta que ocurría en el 20% de las veces.

El contacto con el fondo favorecía el sangrado y el estímulo de contracciones uterinas (6), que podrían expulsar los embriones transferidos fuera de la cavidad uterina, lo que originaba fallos o gestaciones ectópicas. Por estas razones, cuando las técnicas de TE evolucionaron hacia técnicas atraumáticas (evitando el contacto con el fondo uterino) comenzaron a mejorar los resultados precedentes.

En la actualidad, el "toque clínico" se refiere a las técnicas de TE efectuadas sin soporte de imagen durante la transferencia, pero en las que se evita el contacto con el fondo porque se dispone de información previa.

La TE ecoguiada reportada por primera vez a mediados de la década de 1980 surgió como un método de transferencia que pretendía facilitar la inserción atraumática del catéter y garantizar su ubicación correcta en la cavidad uterina.

Pero desde la primera descripción de Strickler y cols. (7), numerosos estudios han evaluado el efecto de la TE ecoguiada con sonda abdominal. Una revisión de Cochrane de 2010 (8), con 17 estudios randomizados y controlados, comparaba el ultrasonido frente al toque clínico y concluyó que con el ultrasonido se incrementó la tasa de embarazo (441/1254 vs. 350/1218; OR: 1,38; IC95% 1,16-1,64; p<0,0003). Otros tres metaanálisis mostraban conclusiones similares (9-10).

La transferencia ecoguiada se ha asociado con una incidencia menor de embarazos ectópicos (EP) en algunos trabajos (11, 12), aunque no en otros (13, 14).

El análisis de las variables que intervienen en una transferencia es complejo, porque no existen criterios bien establecidos para distinguir una transferencia de otra, ni tan siquiera para determinar el impacto de las variables que regularmente registramos.

La localización intrauterina en la que debe depositarse el embrión es controvertida y puede considerarse como una variable más, ya que podría influir en las tasas de gestación.

Variable	Chi-square	OR	95%IC	p
Lugar de transferencia (medio-superior)	4,6	0,5	0,28-0,95	0,03
Sangre dentro del catéter	3,6	0,19	0,04-0,95	0,04
Posición uterina (AVF vs. RVF)	0,4	1,2	0,5-2,8	0,84
Ver línea endometrial	0,4	0,4	0,04-3,9	0,5
Regreso del catéter al laboratorio	0,4	0,58	0,05-6,5	0,09
Usar pinza erina	1,2	0,53	0,2-1,36	0,27
Usar SOFT	0,4	1,39	0,3-4,41	0,78

TABLA I

El modelo teórico demuestra que el embrión nunca puede quedar implantado en el fondo del útero, lo que respalda la observación de que la tasa de éxitos aumenta cuando el embrión se deposita en la zona media y no en el fondo uterino, favoreciéndose la implantación en las caras anterior o posterior, y coincide con el consenso de que la punta del catéter debe estar situada a unos 2 cm del fondo (15).

Tradicionalmente, la punta del catéter era llevada hasta 5-10 mm del fondo uterino. Sin embargo, varios estudios recientes sugieren que la transferencia más lejos del fondo puede ofrecer mejores resultados. Embriones depositados a menos de 5 mm del fondo ofrecen una disminución de la tasa de embarazo y un aumento en la tasa de ectópicos (16).

Coroleu y cols., en un trabajo en tres grupos de estudio (1º 10,2 ± 0,9 mm; 2º 14,6 ± 0,7 mm; y 3º 19,3 ± 0,8 mm), analizaron la influencia de la posición de la punta del catéter en relación con el fondo de la cavidad uterina; observaron que la tasa de implantación fue significativamente mayor en los grupos 2º y 3º comparada con la del 1º (17).

La presencia de moco o sangre en el exterior del catéter puede ser un signo indirecto de una transferencia difícil.

Un estudio randomizado sobre 530 transferencias para evaluar el efecto de eliminar el moco cervical demostró una diferencia significativa, no sólo en el porcentaje de embarazos clínicos cuando se limpió el moco cervical, respecto al grupo control (tasa de embarazo 39,2% vs. 22,6%), sino también en el porcentaje de implantación (20,5% vs. 12,2%) y de nacidos vivos (33,6% vs. 17,4%). El OR de embarazo en el grupo intervenido fue 2,27 respecto al grupo control (18). Otros estudios no han encontrado relación en el efecto de la contaminación del catéter por sangre o moco (19, 20), pero la evidencia más consistente sugiere que la presencia de sangre disminuye las tasas de implantación y embarazo en proporción directa con su cantidad (21). Por otra parte, la presencia de sangre en torno al catéter o en su interior también puede ser considerada una manifestación de técnica defectuosa y condicionar un detrimento del resultado. Puede poner de manifiesto que endocérvix o endometrio han resultado dañados y ser la causa de un daño al endometrio si contamina el medio de cultivo.

La presencia de sangre en el catéter, a menudo causada por una transferencia difícil, también se asocia con disminución de la tasa de embarazo y una mayor incidencia de embriones retenidos en el catéter.

Uno de los mecanismos por los cuales una TE difícil o traumática puede dificultar la implantación sería a través de la estimulación de las contracciones uterinas. Se ha puesto de manifiesto que la frecuencia de las contracciones uterinas en torno al día de transferencia guarda relación inversa con el nivel circulante de progesterona y que a mayor frecuencia de las contracciones, menores tasas de implantación y embarazo. Las contracciones aumentan su frecuencia como consecuencia de una transferencia dificultosa o por el uso de una pinza de Pozzi (22). Las contracciones pueden iniciarse por el contacto del catéter con el fondo uterino o la manipulación cervical a través de la liberación de prostaglandinas (PG) y oxitocina.

Varios estudios han comparado la eficacia de los diferentes tipos de catéteres de transferencia, pero su elección sigue siendo un tema controvertido. Los catéteres firmes, más rígidos, facilitan la técnica, sobre todo en las transferencias difíciles, pero conllevan más sangrado, trauma y la estimulación de contracciones uterinas. En general, los catéteres "suaves", como el de Cook y Wallace, se prefieren a los "rígidos" como el TDT, Frydman, Tomcat, Tefcat y Rocket, ya que tienen menos probabilidades de lacerar el cuello uterino y el endometrio (23-25).

En dos metaanálisis, la utilización de catéteres blandos se asoció con una tasa de embarazo más alta que con los catéteres rígidos (26, 27). No parece existir diferencias de eficacia entre los diferentes catéteres suaves (28). De cualquier forma, si se hace necesario utilizar un catéter más rígido, se aconseja no sobrepasar el orificio cervical interno con la guía y pasar a su través un catéter suave.

Conclusión

La transferencia embrionaria en el tercio superior del útero y la presencia de sangre dentro del catéter postransferencia son variables que afectaron significativamente los resultados de las tasas de embarazo. El uso de cánula metálica, pinza erina, la posición uterina y el regreso de embriones al laboratorio retenidos dentro del catéter no han demostrado ser variables que afecten los resultados en este estudio.

Referencias

1. Schoolcraft W, Surrey E, Gardner D. Embryo transfer: techniques and variables affecting success. Fertil Steril. 2001;76:863-70.
2. Hearns-Stokes RM, Miller BT, Scott L, Creuss D, Chackraborty PK, Segars JH. Pregnancy rates after embryo transfer depend of the provider at embryo transfer. Fertil Steril. 2000;74:80-86.
3. Coroleu B, Carreras O, Vaiga A, Martell A, Martinez F, Belil I, et al. Embryo transfer under ultrasound guidance improves pregnancy rates after in vitro fertilization. Hum Reprod. 2000;15:616-620.
4. Tang OS, Ng EHY, So WWK, Ho PK. Ultrasound-guided embryo transfer: a prospective randomized clinical trial. Hum Reprod. 2001;16:2310-2315.
5. Desparoir A, Capelle M, Banet J, Noizet A, Game-

rre M, Courbière B. Does the experience of the provider affect pregnancy rates after embryo transfer? J Reprod Med. 2011 Sep-Oct;56(9-10):437-43.
6. Lesny P, Killick SR, Tetlow RL, Robinson J, Maguiness SD. Embryo transfer— can we learn anything new from the observation of junctional zone contractions? Hum Reprod. 1998;13:1540-6.
7. Woolcott R, Stanger J. Potentially important variables identified by transvaginal ultrasound-guided embryo transfer. Hum Reprod. 1997;12:963-6.
8. Brown JA, Buckingham K, About-Setta A, Buckett W. Ultrasound versus "clinical touch" for catheter guidance during embryo transfer in women [review]. The Cochrane Database Syst Rev. 2010; Jan 20(1):CD006107.
9. Buckett WM. A meta-analysis of ultrasound-guided versus clinical touch embryo transfer. Fertil Steril. 2003;80:1037-41.
10. Abou-Setta AM, Mansour RT, Al-Inany HG, Aboulghar MM, Aboulghar MA, Serour GI. Among women undergoing embryo transfer, is the probability of pregnancy and live birth improved with ultrasound guidance over clinical touch alone? A systemic review and meta-analysis of prospective randomized trials. Fertil Steril. 2007;88:333-41.
11. Garcia Velasco J, Isaza V, Martinez-Salazar J, Landazabal A, Requena A, Remohi J, et al. Transabdominal ultrasound guided embryo transfer does not increase pregnancy rates in oocyte recipients. Fertil Steril. 2002;78:534-9.
12. Sallam HN, Sadek S. Ultrasound-guided embryo transfer: a meta-analysis of randomized controlled trials. Fertil Steril. 2003;80:1042-6.
13. Katariya KO, Bates GW, Robinson RD, Arthur NJ, Propst AM. Does the timing of mock embryo transfer affect in vitro fertilization implantation and pregnancy rates? Fertil Steril. 2007;88:1462-4.
14. Matorras R, Urguijo E, Mendoza R, Corcostegui B, Exposito A, Rodriguez-Escudero FJ. Ultrasound guided embryo transfer improves pregnancy rates and increases the frequency of easy transfers. Hum Reprod. 2002;17:1762-6.
15. Yaniv S, Jaffa AJ, Eytan O, Elad D. Simulation of embryo transport in a closed uterine cavity model. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2009 May;144 Suppl 1:S50-60. doi: 10.1016/j.ejogrb.2009.02.019. Epub 2009 Mar 17.
16. Pope CD, Cook EK, Arny M, Novak A, Grow DR. Influence of embryo transfer depth on in vitro fertilization and embryo transfer outcomes. Fertil Steril. 2004;81:51-8.
17. Coroleu B, Barri PN, Carreras O, Martinez F, Parriego M, Hereter L, Perera N, Veiga A, Balasch J. The influence of the depth of embryo replacement into the uterine cavity on the implantation rates after IVF: a controlled, ultrasound-guided study. Human Reprod. 2002;17:341-346.
18. Moini A, Kiani K, Bahmanabadi A, Akhoond M, Akhlaghi A. Improvement in pregnancy rate by removal of cervical discharge prior to embryo transfer in ICSI cycles: a randomised clinical trial. Aust NZ J Obstet Gynaecol. 2011 Aug;51(4):315-20.
19. Visschers BA, Bots RS, Peeters MF, Mol BW, van Dessel JH. Removal of cervical mucus: effect on pregnancy rates in IVF/ICSI. Reprod Biomed Online. 2007;15:310-5.
20. Moragianni VA, Cohen JD, Smith SE, et al. Effect of macroscopic or microscopic blood and mucus on the success rates of embryo transfers. Fertil Steril. 2010;3:570-3.
21. Tiras B, Korucuoglu U, Polat M, Saltik A, Zeyneloglu HB, Yarali H. Effect of blood and mucus on the success rates of embryo transfers. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2012 Dec;165(2):239-42.
22. Lesny P, Killick S, Robinson J, Raven G, Maguiness S. Junctional zone contractions and embryo transfer: is it safe to use a tenaculum? Hum Reprod. 1998;14:2367-70.
23. Wood EG, Batzer FR, Go KJ, Gutmann JN, Corson SL. Ultrasound-guided soft catheter embryo transfers will improve pregnancy rates in in-vitro fertilization. Hum Reprod. 2000;15:107-12.
24. McDonald JA, Norman RJ. A randomized controlled trial of a soft double lumen embryo transfer catheter versus a firm single lumen catheter: significant improvements in pregnancy rates. Hum Reprod. 2002;17:1502-6.
25. Sallam HN, Agameya AF, Rahman AF, Ezzeldin F, Sallam AN. Impact of technical difficulties, choice of catheter, and the presence of blood on the success of embryo transfer: experience from a single provider. J Assist Reprod Genet. 2003;20:135-42.
26. Abou-Setta AM, Al-Inany HG, Mansour RT, Serour GI, Aboulghar MA. Soft versus firm embryo transfer catheters for assisted reproduction: a systematic review and meta-analysis. Hum Reprod. 2005;20:3114-21.
27. Buckett W. A review and meta-analysis of prospective trials comparing different catheters used for embryo transfer. Fertil Steril. 2006;85:728-34.
28. Saldeen P, Abou-Etta A, Bergh T, Sundstrom P, Holte J. A prospective randomized controlled trial comparing two embryo transfer catheters in an ART program. Fertil Steril. 2008;90:599-603.

Actualizaciones

Lipodistrofia y alteraciones del ciclo menstrual

Lipodystrophy and menstrual function

Dra. Carla Musso
Unidad Asistencial Dr. C. Milstein
E-mail: mussocar@hotmail.com - Av. Callao 1502 #4 (1024) CABA

Resumen

Las lipodistrofias son un grupo de desórdenes genéticos o adquiridos que se caracterizan por la pérdida de grasa corporal y acumulación ectópica de grasa subcutánea y visceral. Las lipodistrofias se asocian a complicaciones metabólicas que enfatizan la importancia del tejido adiposo como un órgano endocrino. La severidad de las complicaciones metabólicas y endocrinas, como diabetes mellitus, hipertrigliceridemia, esteatosis hepática y amenorrea, se correlacionan con la cuantía de pérdida de tejido adiposo. La sustitución con la metionil leptina humana recombinante (r-metHuLeptin) mejora la insulinosensibilidad, así como también las funciones neuroendocrinas, como la pulsatilidad de la hormona luteinizante (LH).

Palabras clave: leptina, lipodistrofia, amenorrea.

Abstract

Lipodystrophies are a group of genetic or acquired disorders that are characterized by varying degrees of body fat loss and in some instances ectopic localized accumulation of subcutaneous and visceral fat. Lipodystrophies are often linked with profound metabolic complications that emphasize the significance of adipose tissue as an endocrine organ. Metabolic and endocrine complications as diabetes mellitus, hypertriglyceridemia, hepatic esteatosis and amenorrhea are determinate by the extension of fat loss. Substitution therapy with r-metHuLeptin plays an important role in insulin sensitivity and also in neuroendocrine function as restoring LH pulsatility.

***Key words**: leptin, lipodystrophy, amenorrhea.*

Introducción

Las lipodistrofias son un grupo de enfermedades congénitas o adquiridas que se caracterizan por la pérdida del tejido adiposo, en forma parcial o total. En dicho tejido, considerado un órgano endocrino, son múltiples las adipocitoquinas liberadas que tienen diversas funciones. La leptina, hormona peptídica, es una de las adipocitoquinas cuya disminución o ausencia provoca trastornos metabólicos y hormonales severos, que afectan el eje neuroendocrino, como así también la regulación del gasto energético y el metabolismo de los hidratos de carbono y lípidos (1).

La hipoleptinemia provoca, a nivel del eje hipotálamo-hipófiso-gonadal, disminución de liberación y de la pulsatilidad de gonadotrofinas, con la consiguiente amenorrea (2).

El remplazo con r-metHuLeptin en estos pacientes restaura tanto las alteraciones endocrinas como metabólicas (3).

Lipodistrofia: clasificación y generalidades

La lipodistrofia es una enfermedad compleja, que puede ser tanto congénita o adquirida, caracterizada por pérdida de la grasa subcutánea, que puede ser total o parcial, con aumento de grasa visceral. Su aparición es común en matrimonios consanguíneos (4).

Se han hallado dos formas moleculares del síndrome de lipodistrofia congénita generalizada: el tipo 1 y el tipo 2. Algunos pacientes tienen formas moleculares aún no descriptas. La de tipo 1 se halló en el cromosoma 9q34 y es la mutación de un gen 1-acilglicerol-3 fosfato-0-aciltranferasa 2 (AGPAT2) que cataliza la reacción de acetilación durante la síntesis de fosfolípidos y triglicéridos, especialmente a nivel de tejido adiposo subcutáneo. La de tipo 2 es una mutación en el gen seipin, que codifica una proteína cuya función estaría relacionada con la lipogénesis y diferenciación de los adipocitos. Está ubicado en el cromosoma 11q13 (1). Se han identificado otros 2 genes: caveolin-1 (CAV1), que interviene en la unión de ácidos grasos y lipogénesis, y el gen polimerasa 1 y factor liberador de transcripción (PTRF) involucrado en la biogénesis de las cavéolas o vesículas (5,6).

La lipodistrofia congénita parcial o de Dunnigan tiene características metabólicas similares, con mutaciones en el gen de la lámina A y C (LMNA), proteínas nucleares en las que mutaciones específicas provocan la apoptosis prematura de adipocitos (1).

Hasta aquí hemos descripto las formas más frecuentes de lipodistrofia congénita; el resto se describe en la **TABLA 1**.

Dentro de las lipodistrofias adquiridas, también se subdividen en generalizadas, parciales e inducidas por drogas.

Tipo	Gen mutado	Función del gen	Características clínicas
Lipodistrofia generalizada congénita o síndrome Berardinelli-Seip	AGPAT2	Cataliza la formación de ácido fosfatídico	Ausencia de tejido graso
	BSCL2 o Seipin	Regula la homeostasis lipídica	Ausencia de tejido graso Retraso mental Cardiomiopatía
	CAV1	Caveolin-1 unión y transporte de ácidos grasos	Ausencia de tejido graso Baja talla Resistencia vitamina D
	PTRF	Formación de vesículas, regula la expresión de caveolin-1 y 3	Ausencia de tejido graso Estenosis pilórica Cardiomiopatía
Lipodistrofia parcial congénita	LMNA (S. Dunnigan)	Lámina A y C son proteínas relacionadas con el citoesqueleto	Pérdida de tejido graso en extremidades y tronco
	PPARG	PPARG	
	AKT2	Relacionada con diferenciación del adipocito	Pérdida de tejido graso de extremidades
	PLIN 1	Perilipin-1 almacenar lípidos	Pérdida de tejido graso de extremidades

TABLA 1. Clasificación de lipodistrofias congénitas.

Tipo	Subtipo	Características clínicas
Lipodistrofia adquirida generalizada	Síndrome de Lawrence	Autoinmune Paniculitis con pérdida de tejido adiposo
Lipodistrofia adquirida parcial	Síndrome de Barraquer-Simons	Autoinmune Pérdida de tejido adiposo en cara, cuello, tronco y abdomen
Lipodistrofia en pacientes HIV+	Inducida por inhibidores de proteasa o NRTI*	Pérdida de tejido adiposo en cara, y extremidades, y depósito de tejido adiposo en abdomen
Lipodistrofia localizada	Inducida por otras drogas, por paniculitis	Pérdida de tejido adiposo en pequeñas áreas del cuerpo

*Inhibidores nucleósidos transcriptasa reversa

TABLA 2. Clasificación de lipodistrofias adquiridas.

La lipodistrofia adquirida generalizada o síndrome de Lawrence aparece durante la niñez y se presenta con paniculitis en miembros inferiores o pared abdominal (1) (**TABLA 2**).

La más frecuente es la lipodistrofia adquirida en las personas infectadas por el virus HIV, que es provocada por las drogas antirretrovirales; los inhibidores de la proteasa (IP) son los responsables de las modificaciones significativas tanto físicas como metabólicas. Si bien todas las drogas antirretrovirales así como la infección por el virus HIV han sido descriptos como potenciales causas de lipodistrofia, los IP han provocado los cambios más rápidos y profundos (7). La insulinorresistencia, siempre presente en los síndromes de lipodistrofia, estaría relacionada con el depósito de ácidos grasos libres y de triglicéridos tanto en tejido muscular como en la célula beta, desencadenando el estado de lipotoxicidad. Las adipocitoquinas presentes en el tejido adiposo (leptina, adiponectina) juegan un rol fundamental en el desarrollo de insulinorresistencia (8). Prueba de esto fue la experiencia de implantar tejido adiposo en ratones con lipodistrofia, en los que revirtieron los parámetros metabólicos alterados (9). La severidad de la insulinorresistencia se correlaciona con la mayor pérdida de tejido adiposo, razón por la que se considera a dicho tejido como un órgano endocrino trascendente.

La dislipidemia presente en estos pacientes se caracteriza por la hipertrigliceridemia que suele ser extrema, con alta incidencia de pancreatitis; esta sería secundaria a la falta de tejido adiposo, deposito fisiológico de los triglicéridos, así como también la ausencia de leptina, principal activador de la AMPK tanto a nivel hepático como en músculo esquelético, capaz de controlar la lipogénesis y la oxidación de ácidos grasos (B oxidación). La hipertrigliceridemia juega un rol importante en la génesis de la esteatosis hepática, esteatohepatitis y la cirrosis que caracteriza a estos pacientes (10,11).

La nefropatía es una patología muy frecuente en pacientes con lipodistrofia generalizada. Si bien en algunos casos se ha constatado que la nefropatía está relacionada con el mal control de la diabetes, se han hallado inesperadamente otros tipos de nefropatías, tales como glomerulonefritis membranoproliferativa y glomeruloesclerosis focal y segmentaria (12).

Con los tratamientos disponibles implementados para las alteraciones metabólicas no se han alcanzado los objetivos. En el caso de la diabetes y la insulinorresistencia, con los hipoglucemiantes orales e insulinosensibilizadores (metformina, sulfonilureas y tiazolidinedionas), no se han logrado los niveles de HbA1c deseados. En cuanto a la insulina, ha sido necesario utilizar insulinas de alta concentración (U-500) (13) debido a las altas dosis requeridas. La terapéutica con fibratos para la hipertrigliceridemia tampoco ha logrado controlar los niveles extremadamente elevados que presentan en general estos pacientes.

La implementación del tratamiento en forma experimental en el contexto de un protocolo abierto con r-metHuLeptin ha logrado resultados satisfactorios en los niveles de glucemia y triglicéridos, así como también en la esteatosis hepática dado que ha revertido la esteatohepatitis y todos los parámetros que acompañan las alteraciones hepáticas del hígado graso. En el aspecto ginecológico, las pacientes han regularizado los ciclos menstruales (2, 10).

La estabilización de los parámetros metabólicos y hormonales se alcanzó en forma inmediata al implementar la terapéutica con leptina (2, 14,15).

Leptina: generalidades

La leptina (del griego, *leptos*: 'delgado'), adipocitoquina conformada por 167 aminoácidos, codificada en el gen ob y segregada en el tejido adiposo, fue descubierta en 1994 (16). Se expresa en otros tejidos como placenta, glándula mamaria, testículo, ovario, endometrio, estómago, hipotálamo e hipófisis.

Se segrega en forma pulsátil, con ritmo circadiano, con niveles elevados a la mañana temprano y a la noche y niveles bajos a la tarde.

La leptina ejerce sus efectos uniéndose a receptores específicos denominados receptores Ob, clase 1, de la familia de receptores de citoquinas, habiéndose identificado 4 isoformas en humanos (ObRa-ObRd). Las isoformas cortas ObRa y ObRc tienen como función el transporte de leptina a través de la barrera hematoencefálica; la isoforma larga, ObRb, presente en hipotálamo, es responsable de la homeostasis de la energía y de las funciones neuroendocrinas (17). A través de este receptor, la leptina ejerce su función en las neuronas hipotalámicas, ARC, estimulando la proopiomelanocortina (POMC) e inhibiendo la proteína o neuropéptido agouti (AgRP) que son anorexígenas y orexígenas, respectivamente. El receptor ObRb también se expresa en el páncreas, inhibiendo la expresión y secreción de insulina y en hígado, estimulando la lipólisis e inhibiendo la lipogénesis (18).

Entre las múltiples acciones, la homeostasis de la energía, regulación del metabolismo lipídico y de la insulina, el equilibrio neuroendocrino y las funciones a nivel del sistema inmune han sido las más relevantes. Los niveles de leptina circulante, proporcionales a la cantidad de tejido adiposo subcutáneo, reflejan la reserva energética que tiene el organismo para las distintas funciones, la reproductiva es una de ellas (1,2).

Se ha demostrado, tanto en roedores como en humanos, que las modificaciones en los niveles de leptina están relacionados con la disminución de la ingesta tanto aguda como crónica (19).

Eje hipotálamo-hipófiso-gonadal en pacientes con lipodistrofia

Las mujeres con lipodistrofia e hipoleptinemia desarrollan un hipogonadismo hipogonadotrófico con insuficiente o nulo desarrollo puberal (20).

En mujeres de peso normal sometidas a deprivación calórica, se han observado alteraciones en la pulsatilidad de LH secundaria a la disminución de los niveles de leptina, esta puede ser revertida con la sustitución de metHuLeptin (21).

El efecto de la leptina en la secreción de LH se debe a un mecanismo indirecto; dado que las neuronas hipotalámicas liberadoras de gonadotrofinas (GnRH) no tienen receptores de leptina (22), actuaría a través de neuronas en el área preóptica (23-25). Estarían incluidas las neuronas agouti, neuropéptido Y, proopiomelanocortina y neuronas del núcleo arcuato que expresan kisspeptina, bradiquininas y dinorfinas que estimulan directamente la liberación de GnRH o vía Kiss-1.

El mediador de leptina, la kisspeptina, es una proteína producto del gen Kiss-1. Su expresión está reducida en el ayuno prolongado y puede ser restaurada con la administración exógena de r-metHuLeptin (26).

En el caso de mujeres con amenorrea hipotalámica, producto del bajo peso, del estrés y del exceso de actividad física, donde los bajos niveles de leptina son consecuencia de la disminución extrema de la grasa subcutánea, también se ve afectada la pulsatilidad de LH, que se restaura con r-metHuLeptin (27).

Leptina: impacto a nivel hipotálamo-hipófiso-gonadal

En cuanto al impacto en el eje hipotálamo-hipófiso-gonadal del tratamiento sustitutivo con r-metHu-Leptin en 10 mujeres con lipodistrofia tanto congénita como adquirida, se logró el descenso de los niveles de testosterona y la regularización de las menstruaciones, así como también la disminución de los niveles de testosterona libre con el consiguiente ascenso de SHBG, que refleja aumento de la insulinosensibilidad (**Figura 1**) (2). El estudio y reconocimiento de los distintos tipos de lipodistrofia, la insulinorresistencia de tipo A y B, el leprechaunismo y el síndrome de Rabson-Mendenhall dieron origen a la asociación de hiperinsulinismo con hiperandrogenismo, en los que el denominador común era la presencia de ovarios poliquísticos (28-31).

Los niveles de LH y FSH basales previos al tratamiento con leptina no se modificaron con el tratamiento, si bien la respuesta a la estimulación con LHRH fue positiva, con un incremento no significativo. Aún así podría explicar la normalización de la pulsatilidad de LH, hecho importante para la restauración de los ciclos menstruales (2,32).

El remplazo con leptina en ratas hembras prepuberales desencadenó pubertad precoz, hecho que ocasionó temor al implementar el tratamiento con leptina en niñas prepuberales. Este fenómeno no se replicó en las pacientes que tuvieron el desarrollo puberal a la edad adecuada (33).

Conclusiones

El remplazo con r-metHuLeptin se ha utilizado en 3 situaciones clínicas: déficit congénito de leptina, caracterizado por obesidad, en los que induce saciedad y descenso de peso (34); en lipodistrofias congénitas o adquiridas y en el síndrome de Rabson-Mendenhall, ambas situaciones caracterizadas por insulinorresistencia extrema en las que la leptina mejoró la insulinosensibilidad y los parámetros metabólicos, así como también las alteraciones del eje hipotálamo-hipófiso-gonadal (2, 14, 35,36).

En amenorrea hipotalámica es promisoria su implementación, con normalización de niveles y pulsatilidad de LH, que logran la ovulación y restauración de ciclos menstruales (37).

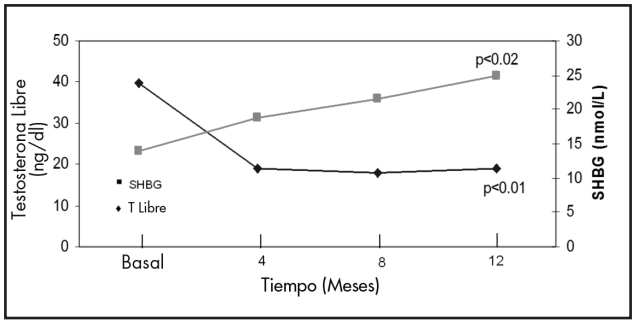


FIGURA 1. Cambios en los niveles de testosterona libre y SHBG en función del tratamiento con metHuLeptin (adaptada de Musso C y cols.[2]).

Si bien la prevalencia de lipodistrofia es baja, sus efectos deletéreos en algunos casos son irreversibles por diagnóstico tardío, con alta prevalencia de muerte a causa de pancreatitis. El conocimiento de esta entidad es importante no solo en el área pediátrica, sino ginecológica y endocrina, dado que los motivos de consulta son múltiples y el desconocimiento de las distintas presentaciones de la enfermedad puede llevar al subdiagnóstico.

Ante la reciente aprobación de la r-metHuLeptin por la FDA para el tratamiento de la lipodistrofia se abre esta alternativa terapéutica con la que los pacientes pueden revertir las alteraciones metabólicas y hormonales, lo que modificará el pronóstico y su calidad de vida.

Agradecimientos

Agradezco al Dr. Phillip Gorden, Director Emérito de NIDDK, *National Institutes of Health* por haberme dado la posibilidad de trabajar en investigación clínica con pacientes con lipodistrofias y con síndromes de insulinorresistencia extrema.

Referencias

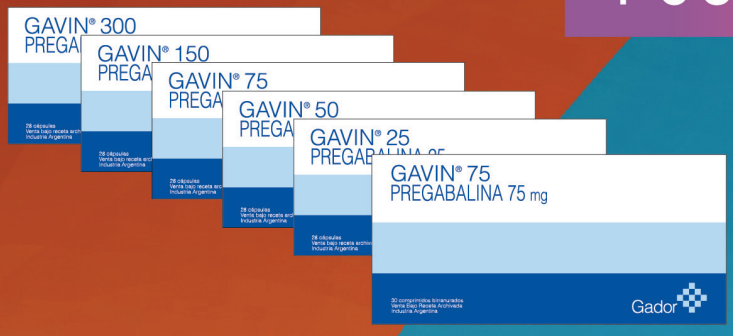
1. Garg A. Lipodystrophies: Genetic and Acquired Body Fat Disorders. JCEM. 2011;96(11):3313-3325.
2. Musso C, Cochran E, Javor E, Young J, DePaoli AM, Gorden P. The long-term effect of recombinant methionyl human leptin therapy on hyperandrogenism and menstrual function in female and pituitary function in male and female hypoleptinemic lipodystrophic patients. Metabolism. 2005;54:255-263.
3. Moon HS, Dalamaga M, Kim SY, et al. Leptin's role in lipodystrophic and nonlipodystrophic insulin-resistant and diabetic individuals. Endocrine Reviews. 2013;34(3):337-412.
4. Khan S, Hamnvik O, et al. Leptin as a modulator of neuroendocrine function in humans. Yonsei Med J. 2012;53(4):671-679.
5. Kim CA, Delepiane M, Boutet E, et al. Association of a homozygous nonsense caveolin-1 mutation with Berardinelli-Seip congenital Lipodystrophy. JCEM. 2008;93:1129-1134.
6. Hayashi YK, Matsuda C, Ogawa M, et al. Human PTRF mutations cause secondary deficiency of caveolins resulting in muscular dystrophy with generalized lipodystrophy. JCI. 2009;119:2623-2633.
7. Grinspoon S, Carr A. Cardiovascular risk ad body fat abnormalities in HIV infected adults. NEJM. 2005;352:448-462.
8. Kershaw EE, Flier JS. Adipose tissue as an endocrine organ. JCEM. 2004;89:2548-2556.
9. Reitman ML, Arioglu E, Gavrilova O, Taylor SI. Lipoatrophy revisited. Trends Endocrinol Metab 2000;11:410-416.
10. Javor ED, Ghany MG, Cochran EK, Oral EA, DePaoli AM, Premkumar A, Kleiner DE, Gorden P. Leptin Reverses Nonalcoholic Steatohepatitis in

UNA MOLÉCULA TRANSNOSOLÓGICA

gavin®

Pregabalina 25-50-75-150-300 mg - Sol. Oral 20 mg/ml

MAYOR FLEXIBILIDAD POSOLÓGICA



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.

pami INSSJP | IOMA | pap | RECETARIO SOLIDARIO

Las presentaciones de 50 mg y Sol. Oral se encuentran en trámite de incorporación en IOMA.

NUEVA PRESENTACION **SOLUCION ORAL**

PRESENTACIÓN: Envase con 1 frasco conteniendo 240 ml de solución + pipeta dosificadora

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

* La solución oral no se encuentra aprobada en la indicación fibromialgia

Gador en SNC

Gador
Al Cuidado de la Vida
http://www.gador.com.ar

Rubí®

VALERATO DE ESTRADIOL
DIENOGEST

Equilibradamente seguro

¡NOVEDAD!

También aprobado para el tratamiento de la hemorragia menstrual abundante y/o prolongada en mujeres sin patología orgánica que escogen la anticoncepción oral.[7]

Anticonceptivo oral multifásico que libera estradiol, el mismo estrógeno que produce naturalmente la mujer.[1]

- Alta eficacia anticonceptiva [2] [3]
- Efecto favorable sobre el perfil lipídico [4]
- Menor impacto en parámetros hemostáticos [4]
- Menos volumen y días de sangrado [1] [5]
- Adecuado control de ciclo [1]
- Alto nivel de satisfacción [6]
- Mejora el bienestar físico y emocional [6]
- Baja incidencia de efectos adversos [6]

RÉGIMEN APROBADO POR FDA

PRESENTACIÓN:
Envase con 28 comprimidos recubiertos, conteniendo Valerato de estradiol + Dienogest.

Calidad Gador

1) Ahrendt H, et al. Bleeding pattern and cycle control with an estradiol-based oral contraceptive: a seven-cycle, randomized comparative trial of estradiol valerate/ dienogest and ethinyl estradiol/levonorgestrel. Contraception 2009, 80: 436-444. **2)** Fruzzettia F, Bitzer J. Review of clinical experience with estradiol in combined oral contraceptives. Contraception 2010, 81: 8-15. **3)** Hoy S, Scott L. Estradiol valerate/dienogest in oral contraception. Drugs 2009; 69: 1635-1646. **4)** Parke S, et al. Metabolic effects of a new four-phasic oral contraceptive containing estradiol valerate and dienogest. Obstet Gynecol 2008, 111: 12S-13S. **5)** Fraser I, et al. A novel oral contraceptive comprising estradiol valerate/dienogest for the treatment of heavy and/or prolonged menstrual bleeding without organic cause: a double-blind, randomised, placebo-controlled trial. Int J Gynecol Obstet 2009, 107: S183-S184. **6)** Palacios S, et al. Efficacy and safety of a novel oral contraceptive based on oestradiol (oestradiol valerate/dienogest): A phase III trial. European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology 2010, 149: 57-62. **7)** Prospecto Rubí, GADOR S.A. Fecha última revisión: Oct-2012.

RECETARIO SOLIDARIO

LINEA MUJER Gador

Gador
Al Cuidado de la Vida
http://www.gador.com.ar

Patients with Severe Lipodystrophy. Hepatology. 2005;41(4):753-60.
11. Petersen KF, Oral EA, Dufour S, Befroy D, Ariyan C, Yu C, Cline GW, DePaoli AM, Taylor SI, Gorden P, Shulman GI. Leptin reverses insulin resistance and hepatic steatosis in patients with severe lipodystrophy. J Clin Invest. 2002;109:1345-1350.
12. Javor ED, Moran SA, Young JR, Cochran EK, DePaoli AM, Oral EA, Turman MA, Blackett PR, Savage DB, O'Rahilly SO, Balow JE, Gorden P. Proteinuric Nephropathy in Acquired and Congenital Generalized Lipodystrophy: Baseline Characteristics and Course during Recombinant Leptin Therapy. J Clin Endocrinol Metab. 2004;89:3199-3207.
13. Cochran E, Musso C, Gorden P. The use of U-500 in patients with extreme insulin resistance. Diabetes Care. 2005;28(5):1240-1244.
14. Oral EA, Simha V, Ruiz E, Andewelt A, Premkumar A, Snell P, Wagner AJ, DePaoli AM, Reitman ML, Taylor SI, Gorden P, Garg A. Leptin-replacement therapy for lipodystrophy. N Engl J Med. 2002;346:570-578.
15. Oral EA, Ruiz E, Andewelt A, Sebring N, Wagner AJ, DePaoli AM, Gorden P. Effect of leptin replacement on pituitary hormone regulation in patients with severe lipodystrophy. J Clin Endocrinol Metab. 2002;87:3110-3117.
16. Zang Y, Proenca R, Maffei M, et al. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. Nature. 1994;372:425-32.
17. Bluher S, Mantzoros CS. Leptin in humans: lessons from translational research. Am J Clin Nutr. 2002;51:1337-1345.
18. Cohen MM. Role of leptin in regulating appetite, neuroendocrine function and bone remodeling. Am J Med Gen. 2006;140:515-524.
19. Chan JL, Heist K, De Paoli AM, et al. The role of falling leptin levels in neuroendocrine, and metabolic adaptation to short-term starvation in healthy men. JCI. 2003;111:1409-21.
20. Khan S, Hamnvik O, Brinkoetter M, et al. Leptin as a modulator of neuroendocrine function in humans. Yonsei Med J. 2012;53(4) 671-679.
21. Chan JL, Matarese G, Shetty GK, et al. Differential regulation of metabolic neuroendocrine, and immune function by leptin in humans. Proc Natl Acad Sci USA. 2006;103:8481-6.
22. Quennell JH, Mulligan AC, Tups A, et al. Leptin indirectly regulates gonadotropin-releasing hormone neuronal function. Endocrinology. 2009;150:2805-12.
23. Kelesidis T, Kelesidis I, Chou S, et al. Narrative review: the role of leptin in human physiology: emerging clinical applications. Ann Inter Med. 2010;152:93-100.
24. Hill JW, Elmquist JK, Elias CF, et al. Hypothalamic pathway linking energy balance and reproduction. Am J Physiol Endocrinol Metab. 2008;294:E827-32.
25. Dardeno TA, Chou SH, Moon HS, et al. Leptin in humans physiology and therapeutics. Front Neuroendocrinol. 2010;31:377-93.
26. Smith JT, Acohido BV, Clifton DK, et al. KiSS-1 neurones are direct targets for leptin in the ob/ob mouse. J Neuroendocrinol. 2006;18:298-303.
27. Welt CK, Chan JL, Bullen J, et al. Recombinant human leptin in women with hypothalamic amenorrhea. NEJM. 2004;351:987-97.
28. Musso C, Cochran E, Moran S, et al. Clinical course of genetic diseases of the insulin receptor (Type A and Rabson-Mendenhall Syndrome). Medicine. 2004;83(4):209-222.
29. Musso C, Shawker T, Cochran E, et al. Clinical evidence that hyperinsulinemia independent of gonadotropins stimulates ovarian growth. Clinical Endocrinology. 2005;63:73-78.
30. Khan CR, Flier JS, Bar RS, et al. The syndromes of insulin resistance and acanthosis nigricans. Insulin receptor disorders in man. NEJM. 1976;294:739-745.
31. Nestler JE. Role of hyperinsulinemia in the pathogenesis in the polycystic ovary syndrome, and its clinical implications. Seminars in reproductive Endocrinology. 1997;15:111-122.
32. Javor E, Cochran E, Musso C, Young J, DePaoli A, Gorden P. Long-Term Efficacy of Leptin Replacement in Patients with Generalized Lipodystrophy. Diabetes. 2005;54(7):1994-2002.
33. Ahima RS, Dushay J, Flier SN, et al. Leptin accelerates the onset of puberty in normal female mice. JCI. 1997;99:391-5.
34. Farooqi IS, Jebb SA, Langmack G, Lawrence E, Cheetham CH, Prentice AM, Hughes IA, McCamish MA, O'Rahilly S. Effects of recombinant leptin therapy in a child with congenital leptin deficiency. N Engl J Med. 1999;341:879-884.
35. Cochran E, Young JR, Sebring N, et al. Efficacy of recombinant methionyl human leptin therapy for the extreme insulin resistance of the Rabson-Mendenhall syndrome. J Clin Endocrinol Metab. 2004;89(4):1548-54.
36. Moran SA, Patten N, Young JR, et al. Changes in body composition in patients with severe lipodystrophy after leptin replacement therapy. Metabolism. 2004;53:513-519.
37. Chou SH, Chamberland JP, Liu X, et al. Leptin in a effective treatment for hypothalamic amenorrhea. Proc Natl Acad Sci USA. 2011;108:6585-90.

Posible rol de las acuaporinas placentarias en la fisiopatología de la preeclampsia

Possible role of placental aquaporins in the pathophysiology of preeclampsia

Natalia Szpilbarg[1], Ana I. Corominas[3], Mauricio Castro-Parodi[1], Alicia E. Damiano[1,2]

[1]Laboratorio de Biología de la Reproducción, Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires

[2]Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma de Chile, Chile

[3]Hospital Nacional Prof. Dr. Alejandro Posadas

E-mail: adamiano@ffyb.uba.ar

Resumen

La preeclampsia es una de las complicaciones más importantes del embarazo, y pese a ser una entidad frecuente, se desconoce aún su etiología. Actualmente se la considera un síndrome que tiene lugar en dos etapas. En la primera etapa, la reducción de la perfusión placentaria llevaría, en algunas, pero no en todas las mujeres, al desarrollo del síndrome multisistémico materno de la preeclampsia o segunda etapa. Sin embargo, el interrogante aún no resuelto es qué vincula ambas etapas.

Dado que la placenta ocupa un lugar central en este desorden, proponemos que las alteraciones en su función podrían contribuir al desarrollo de este síndrome. Una de las funciones primordiales de la placenta es promover el intercambio de solutos y agua entre la madre y el feto. Se sabe que el transporte transcelular de agua está facilitado por proteínas conocidas como acuaporinas (AQP). Numerosas evidencias muestran que estas proteínas no son meros canales de agua, sino que estarían implicadas en otros roles a nivel celular. Recientemente se informó que las AQP placentarias podrían intervenir en los procesos de apoptosis del trofoblasto. Si bien la apoptosis aumenta con el avance de la gestación, estaría exacerbada en placentas preeclámpticas.

Así, los cambios en la expresión y funcionalidad de las AQP placentarias podrían ser uno de los factores involucrados en el desencadenamiento de las manifestaciones clínicas de este desorden gestacional hipertensivo.

Palabras clave: placenta, sinciciotrofoblasto, acuaporinas, apoptosis, preeclampsia, hipoxia intermitente.

Abstract

Preeclampsia is one of the most important complications of pregnancy, and despite its high incidence, its etiology is still unknown. To date, it is considered a syndrome that occurs in two stages. In the first stage, the reduced placental perfusion, in some, but not in all women, could lead to the maternal multisystemic syndrome of preeclampsia known as second stage. However, what links both stages is not determined yet.

Since the placenta plays a central role in this disorder, we suggest that alterations in its function may contribute to the development of this syndrome. One of the main functions of the placenta is to promote the exchange of solutes and water between the mother and the fetus. It is well-known that transcellular water transport is facilitated by aquaporins (AQPs). Emerging evidence demonstrates that these proteins are more than just water channels. Recently, we reported that placental AQPs may be involved in the apoptosis of the trophoblast. Although, apoptosis has been reported to increase progressively throughout pregnancy, it is exacerbated in preeclamptic placentas.

Thus, changes in the expression and function of AQPs placental may be one of the crucial factors in triggering the clinical manifestations of this gestational hypertensive disorder.

Key words: *placenta, syncitiotrophoblast, aquaporins, apoptosis, preeclampsia, intermittent hypoxia.*

INTRODUCCIÓN

Una gestación exitosa se basa en el desarrollo de una placenta saludable que involucra un efectivo anclaje e invasión del trofoblasto. A principios del primer trimestre (<10 semanas de gestación), la tensión de O_2 placentario es muy baja (~2%, 25,6 mmHg O_2), y este ambiente de bajo O_2 mantiene las células trofoblásticas en un fenotipo inmaduro y proliferativo (1-4). Después de la semana 10 de gestación, con la remodelación de las arterias espiraladas, los valores de presión parcial de O_2 en el espacio intervelloso aumentan, reduciéndose el *pool* de células trofoblásticas en proliferación y aumentando el número de células trofoblásticas invasivas (4) conocidas como trofoblasto extravelloso (EVT). De esta manera, este cambio fenotípico le permite a las células trofoblásticas migrar desde los extremos de las vellosidades placentarias hacia el

tejido materno. En este proceso, el EVT debe secretar metaloproteasas como MMP-2, MMP-9 y MMP-12 que le confieren la capacidad de degradar elastina, colágeno y laminina, y le permiten invadir e integrarse en las paredes de las arterias espiraladas (5). Así, los procesos de migración, proliferación e invasión de las EVT están regulados por una compleja interacción de factores como citoquinas, factores de crecimiento, hormonas y concentración de O_2. Sin embargo, las alteraciones en estos procesos conducen a situaciones patológicas como la preeclampsia.

La preeclampsia es un trastorno exclusivo de la gestación humana, cuya incidencia es causante de una elevada morbimortalidad materna y fetal (6,7). Se presenta en todas las poblaciones con una incidencia general que varía entre el 5 y el 7%. Según una estimación de la OMS, la preeclampsia es responsable de más de 200.000 muertes maternas por año en el mundo y se asocia con un aumento de 20 veces en la mortalidad perinatal (7). En la Argentina, el 13,2% de la totalidad de embarazos patológicos corresponde a preeclampsia. De acuerdo con las cifras publicadas por el Ministerio de Salud en 2010, la enfermedad hipertensiva, junto con las hemorragias y las infecciones, constituyen las principales causas de morbimortalidad materna (8).

Además, la preeclampsia produce impacto a largo plazo no sólo por la morbilidad neonatal causada por los partos prematuros, sino también por el aumento del riesgo cardiovascular que tienen las madres e hijos que presentan o son producto de gestaciones complicadas con este síndrome (9-12).

A pesar de su importancia en términos de salud pública y de décadas de investigación, los mecanismos patogénicos que involucran su desarrollo y su progresión no están totalmente determinados. Se la define sólo por la presencia de síntomas clínicos; su diagnóstico es poco robusto y su predicción hasta el momento no es posible.

Muchos estudios señalan a la placenta como partícipe necesaria en la patogénesis de la preeclampsia, ya que la enfermedad por lo general se resuelve dentro de 24-48 horas después de su expulsión. Aunque aún no se conoce el rol exacto de la placenta en el desarrollo de este desorden gestacional, se sabe que la placentación defectuosa es una de las características principales de este síndrome (13).

La hipótesis actual sostiene que la preeclampsia es un desorden que puede ser considerado en dos etapas (14-16). En una primera etapa presenta una inadecuada perfusión placentaria resultante de la insuficiente invasión y diferenciación del trofoblasto y en la segunda, se desarrolla el síndrome materno (etapa sintomática) como consecuencia de la liberación de factores generados por la placenta sometida a condiciones de estrés oxidativo.

Sin embargo, en gestaciones que cursan con restricción del crecimiento intrauterino hay evidencias de que la reducida perfusión placentaria que conduce a una placentación defectuosa no es condición necesaria para desencadenar la enfermedad materna (15).

Este hecho lleva a preguntarnos, *¿cuál es la vinculación entre la reducción de la perfusión placentaria y el síndrome materno?*

Se ha propuesto al estrés oxidativo, generado por la hipoxia intermitente, como un componente crucial en la vinculación entre ambas etapas (15) ya que estimularía la liberación de "toxinas", como citoquinas, factores antiangiogénicos, micropartículas, etc., que posiblemente inducirían los efectos sistémicos observados en preeclampsia.

Por otra parte, si aceptamos que la placenta es donde se origina la enfermedad, *¿sería en esta placenta mal perfundida donde deberíamos buscar la evidencia de los cambios patológicos que podrían contribuir al desarrollo de este síndrome?*

ACUAPORINAS PLACENTARIAS

Una de las funciones primordiales de la placenta es promover el transporte selectivo de nutrientes entre la madre y el feto. Esta función depende exclusivamente de la exitosa formación y expansión del sinciciotrofoblasto, que controla los movimientos transcelulares de agua y solutos, mantiene la homeostasis y asegura el normal crecimiento fetal.

En lo que se refiere al flujo de agua, los requerimientos fetales aumentan con el avance de la gestación (17,18). En la mayoría de los tejidos el transporte transcelular de agua está mediado por las AQP (19,20). Estas proteínas aumentan entre 5 a 50 veces la permeabilidad al agua. En mamíferos se han identificado 13 isoformas de AQP que se encuentran distribuidas en una gran variedad de órganos y tejidos (21).

Según su estructura y función se las clasifica en 3 subgrupos:

1. **AQP clásicas:** comprenden las AQP0, 1, 2, 4, 5, 6, y 8. Presentan selectividad solo al agua. Dada su estructura molecular se incluyen en este subgrupo la AQP6, que además de agua, es permeable a aniones, y la AQP8 que permite también el pasaje de urea (22,23).
2. **Acuagliceroporinas:** pertenecen a este subgrupo las AQP3, 7, 9 y 10. Son permeables al agua, urea y glicerol. La AQP9 facilita además el flujo de solutos neutros como monocarboxilatos, purinas y pirimidinas (24,25).
3. **Superacuaporinas:** aquí se incluyen las AQP11 y 12. Estas proteínas se localizan en el citoplasma y posiblemente estarían involucradas en la regulación

del transporte intracelular de agua, en la regulación del volumen de organelas y en la homeostasis intravesicular (26).

En 2001, fuimos los primeros en identificar la expresión de AQP en sinciciotrofoblasto humano (27). Desde entonces, 5 AQP [AQP1, 3, 4, 8 y 9] se encontraron en placenta humana. Sin embargo, su función es aún desconocida (28).

Informamos la presencia de AQP3 y AQP9 en la membrana apical del sinciciotrofoblasto y postulamos que estas proteínas podrían participar no solo en el transporte de agua entre la madre y el feto, sino también en el movimiento rápido de solutos a través de las membranas celulares, con mínima perturbación osmótica (27). Utilizando un modelo in vitro de cultivo de explantos, demostramos que en placenta humana normal la incorporación de agua, urea y manitol estaba mediada por estas acuagliceroporinas (29).

Posteriormente, en experimentos realizados en placentas preeclámpticas, observamos que la expresión molecular de AQP9 aumentó y se localizó no solo en la membrana apical, sino también en la membrana basal y en el citoplasma del sinciciotrofoblasto (29). Contrariamente a lo esperado, la incorporación de agua disminuyó significativamente y no fue sensible a $HgCl_2$, un inhibidor no selectivo de las AQP. Es decir, que a pesar del aumento de la expresión molecular de AQP9, el transporte de agua en placentas preeclámpticas no estaría facilitado por las AQP. Este resultado, sumado a que no existen evidencias que asocien a la preeclampsia con alteraciones en el flujo de agua entre la madre y el feto, nos llevó a plantearnos *¿cuál es el rol de las AQP en la preeclampsia?*

ACUAPORINAS Y PREECLAMPSIA

Muchos autores han informado que las AQP no sólo están involucradas en procesos fisiológicos, sino también en múltiples y diversas disfunciones clínicas (30).

Si bien se ha llamado a la preeclampsia como el desorden de las múltiples teorías ya que ninguna de ellas ha logrado explicar en su totalidad su etiología, muchos autores coinciden en que la perfusión intermitente de la placenta, secundaria a la deficiente invasión del trofoblasto, produciría un daño de tipo isquemia/reperfusión sobre el sinciciotrofoblasto. Esta idea conduce al concepto de que las fluctuaciones en la concentración de O_2 podrían desencadenar las alteraciones observadas en estas placentas. La lesión producida por isquemia/reperfusión es causada principalmente por la generación de especies reactivas del oxígeno (ROS) y del nitrógeno (RNS), que causarían un daño indiscriminado sobre los lípidos, las proteínas y el ADN (31,32). En el caso de la placenta, estos daños conducirían a una función placentaria alterada por la modificación covalente de la estructura y función de las proteínas, como así también a un aumento en la velocidad de apoptosis del sinciciotrofoblasto, que desencadenaría el cuadro clínico (33).

Recientemente demostramos que la hipoxia/reoxigenación modularía positivamente la expresión de AQP9 (34). Sin embargo, al igual que lo que ocurre en placentas preeclámpticas cuando estudiamos el transporte de agua en estas condiciones experimentales, nuestros resultados mostraron que la AQP9 no era funcional. No obstante, observamos ante otros estímulos como un aumento de la hormona hCG, o del AMPc, que el aumento de la expresión de AQP9 se correlaciona con un aumento en el transporte de agua (35).

Numerosas evidencias involucran a las AQP en los procesos de apoptosis o muerte celular programada, específicamente en la reducción del volumen celular (36-38). Sin embargo, los mecanismos que desencadenan estos cambios en el volumen celular permanecen sin esclarecerse. La salida del agua del interior de la célula durante la apoptosis es similar a lo que ocurre en las células sometidas a estrés hipertónico. Durante el estrés hipertónico las células rápidamente se contraen y al mismo tiempo comienzan los mecanismos de recuperación del volumen intracelular, con la salida de iones K^+. Sin embargo, las células apoptóticas son incapaces de activar estos mecanismos. Si bien las causas no se conocen, se cree que las AQP de membrana estarían inactivas cerrando así el paso para la entrada de agua y la siguiente recuperación del volumen intracelular.

En embarazos normales, la muerte celular programada es un proceso fisiológico que aumenta progresivamente a medida que avanza la gestación. Se ha propuesto que este proceso jugaría un papel esencial en la diferenciación, la sincialización y la degeneración del trofoblasto velloso (39,40). Por otra parte, en preeclampsia, algunos autores han observado un incremento exacerbado de la apoptosis del trofoblasto (41,42). Aunque aún se desconocen las causas exactas de este aumento, se sugiere que la hipoxia intermitente podría ser la responsable de estos eventos (43,44).

Ante estas evidencias, nos preguntamos: *¿Podrían las AQP placentarias participar en los procesos de apoptosis del trofoblasto? ¿La desregulación de estas proteínas podría ser una de las causas del aumento de la apoptosis observado en placentas preeclámpticas?*

En la búsqueda de resolver estos interrogantes, evaluamos el papel de las AQP placentarias en los procesos de apoptosis. Nuestros hallazgos en explantos de placentas normales a término expuestos a diferentes tensiones de O_2, mostraron que tanto la hipoxia como la hipoxia/reoxigenación aumentaron todos los índices apoptóticos. Sin embargo, luego del bloqueo general de

las AQP, el número de núcleos apoptóticos se redujo significativamente, la expresión de la proteína proapoptótica Bax disminuyó, se inhibió la degradación del ADN, y disminuyó significativamente la actividad de caspasa-3 (45,46).

Los experimentos funcionales mostraron que luego de la inducción de la apoptosis, las AQP estaban inactivas, al igual que lo que observamos previamente en placentas preeclámpticas (29,34). La inactivación de las AQP después de la reducción del volumen celular sería crucial y necesaria para mantener la baja concentración de K^+, que conducirá finalmente a la activación de las enzimas apoptóticas como las caspasas y nucleasas (38).

Estos resultados nos sugieren que las AQP podrían participar en la muerte celular programada, ya que su bloqueo evitaría el inicio de la reducción del volumen celular y la sucesiva cascada de eventos apoptóticos. Sin embargo, se requerirán más estudios para determinar qué isoforma de AQP está directamente involucrada en estos procesos.

CONCLUSIONES

Aunque la etiología de la preeclampsia es aún un enigma, la reducción de la perfusión placentaria (etapa 1) llevaría, en algunas, pero no en todas las mujeres, al desarrollo del síndrome multisistémico materno (etapa 2). A pesar de que la placenta ocupa un lugar central en esta patología, el interrogante aún no resuelto es qué vincula ambas etapas.

Recientemente informamos que las AQP podrían estar involucradas en los procesos de apoptosis del trofoblasto. Si bien la apoptosis aumenta con el avance de la gestación, estaría exacerbada en preeclampsia, aumentando la liberación de factores generados por la placenta.

De esta manera, la desregulación de las AQP placentarias, como consecuencia de la hipoxia intermitente generada por alteraciones en la formación de la placenta, podría ser unos de los factores que contribuyen al aumento del estrés oxidativo y de la apoptosis del trofoblasto en placentas preeclámpticas. Tanto la apoptosis como el estrés oxidativo estimularían la liberación de citoquinas, factores antiangiogénicos, micropartículas, ROS, RNS, etc., que finalmente conducirían a la disfunción endotelial generalizada, característica de este síndrome multisistémico materno (**FIGURA 1**).

Referencias

1. Rodesch F, Simon P, Donner C, Jauniaux E. Oxygen measurements in endometrial and trophoblastic tissues during early pregnancy. Obstet Gynecol. 1992;80:283-5.
2. Jauniaux E, Watson A, Burton G. Evaluation of respiratory gases and acid-base gradients in human fetal fluids and uteroplacental tissue between 7 and 16 weeks' gestation. Am J Obstet Gynecol. 2001;184:998-1003.
3. Caniggia I, Mostachfi H, Winter J, Gassmann M, Lye SJ, Kuliszewski M, Post M. Hypoxia inducible factor-1 mediates the biological effects of oxygen on human trophoblast differentiation through TGFbeta(3). J Clin Invest. 2000;105:577-87.
4. Caniggia I, Grisaru-Gravnosky S, Kuliszewsky M, Post M, Lye SJ. Inhibition of TGF-beta 3 resto-

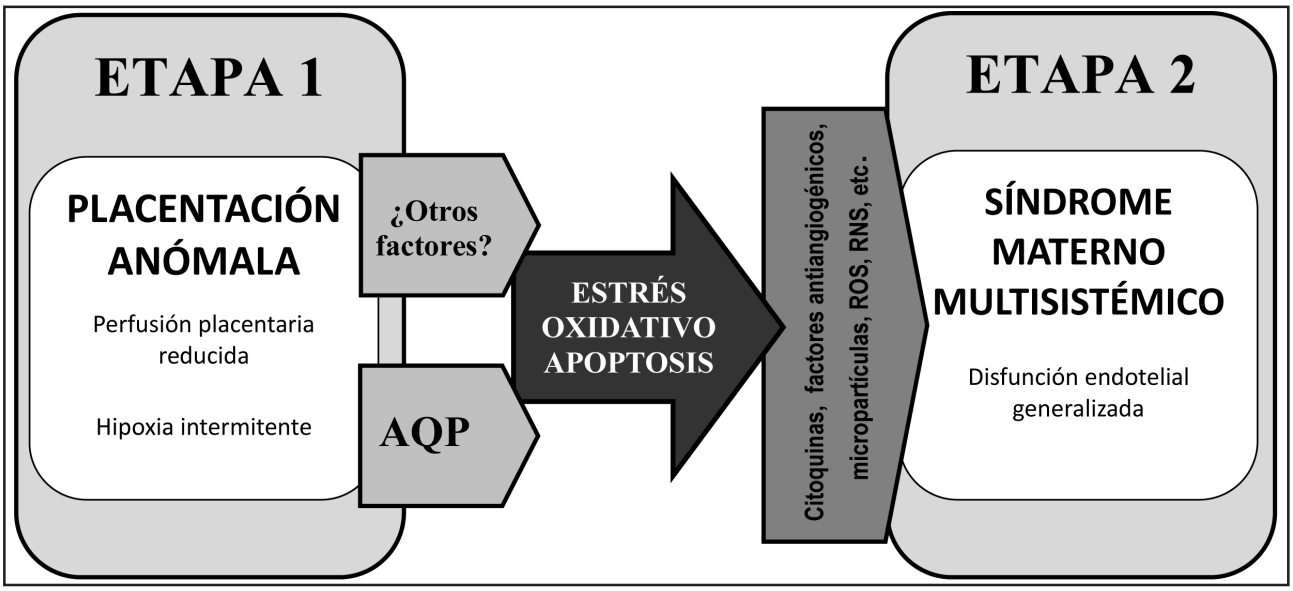


FIGURA 1. Modelo de dos etapas de la fisiopatología de la preeclampsia: posible rol de las AQP placentarias (modificado y adaptado de Roberts JM y cols.[15]).

res the invasive capability of extravillous trophoblasts in preeclamptic pregnancies. J Clin Invest. 1999;103:1641-50.
5. Espinoza J, Romero R, Mee Kim Y, Kusanovic JP, Hassan S, Erez O, Gotsch F, Than NG, Papp Z, Jai Kim C. Normal and abnormal transformation of the spiral arteries during pregnancy. J Perinat Med. 2006;34:447-58
6. Duley L. The global impact of pre-eclampsia and eclampsia. Semin Perinatol. 2009;33:130-7.
7. Khan KS, Wojdyla D, Say L, et al. WHO analysis of causes of maternal death: a systematic review. Lancet. 2006;367:1066-74.
8. Guía para el diagnóstico y tratamiento de la hipertensión en el embarazo. Dirección Nacional de Maternidad e Infancia Ministerio de Salud de la Nación, 2010.
9. Friedman SA, Schiff E, Kao L, Sibai BM. Neonatal outcome after preterm delivery for preeclampsia. Am J Obstet Gynecol. 1995;172:1785-8.
10. Flóres-Nava G, Lino-Araujo M, López-Padilla M. Morbilidad y mortalidad en neonatos de madres con preeclampsia severa. Rev Méx Pediatr. 2002;69:14-8.
11. Brown MC, Best KE, Pearce MS, Waugh J, Robson SC, Bell R. Cardiovascular disease risk in women with pre-eclampsia: systematic review and meta-analysis. Eur J Epidemiol. 2013;28:1-19.
12. Chen CW, Jaffe IZ, Karumanchi SA. Pre-eclampsia and cardiovascular disease. Cardiovasc Res. 2014 Mar 15;101:579-86.
13. Roberts JM, Escudero C. The placenta in preeclampsia. Pregnancy Hypertens. 2012;2:72-83.
14. Tannetta D, Sargent I. Placental disease and the maternal syndrome of preeclampsia: missing links? Curr Hypertens Rep. 2013;15:590-9.
15. Roberts JM, Hubel CA. The two stage model of preeclampsia: variations on the theme. Placenta. 2009;30 Suppl A:S32-7.
16. Redman CW, Sargent IL, Staff AC. IFPA Senior Award Lecture: making sense of pre-eclampsia - two placental causes of preeclampsia? Placenta. 2014;35 Suppl:S20-5.
17. Jansson T, Illsley NP. Osmotic water permeabilities of human placental microvillous and basal membranes. J Membr Biol. 1993;32:147-55.
18. Jansson T, Powell TL, Illsley NP. Non-electrolyte solute permeabilities of human placental microvillous and basal membranes. J Physiol. 1993;468:261-74.
19. Agre P, Bonhivers M, Bornia MJ. The aquaporins, bruprints for cellular plumbing systems. J Biol Chem. 1998;273:14659-62.
20. Carbrey JM, Agre P. Discovery of the aquaporins and development of the field. Handb Exp Pharmacol. 2009;190:3-28.
21. Gonen T, Walz T. The structure of aquaporins. Q Rev Biophys. 2006;39(4):361-96.
22. Yasui M, Hazama A, Kwon TH, Nielsen S, Guggino WB, Agre P. Rapid gating and anion permeability of an intracellular aquaporin. Nature. 1999;402:184-7.
23. Ishibashi K, Kuwahara M, Kageyama Y, Tohsaka A, Marumo F, Sasaki S. Cloning and functional expression of a second new aquaporin abundantly expressed in testis. Biochem Biophys Res Commun. 1997;237:714-8.
24. Tsukaguchi H, Shayakul C, Berger UV, Mackenzie B, Devidas S, Guggino WB, et al. Molecular characterization of a broad selectivity neutral solute channel. J Biol Chem. 1998;273:24737-43.
25. Ishibashi K, Kuwahara M, Gu Y, Tanaka Y, Marumo F, Sasaki S. Cloning and functional expression of a new aquaporin (AQP9) abundantly expressed in the peripheral leukocytes permeable to water and urea, but not to glycerol. Biochem Biophys Res Commun. 1998;244:268-74.
26. Ishibashi K. New members of mammalian aquaporins: AQP11-AQP12. Handb Exp Pharmacol. 2009;190:251-62.
27. Damiano AE, Zotta E, Goldstein J, Reisin I, Ibarra C. Water channel proteins AQP3 and AQP9 are present in syncytiotrophoblast of human term placenta. Placenta. 2001;22:776-81.
28. Damiano AE. Review: Water channel proteins in the human placenta and fetal membranes. Placenta. 2011;32 Suppl 2:S207-11.
29. Damiano AE, Zotta E, Ibarra C. Functional and molecular expression Of AQP9 channel and UT-A transporter in normal and preeclamptic human placentas. Placenta. 2006;27:1073-81.
30. Verkman AS. Aquaporins at a glance. J Cell Sci. 2011;124(Pt 13):2107-12.
31. Myatt L. Review: Reactive oxygen and nitrogen species and functional adaptation of the placenta. Placenta. 2010;31 Suppl:S66-981.
32. Webster RP, Roberts VH, Myatt L. Protein nitration in placenta - functional significance. Placenta. 2008;29:985-94.
33. Myatt L. Role of placenta in preeclampsia. Endocrine. 2002;19:103-111.
34. Castro-Parodi M, Szpilbarg N, Dietrich V, Sordelli M, Reca A, Abán C, Maskin B, Farina MG, Damiano AE. Oxygen tension modulates AQP9 expression in human placenta. Placenta. 2013;34:690-8.
35. Marino GI, Castro-Parodi M, Dietrich V, Damiano

AE. High levels of human chorionic gonadotropin (hCG) correlate with increased aquaporin-9 (AQP9) expression in explants from human preeclamptic placenta. Reprod Sci. 2010;17:444-53.
36. Chen JM, Sepramaniam S, Armugam A, Shyan Choy M, Manikandan J, Melendez AJ, Jeyaseelan K, Sang Cheung N. Water and ion channels: crucial in the initiation and progression of apoptosis in central nervous system? Curr Neuropharmacol. 2008;6:102-16.
37. Jablonski E, Webb A, Hughes FM Jr. Water movement during apoptosis: a role for aquaporins in the apoptotic volume decrease (AVD). Adv Exp Med Biol. 2004;559:179-88.
38. Jablonski E, Webb A, McConnell N, Riley MC, Hughes FM Jr. Plasma membrane aquaporin activity can affect the rate of apoptosis but is inhibited after apoptotic volume decrease. Am J Physiol Cell Physiol. 2004;286:C975-85.
39. Leung DN, Smith SC, To KF, Sahota DS, Baker PN. Increased placental apoptosis in pregnancies complicated by preeclampsia. Am J Obstet Gynecol. 2001;184:1249-50.
40. Allaire AD, Ballenger KA, Wells SR, McMahon MJ, Lessey BA. Placental apoptosis in preeclampsia. Obstet Gynecol. 2000;96:271-6.
41. Redman CW, Sargent IL Placental debris, oxidative stress and pre-eclampsia. Placenta. 2000;21:597-602.
42. Roberts JM, Bell MJ. If we know so much about preeclampsia, why haven't we cured the disease? J Reprod Immunol. 2013;99:1-9.
43. Hung TH, Skepper JN, Charnock-Jones DS, Burton GJ. Hypoxia-reoxygenation: a potent inducer of apoptotic changes in the human placenta and possible etiological factor in preeclampsia. Circ Res. 2002;90:1274-81.
44. Hung TH, Burton GJ. Hypoxia and reoxygenation: a possible mechanism for placental oxidative stress in preeclampsia. Taiwan J Obstet Gynecol. 2006;45:189-200.
45. Szpilbarg N, Dietrich, V, Castro-Parodi M, Zotta E, Farina M, Damiano AE. Hypoxia/reoxygenation may alter the expression of aquaglyceroporins in human placenta. Their role in apoptosis. [Abstract no.P176]. International Federation of Placenta Associations Meeting 2011. Placenta. 2011;32:A50.
46. Szpilbarg N, Reca A, Dietrich V, Repetto M, Maskin B, Jaime M, Castro-Parodi M, Damiano AE. Possible role of placental aquaporins in apoptotic processes during preeclampsia. [Abstract no.WS10]. V Latin American Symposium on Maternal-Fetal Interaction & Placenta. Placenta. 2013;34:A30.

SAEGRE

CURSO DE ESPECIALIZACIÓN EN ENDOCRINOLOGÍA GINECOLÓGICA Y REPRODUCTIVA

CURSOS 2015

NOA, CÓRDOBA, ROSARIO, BAHÍA BLANCA, BUENOS AIRES

Tratamiento de la osteoporosis

Treatment of osteoporosis

Valeria Pastorino Casas; Carlos A. Díaz

Sección Osteopatías Médicas, Servicio de Endocrinología, Complejo Médico Churruca Visca Buenos Aires, Argentina
E-mail: endochurruca@hotmail.com

Resumen

La osteoporosis es un trastorno esquelético caracterizado por compromiso de la fuerza ósea, baja masa ósea y deterioro de la microarquitectura, que conduce a un incremento de la fragilidad ósea con un mayor riesgo de fracturas. Es una patología con elevada prevalencia y morbimortalidad. Dentro de la terapéutica actual se incluyen las medidas higiénico-dietéticas y el tratamiento farmacológico específico. Existen fármacos con acción antirresortiva (bifosfonatos, tratamiento hormonal de reemplazo, raloxifeno, calcitonina y denosumab), acción anabólica (teriparatida) y acción mixta (ranelato de estroncio). Es importante su conocimiento detallado para una correcta elección terapéutica.

Palabras clave: osteoporosis, tratamiento, fracturas, densidad mineral ósea.

Abstract

Osteoporosis is a skeletical disorder characterized by bone strength alteration and microarchitecture deterioration that leads to an increase in bone fragility and higher risk of fractures. This disease has got high prevalence, morbidity and mortality. Therapeutic options include life style measures and specific pharmacological treatment. There are drugs with antiresorptive action, such as bisphosphonates, hormone replacement therapy, raloxifene, calcitonin, and denosumab. Other drugs, such as teriparatide, have anabolic action, and others, strontium ranelate, have got both. It is important to know and understand the different drugs in order to choose the correct treatment.

Key words: *osteoporosis, treatment, fractures, bone mineral density.*

Introducción

La osteoporosis es un trastorno esquelético caracterizado por compromiso de la fuerza ósea, baja masa ósea y deterioro de la microarquitectura, con la consiguiente reducción en la resistencia ósea, incremento de la fragilidad ósea y aumento del riesgo de fracturas (1). Afecta a más de 200 millones de personas en el mundo y posee elevada morbimortalidad, ocasionando elevados gastos en los sistemas de salud (2).

Existen en la actualidad una amplia variedad de fármacos para el tratamiento de la osteoporosis con diferentes mecanismos de acción, efectividad, efectos adversos y costos, lo que, en ocasiones, dificulta la toma de decisiones. Dentro de la terapéutica actual se incluyen la terapia farmacológica específica y las medidas higiénico-dietéticas tales como la realización de actividad física y un adecuado aporte de calcio y vitamina D a través de la dieta, exposición solar o suplementos dietarios. El tratamiento farmacológico de la osteoporosis tiene por objetivo primario reducir la incidencia de las fracturas osteoporóticas y secundariamente, actuar sobre la densidad mineral ósea (DMO) y los marcadores de remodelado óseo. En cuanto a los fármacos específicos, se encuentran aquellos con acción antirresortiva, con acción anabólica y con acción mixta (**TABLA I**) que se detallarán a continuación.

Fármacos con acción antirresortiva

Bifosfonatos

Los bifosfonatos son análogos del pirofosfato, que en su estructura molecular poseen dos cadenas laterales (R1 y R2) unidas a un átomo de carbono. La

Fármacos con acción antirresortiva	Fármacos con acción anabólica	Fármacos con acción mixta
Bifosfonatos	Teriparatida	Ranelato de estroncio
Tratamiento hormonal de reemplazo		
Raloxifeno		
Calcitonina		
Denosumab		

TABLA I. Clasificación de los fármacos según su acción en el hueso.

R1 determina la afinidad de unión del compuesto, en tanto la R2 marca la potencia antirresortiva. Las modificaciones de esas cadenas determinan los distintos tipos de bifosfonatos (3).

Los bifosfonatos nitrogenados, que se utilizan actualmente, inhiben la farnesil-pirofosfatasa (enzima de la vía HMG-CoA reductasa). La inhibición de esta enzima interfiere con la prenilación de las proteínas que unen al GTP en el ribete en cepillo de los osteoclastos e interrumpe la unión de estos a la superficie ósea, lo que disminuye la resorción y produce apoptosis acelerada (3).

En condiciones ideales, se absorbe menos del 1% de la dosis administrada por vía oral y la presencia de alimentos, especialmente calcio, hierro, jugo de naranjas y café, pueden bloquear completamente la absorción del bifosfonato (4). Por lo tanto, estos fármacos deben ingerirse con un vaso de agua, 30 a 60 minutos antes del desayuno y el paciente no debe acostarse luego de su ingesta para evitar la esofagitis por reflujo gastroesofágico. La vida media circulante es corta. El 50% de la dosis absorbida se une con avidez a la superficie ósea, especialmente en los sitios activos de remodelación. El resto se excreta rápidamente por los riñones (4).

En mujeres posmenopáusicas reducen significativamente la aparición de fracturas vertebrales; aún persisten algunas discrepancias relativas a sus efectos en la prevención de las fracturas no vertebrales (2).

El **alendronato** administrado en dosis de 10 mg diarios o 70 mg semanales, durante 3 años, redujo la incidencia de fracturas vertebrales, de cadera y de muñeca en alrededor del 50% en pacientes con una fractura vertebral previa (5). También redujo en el 48% la incidencia de fracturas vertebrales en 4 años en pacientes sin fracturas vertebrales previas (6). La reducción del riesgo de fracturas no vertebrales en pacientes sin fractura previa se ha estimado en el 30% (7).

El **risedronato** se administra en dosis de 5 mg diarios, 35 mg semanales o 150 mg mensuales. Utilizado durante 3 años, redujo en el 49% la incidencia de fracturas vertebrales y en el 33% la de fracturas no vertebrales, en pacientes con una fractura vertebral previa (8). También disminuyó en el 40% el riesgo de fractura de cadera en mujeres de entre 70 y 79 años (9).

El **ibandronato** se administra en dosis de 2,5 mg diarios o 150 mg mensuales por vía oral o 3 mg trimestrales, en inyección intravenosa sin diluir. Redujo la incidencia de fracturas vertebrales en el 50% en 3 años (10). También disminuyó la incidencia de fracturas no vertebrales en el 69% en pacientes con *T-score* inferior a -3 en cuello femoral (10). La administración de 3 mg de ibandronato intravenoso cada 3 meses mostró mayor respuesta sobre la DMO y los marcadores del recambio óseo que la dosis oral diaria de 2,5 mg (11). La reducción en el riesgo de fractura femoral no ha sido aún documentada con este fármaco.

El **ácido zoledrónico** es el más potente de los bifosfonatos. Se administra en dosis de 5 mg en infusión intravenosa, en no menos de quince minutos, una vez por año. Ha demostrado que luego de 3 años disminuye en el 70% la incidencia de fracturas vertebrales, en el 41% la de fracturas de cadera y en el 25% la de fracturas no vertebrales (12).

Uno de los efectos adversos más comunes observados con los bifosfonatos que se administran por vía oral es la intolerancia gastrointestinal (10%) (epigastralgia, gastritis, reflujo gastroesofágico, duodenitis), que lleva frecuentemente a la discontinuación del tratamiento (2). Por lo tanto, la vía oral debería evitarse en pacientes con enfermedad por reflujo gastroesofágico, esófago de Barret o alteración en la motilidad esofágica.

El uso de bifosfonatos también puede producir hipocalcemia, por lo que antes de su administración es importante que los niveles de calcio y vitamina D sean adecuados (4). En menos del 1% puede producirse inflamación ocular (uveitis, iritis, conjuntivitis) (2).

Alrededor del 30% de los pacientes pueden presentar una reacción de fase aguda (fiebre, mialgia, leucopenia) entre las 24 y 72 horas posteriores a la primera administración de cualquier bifosfonato intravenoso. Generalmente este cuadro se resuelve en tres días y raramente se repite en las siguientes aplicaciones del fármaco (2,4).

Los bifosfonatos se eliminan por vía renal y pueden generar toxicidad a este nivel, motivo por el cual, se encuentran contraindicados en aquellos pacientes con un filtrado glomerular menor a 30-35 ml/minuto (2,13).

La osteonecrosis de mandíbula es un efecto adverso muy raro. Es poco frecuente en mujeres posmenopáusicas con osteoporosis tratadas con bifosfonatos por vía oral o intravenosa; es más común en pacientes oncológicos que reciben frecuentes infusiones intravenosas de bifosfonatos potentes (13). La fisiopatogenia de este cuadro es aún desconocida pero se han identificado probables factores de riesgo locales (pobre higiene bucal, extracción dentaria, enfermedad periodontal, traumatismo local e implantes dentarios), sistémicos (cáncer, diabetes, tabaquismo, obesidad, malnutrición) y relacionados con drogas (corticoides, quimioterapia, uso de bifosfonatos intravenosos por tiempo prolongado) (14). Por lo tanto, se recomienda realizar un control odontológico previo al inicio del tratamiento con bifosfonatos, mantener una adecuada higiene bucal y limitar los procedimientos orales invasivos.

En los últimos años se ha reportado un aumento en la prevalencia de las fracturas atípicas femorales (subtrocantéricas y diafisarias) o de pelvis y sacro en pa-

cientes tratados con bifosfonatos por tiempos prolongados (15). Estos fármacos se incorporan al hueso y permanecen por muchos años, con lo cual existe el riesgo de inducir de modo crónico un freno intenso del remoldelado óseo ("hueso adinámico") que llevaría a fracturas atípicas y retardo en la consolidación (16). La acción beneficiosa de los bifosfonatos persiste aun después de haber sido suspendidos luego de 3 a 6 años de tratamiento continuo (17). Por lo tanto, se recomienda utilizar estas drogas por un período máximo de 5 años. Si el riesgo de fractura aún es alto se podría mantener el bifosfonato previamente usado hasta los 10 años, pero con un esquema de administración intermitente, o indicar otro tipo de fármacos (4,16).

Terapia de reemplazo hormonal (TRH)

En el estudio WHI (*Women's Health Initiative*) el tratamiento combinado de estrógenos equinos conjugados con acetato de medroxiprogesterona redujo las fracturas clínicas vertebrales en el 35% y las de cadera, en el 33% (18). El tratamiento con estrógenos solos (histerectomizadas) redujo las fracturas vertebrales clínicas en el 36% y las de cadera, en el 35% (19). Debido a los efectos adversos del uso de la TRH no se recomienda como tratamiento específico para la osteoporosis, incluso en aquellas mujeres con alto riesgo de fracturas.

Raloxifeno

Único modulador selectivo del receptor estrogénico (SERM) aprobado para la prevención y el tratamiento de osteoporosis posmenopáusica. Redujo el riesgo de fracturas vertebrales en el 30% en pacientes con una fractura vertebral previa, y en el 55% en pacientes sin ese antecedente (20). En aquellos pacientes con severas fracturas vertebrales disminuyó en el 47% el riesgo de fracturas no vertebrales (21). Debido a sus reacciones adversas cardiovasculares, su utilización es infrecuente y podría ser tenido en cuenta en mujeres posmenopáusicas con osteoporosis y riesgo de cáncer de mama elevado (13).

Calcitonina

Inhibe la resorción ósea por acción directa sobre los osteoclastos. Sólo reduce el riesgo de fracturas vertebrales y posee efecto analgésico al aumentar las β-endorfinas, por lo que actualmente se la utiliza en el tratamiento de las fracturas vertebrales agudas (22). El uso prolongado de calcitonina puede determinar un fenómeno de escape, probablemente por el desarrollo de anticuerpos o *down-regulation* de sus receptores.

Denosumab

Este fármaco de reciente aparición para el tratamiento de la osteoporosis es un anticuerpo monoclonal humano (IgG2) que se une con gran afinidad y especificidad al RANK-ligando, impidiendo su unión al receptor RANK en la superficie de los osteoclastos y en sus precursores. De esta forma, se inhibe la formación, función y supervivencia de estas células, lo que a su vez provoca la disminución de la resorción ósea en el hueso trabecular y cortical (23).

Puede utilizarse en mujeres con osteoporosis que previamente hayan recibido o no otros tratamientos. Con una dosis de 60 mg subcutánea cada 6 meses durante tres años se observó una disminución de fracturas vertebrales en el 68%, de fracturas no vertebrales en el 20% y de fracturas de cadera en el 40% (24). El denosumab también mostró un aumento mayor en la DMO de cadera total y columna lumbar a los 12 meses de tratamiento con respecto al alendronato (25), ibandronato (26) y risedronato (27).

A diferencia de los bifosfonatos, no se incorpora a la matriz ósea, por lo tanto, la interrupción del denosumab se ha asociado con un aumento transitorio en el remodelado óseo y con una disminución de la DMO. Sin embargo, se observó que no hay un aumento del riesgo de fracturas después de la interrupción del tratamiento hasta los 24 meses (28).

Presenta como ventaja que no requiere ajustes de dosis en pacientes con alteración renal. Los efectos adversos más frecuentes son la hipocalcemia, las infecciones cutáneas que requirieron hospitalización (celulitis) y el *rash* cutáneo. Más raramente produce osteonecrosis de mandíbula y fractura femoral atípica (24). La vigilancia sobre denosumab está orientada también a otras áreas como infecciones, cáncer, inmunidad, dados sus efectos pleiotrópicos por interferir la vía de señalización RANK/RANK ligando/osteoprotegerina que regula numerosos procesos biológicos (29).

Fármaco con acción anabólica

Teriparatida

La teriparatida está constituida por los primeros 34 aminoácidos de la molécula de PTH humana, obtenidos por técnica de ADN recombinante. Esta hormona tiene efecto anabólico en el hueso cuando es administrada exógenamente en forma intermitente (30). La aplicación de 20 µg/día de forma subcutánea por 21 meses redujo la incidencia de fracturas vertebrales en el 65% y la de fracturas no vertebrales en el 53%, pero no pudo demostrarse la disminución de la incidencia de las fracturas de cadera (31).

En Europa y los EE.UU. está aprobada para su uso por un máximo de 2 años, mientras que en la Argentina puede indicarse hasta los 18 meses (2). Debido a su costo elevado, se restringe su uso al tratamiento de los pacientes con más de una fractura por fragilidad y DMO

con *T-score* inferior a -3,5, presencia de múltiples aplastamientos vertebrales, así como también en aquellos pacientes con nuevas fracturas luego de dos años o más bajo tratamiento con bifosfonato (30). Cuando se interrumpe el tratamiento con teriparatida, la pérdida ósea puede ser rápida, por lo que usualmente se continúa con un agente antirresortivo, generalmente un bifosfonato, para mantener o aumentar aún más la DMO (13,32).

Los efectos adversos observados con este fármaco fueron: mareos (9%), náuseas (8%), cefalea (8%), calambres (3%), hipercalcemia (11%) (en algunos casos con hipercalciuria) e hiperuricemia (3%) (31). La teriparatida se encuentra contraindicada en pacientes con riesgo aumentado de osteosarcoma (enfermedad de Paget, antecedente de radioterapia ósea, adolescentes con epífisis no cerrada), presencia de metástasis óseas, hiperparatiroidismo, hipercalcemia, aumento inexplicable de la fosfatasa alcalina ósea y en aquellos pacientes con historia de cáncer en los últimos 5 años. Esto último se debe a que existen receptores de PTH y del péptido relacionados con la PTH en diversos tejidos epiteliales y endoteliales, así como también en algunos tumores sólidos como los de mama y riñón, y existiría la posibilidad teórica de que la PTH indujera la aparición de cánceres no óseos (30). El uso de este fármaco también debería evitarse en pacientes con antecedente de litiasis renal y/o gota (30).

Fármaco con acción mixta (antirresortiva y anabólica)
Ranelato de estroncio

El ranelato de estroncio es una sal formada por dos moléculas de estroncio estable y una de ácido ranélico. El ácido ranélico es un transportador, mientras que el estroncio es el componente activo con gran afinidad por el hueso. Actúa aumentando la formación y disminuyendo la resorción, de esta manera establece un desacople del remodelado a favor de la formación (33). In vitro, actúa como agonista del receptor sensor de calcio (CaSR) de los osteoblastos promoviendo su replicación y diferenciación y reduce la expresión de RANK-ligando y aumenta la osteoprotegerina, con lo cual disminuye la osteoclastogénesis y la actividad de los osteoclastos (34). El ranelato de estroncio aumenta significativamente los marcadores de formación ósea y disminuye los de resorción a los 3 meses de iniciado el tratamiento (35).

A corto plazo, el estroncio se adsorbe sobre los cristales de hidroxiapatita en el hueso de reciente formación y, a largo plazo, se intercambia con el calcio y permanece unido al esqueleto. La acumulación de estroncio en el tejido óseo es progresiva hasta alcanzar un máximo al tercer año de tratamiento (36). A los 3 meses de suspender la droga, se producen modificaciones en los marcadores bioquímicos del metabolismo óseo que sugieren que este fármaco es eliminado rápidamente del hueso (33).

La dosis de ranelato de estroncio es de 2 g administrados una vez por día en una suspensión oral. La biodisponibilidad es del 25% y disminuye el 60-70% si conjuntamente se ingieren lácteos u otros alimentos, por lo cual se recomienda tomarlo 2 horas luego de la cena (33). El 50% de la droga se elimina por vía renal, por lo que no se recomienda su uso en pacientes con *clearance* de creatinina menor a 30 ml/minuto.

Este fármaco ha demostrado disminuir el riesgo de nuevas fracturas vertebrales en el 41% (35), no vertebrales en el 16% (37) y de cadera en el 36% (en mujeres mayores de 74 años con *T-score* inferior a -3) (37) luego de 3 años de tratamiento. También fue efectivo para aumentar la DMO de raquis lumbar (12,7%), cuello femoral (7,2%) y fémur total (8,6%) en pacientes con osteoporosis menopáusica (35,37). El incremento de la DMO es menos marcado en los pacientes que previamente recibieron bifosfonatos, por lo que sería conveniente un período libre de bifosfonatos de aproximadamente 6 meses antes de iniciar el ranelato de estroncio (38). Es importante tener en cuenta que el estroncio es un catión divalente físicamente similar al calcio, pero con un mayor número atómico, lo que produce una mayor absorción de los rayos X y genera una sobreestimación de la DMO durante el tratamiento.

Los efectos adversos más comunes hallados con ranelato de estroncio con respecto al placebo fueron: náuseas (7,1% vs. 4,6%), diarreas (7% vs. 5%), incontinencia fecal (1,0% vs. 0,2%), dermatitis (2,3% vs. 2,0%), eccema (1,8% vs. 1,4%), cefaleas (3,3% vs. 2,7%), trastornos de conciencia (2,6% vs. 2,1%), pérdida de memoria (2,5% vs. 2,0%), convulsiones (0,4% vs. 0,1%), aumento transitorio de CPK (1,4% vs. 0,6%) y tromboembolismo venoso (2,7% vs. 1,9%) (35,37). En una reciente evaluación de la Agencia Europea de Medicamentos (EMA), se encontró un aumento del riesgo de infarto de miocardio con ranelato de estroncio en comparación con placebo (1,7% vs. 1,1%), con un riesgo relativo de 1,6 (intervalo de confianza 95%, 1,07 a 2,38) (39). Posteriormente se realizaron varios estudios observacionales, uno en el Reino Unido (40) y otros en Dinamarca (41,42), en los cuales no se ha encontrado un aumento del riesgo de infarto de miocardio con el uso de ranelato de estroncio.

Debido a los probables efectos adversos a nivel cardiovascular, este fármaco se encuentra contraindicado en pacientes con antecedentes de tromboembolismo venoso, cardiopatía isquémica, enfermedad arterial periférica, enfermedad cerebrovascular, hipertensión arterial no controlada e inmovilización temporaria o permanente (43).

Conclusiones

La osteoporosis es un trastorno prevalente con elevada morbimortalidad. Actualmente existen numerosos fármacos para su tratamiento. Es muy importante el adecuado conocimiento de los mecanismos de acción, efectividad, sus efectos adversos y costos, para una correcta elección terapéutica por parte del profesional interviniente. En los últimos años se ha realizado una amplia investigación sobre la fisiopatología de la osteoporosis que ha permitido descubrir nuevos blancos terapéuticos. Se encuentran en desarrollo numerosos fármacos en distintas etapas de investigación que podrán ser utilizados para el tratamiento de la osteoporosis en un futuro cercano.

Referencias

1. NIH Consensus Development Panel on Osteoporosis Prevention, Diagnosis and Therapy. Osteoporosis prevention, diagnosis and therapy. JAMA. 2001; 285(6):785-95.
2. Schurman L, Bagur A, Claus-Hermberg H, Messina OD, Negri AL, Sánchez A, et al. Guías 2012 para el diagnóstico, la prevención y el tratamiento de la osteoporosis. Medicina (Buenos Aires). 2013; 73(1):55-74.
3. Favus MJ. Bisphosphonates for Osteoporosis. N Engl J Med. 2010;363(21):2027-35.
4. Watts NB, Diab DL. Long-term use of bisphosphonates in osteoporosis. J Clin Endocrinol Metab. 2010;95(4):1555-1565.
5. Black DM, Cummings SR, Karpf DB, Cauley JA, Thompson DE, Nevitt MC, et al. Randomised trial of effect of alendronate on risk of fracture in women with existing vertebral fractures. Fracture Intervention Trial Research Group. Lancet. 1996; 348(9041):1535-1541.
6. Cummings SR, Black DM, Thompson DE, Applegate WB, Barrett-Connor E, Musliner TA, et al. Effect of alendronate on risk of fracture in women with low bone density but without vertebral fractures: results from the Fracture Intervention Trial. JAMA. 1998;280(24):2077-2082.
7. Karpf DB, Shapiro DR, Seeman E, Ensrud KE, Johnston CC Jr, Adami S, et al. Prevention of nonvertebral fractures by alendronate. A meta-analysis. Alendronate Osteoporosis Treatment Study Groups. JAMA. 1997;277(14):1159-1164.
8. Reginster J, Minne HW, Sorensen OH, Hooper M, Roux C, Brandi ML, et al. Randomized trial of the effects of risedronate on vertebral fractures in women with established postmenopausal osteoporosis. Vertebral Efficacy with Risedronate Therapy (VERT) Study Group. Osteoporosis Int. 2000; 11(1):83-91.
9. McClung MR, Geusens P, Miller PD, Zippel H, Bensen WG, Roux C, et al. Effect of risedronate on the risk of hip fracture in elderly women. Hip Intervention Program Study Group. N Engl J Med. 2001;344(5):333-340.
10. Delmas PD, Recker RR, Chesnut CH 3rd, Skag A, Stakkestad JA, et al. Daily and intermittent oral ibandronate normalize bone turnover and provide significant reduction in vertebral fracture risk: results from the BONE study. Osteoporos Int. 2004; 15(10):792-8.
11. Recker RR, Ste-Marie LG, Langdahl B, Czerwinski E, Bonvoisin B, and Masanauskaite D, et al. Effects of intermittent intravenous ibandronate injections on bone quality and micro-architecture in women with postmenopausal osteoporosis: the DIVA study. Bone. 2010;46(3):660-5.
12. Black DM, Delmas PD, Eastell R, Reid IR, Boonen S, Cauley JA, et al. Once-yearly zoledronic acid for treatment of postmenopausal osteoporosis. N Engl J Med. 2007;356(18):1809-22.
13. National Osteoporosis Foundation. Clinician's Guide to Prevention and Treatment of Osteoporosis. Washington, DC: National Osteoporosis Foundation. 2013.
14. Gupta S, Gupta H, Mandhyan D, Srivastava S. Bisphophonates related osteonecrosis of the jaw. Natl J Maxillofac Surg. 2013;4(2):151-158.
15. Shane E, Burr D, Abrahamsen B, Adler RA, Brown TD, Cheung AM, et al. Atypical subtrochanteric and diaphyseal femoral fractures: second report of a task force of the American society for bone and mineral research. J Bone Miner Res. 2014;29(1):1-23.
16. Sanchez A. Bifosfonatos: ¿Por cuánto tiempo? Actualiz Osteología. 2006;2(2):86-88.
17. Black DM, Schwartz AV, Ensrud KE, Cauley JA, Levis S, Quandt SA, et al. Effects of continuing or stopping alendronate after 5 years of treatment: the Fracture Intervention Trial Long-term Extension (FLEX): a randomized trial. JAMA. 2006; 296(24):2927-38.
18. Cauley JA, Robbins J, Chen Z, Cummings SR, Jackson RD, LaCroix AZ, et al. Effects of estrogen plus progestin on risk of fracture and bone mineral density: the Women's Health Initiative randomized trial. JAMA. 2003;290(13):1729-38.
19. Jackson RD, Wactawski-Wende J, LaCroix AZ, Pettinger M, Yood RA, Watts NB, et al. Effects of conjugated equine estrogen on risk of fractures and BMD in postmenopausal women with hysterectomy: results from the women's health initiative randomized trial. J Bone Miner Res. 2006;21(6):817-28.
20. Ettinger B, Black DM, Mitlak BH, Knickerbocker

RK, Nickelsen T, Genant HK, et al. Reduction of vertebral fracture risk in postmenopausal women with osteoporosis treated with raloxifene: results from a 3-year randomized clinical trial. Multiple Outcomes of Raloxifene Evaluation (MORE) Investigators. JAMA. 1999;282(7):637-45.
21. Delmas PD, Genant HK, Crans GG, Stock JL, Wong M, Siris E, et al. Severity of prevalent vertebral fractures and the risk of subsequent vertebral and nonvertebral fractures: results from the MORE trial. Bone. 2003;33(4):522-32.
22. Chesnut CH 3rd, Silverman S, Andriano K, Genant H, Gimona A, Harris S, et al. A randomized trial of nasal spray salmon calcitonin in postmenopausal women with established osteoporosis: the prevent recurrence of osteoporotic fractures study. PROOF Study Group. Am J Med. 2000;109(4):267-76.
23. Capozzi A, Lello S, Pontecorvi A. The inhibition of RANK-ligand in the management of postmenopausal osteoporosis and related fractures: the role of denosumab. Gynecol Endocrinol. 2014 Mar 5 [Epub ahead of print].
24. Cummings SR, San Martin J, McClung MR, Siris ES, Eastell R, Reid IR, et al. Denosumab for prevention of fractures in postmenopausal women with osteoporosis. N Engl J Med. 2009;361(8):756-765.
25. Brown JP, Prince RL, Deal C, Recker RR, Kiel DP, de Gregorio LH, et al. Comparison of the effect of denosumab and alendronate on BMD and biochemical markers of bone turnover in postmenopausal women with low bone mass: a randomized, blinded, phase 3 trial. J Bone Miner Res. 2009; 24(1):153-161.
26. Recknor C, Czerwinski E, Bone HG, Bonnick SL, Binkley N, Palacios S, et al. Denosumab compared with ibandronate in postmenopausal women previously treated with bisphosphonate therapy: a randomized open-label trial. Obstet Gynecol. 2013; 121(6):1291-1299.
27. Roux C, Hofbauer LC, Ho PR, Wark JD, Zillikens MC, Fahrleitner-Pammer A, et al. Denosumab compared with risedronate in postmenopausal women suboptimally adherent to alendronate therapy: efficacy and safety results from a randomized open-label study. Bone. 2014;58:48-54.
28. Brown JP, Roux C, Törring O, Ho PR, Beck Jensen JE, Gilchrist N, et al. Discontinuation of denosumab and associated fracture incidence: analysis from the Fracture Reduction Evaluation of Denosumab in Osteoporosis Every 6 Months (FREEDOM) trial. J Bone Miner Res. 2013;28(4):746-52.
29. Lewiecki EM. Safety and tolerability of denosumab for the treatment of postmenopausal osteoporosis. Drug Health Patient Saf. 2011;3:79-91.
30. Hodsman AB, Bauer DC, Dempster DW, Dian L, Hanley DA, Harris ST, et al. Parathyroid hormone and teriparatide for the treatment of osteoporosis: a review of the evidence and suggested guidelines for its use. Endocrine Rev. 2005;26(5):688-703.
31. Neer RM, Arnaud CD, Zanchetta JR, Prince R, Gaich GA, Reginster JY, et al. Effect of parathyroid hormone (1-34) on fractures and bone mineral density in postmenopausal women with osteoporosis. N Engl J Med. 2001;344(19):1434-41.
32. Salica D, Buceta A, Palacios S, Sánchez A, Ragi Eis S, Zeghbi Cochenski Borba V, et al. Consenso Iberoamericano de Osteoporosis SIBOMM 2009. Osteoporosis: Prevención, Diagnóstico y Tratamiento. Rev Arg Osteol. 2010;9(1):4-44.
33. Galich AM. Ranelato de Estroncio: Tratamiento para osteoporosis. Actual Osteol. 2011; 7(1):19-34.
34. Marie PJ1, Ammann P, Boivin G, Rey C. Mechanisms of action and therapeutic potential of strontium in bone. Calcif Tissue Int. 2001;69(3):121-129.
35. Meunier PJ, Roux C, Seeman E, Ortolani S, Badurski JE, Spector TD, et al. The effects of strontium ranelate on the risk of vertebral fracture in women with postmenopausal osteoporosis. N Engl J Med. 2004;350(5):459-68.
36. Blake GM, Fogelman I. Long-term effect of Strontium Ranelate treatment on BMD. J Bone Miner Res. 2005;20(11):1901-4.
37. Reginster JY, Seeman E, De Vernejoul MC, Adami S, Compston J, Phenekos C, et al. Strontium ranelate reduces the risk of nonvertebral fractures in postmenopausal women with osteoporosis: Treatment of Peripheral Osteoporosis (TROPOS) study. J Clin Endocrinol Metab. 2005;90(5):2816-22.
38. Middleton ET, Steel SA, Aye M, Doherty SM. The effect of prior bisphosphonates therapy on the subsequent BMD and bone turnover response to strontium ranelate. J Bone Miner Res. 2010;25(3):455-62.
39. European Medicines Agency. Recommendation to restrict the use of Protelos/Osseor (strontium ranelate). 26 April 2013. Disponible en: http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/news_and_events/news/2013/04/news_detail_001774.jsp&mid=WC0b01ac058001d126 (acceso 28 de abril de 2014).
40. Cooper C, Fox KM, Borer JS. Ischaemic cardiac events and use of strontium ranelate in postmenopausal osteoporosis: a nested case-control study in the CPRD. Osteoporos Int. 2014;25(2):737-45.
41. Abrahamsen B, Grove EL, Vestergaard P. Nationwide registry-based analysis of cardiovascular risk factors and adverse outcomes in patients treated

with strontium ranelate. Osteoporos Int. 2014; 25(2):757-62.
42. Svanström H, Pasternak B, Hviid A. Use of strontium ranelate and risk of acute coronary syndrome: cohort study. Ann Rheum Dis. 2014 Mar 20 [Epub ahead of print].
43. European Medicines Agency. European Medicines Agency recommends that Protelos/Osseor remain available but with further restrictions. 21 February 2014. Disponible en: http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/news_and_events/news/2014/02/newn_detail_002031.jsp&mid=WC0b01ac058004d5c1) (acceso 28 de abril de 2014).

SAEGRE

"JORNADA DE ACTUALIZACIÓN EN ENDOCRINOLOGÍA GINECOLÓGICA Y REPRODUCTIVA"

12 DE SEPTIEMBRE DE 2014. 9:30 A 17:30 HS.

SALÓN DE ACTOS DE OSDE, RODRÍGUEZ 362, 1° PISO BAHÍA BLANCA, PCIA. DE BUENOS AIRES

9:30: ACREDITACIÓN
10:00 A 11:00: ENDOCRINOPATÍAS Y REPRODUCCIÓN. Dra. Irene Dall´Agnoletta.
11:15 A 12:15: DESEO REPRODUCTIVO EN LA DECLINACIÓN DE LA FERTILIDAD. Dra. Irene Dall´Agnoletta.
LUNCH
14:00 A 15:00: SOP SIN DESEO DE FERTILIDAD. Dra. Valeria Servetti.
15:00 A 15:30: COFFE BREAK
15:30 A 16:30: CONSECUENCIAS DEL SOP. PREVENCIÓN METABÓLICA Y ONCOLÓGICA. Dra. Valeria Servetti.
16:45 A 17:30: "APORTES DEL LABORATORIO EN EL DIAGNÓSTICO Y SEGUIMIENTO DEL EMBARAZO" (PRESENTACIÓN A CARGO DE PROFESIONALES LOCALES DE SAEGRE SUR)

ACTIVIDAD GRATUITA NO ARANCELADA

Análisis crítico por expertos de trabajos seleccionados

Resumen del trabajo seleccionado para el análisis crítico

¿Determina la inflamación el estado de salud metabólica en adultos obesos y adultos no obesos?

Does inflammation determine metabolic health status in obese and nonobese adults?

Phillips CM[1], Perry IJ.

J Clin Endocrinol Metab. 2013 Oct;98(10):E1610-9. doi:10.1210/jc.2013-2038. Epub 2013 Aug 26.

CONTEXTO

La inflamación es un posible mecanismo que relaciona la obesidad y el riesgo cardiometabólico. Existen datos limitados sobre los marcadores inflamatorios en individuos obesos y no obesos metabólicamente sanos.

OBJETIVO

El objetivo del estudio fue investigar el grado en que las diferencias entre los adultos obesos y no obesos metabólicamente sanos y no sanos, evaluados a través de una serie de definiciones de salud metabólica, se correlacionan con diferentes marcadores inflamatorios.

DISEÑO

Diseño transversal. Una muestra de 2047 hombres y mujeres, de 45 a 74 años de edad, participaron en el estudio. Los participantes fueron clasificados en obesos (índice de masa corporal ≥30 kg/m^2) y no obesos (índice de masa corporal <30 kg/m^2). El estado de salud metabólica se determinó según 5 definiciones basadas en una serie de anormalidades cardiometabólicas. Se determinaron reactantes de fase aguda en suero, adipocitoquinas, citoquinas proinflamatorias y recuentos de glóbulos blancos.

RESULTADOS

Según la mayoría de las definiciones, los individuos obesos y no obesos metabólicamente sanos presentan menores concentraciones del componente 3 del complemento, de la proteína C reactiva, del TNF-α, de la IL-6 y del inhibidor del activador del plasminógeno-tipo 1; niveles más elevados de adiponectina y reducción en el conteo de leucocitos en comparación con sus homólogos metabólicamente poco saludables. El análisis de regresión logística identificó una mayor probabilidad de obesidad metabólicamente saludable entre las personas con menores niveles del componente 3 del complemento (*odds ratio* [OR], 2-3,5), de IL-6 (OR, 1,7 a 2,9), del inhibidor del activador del plasminógeno-tipo 1 (OR, 1,7 a 2,9) y del recuento de leucocitos (OR, 2,1 a 2,5) y con mayor concentración de adiponectina (OR, 2,6 a 4,0).

CONCLUSIONES

Un estado inflamatorio favorable se asocia positivamente con la salud metabólica en individuos obesos y no obesos. Estos hallazgos son de relevancia clínica y en salud pública en términos de selección y estratificación de sujetos de acuerdo con su fenotipo de salud metabólica. Esto permitiría la identificación de grupos de mayor riesgo cardiometabólico y, en consecuencia, el desarrollo de estrategias terapéuticas o de intervenciones apropiadas.

Comentario

Julio C. Montero

Médico Nutricionista y Docente Universitario (UBA)
Director de la Escuela Posgrado de Obesidad de Asociación Médica Argentina (AMA)
Presidente de la Sociedad Argentina de Obesidad y Trastornos Alimentarios (SAOTA) 1994-95 y 2008-09
Presidente de la Federación Latinoamericana de Sociedades de Obesidad 1999-02

Los criterios para definir obesidad (O) transcurren por la propensión de los obesos a desarrollar trastornos metabólicos y mecánicos. Los primeros se vinculan con el desarrollo de las principales causas de morbimortalidad en el mundo occidentalizado: enfermedades cardiovasculares y cáncer. En ambas se citan mecanismos intervinientes también en la producción del síndrome metabólico (SM), entre ellos inflamación crónica subclínica.

Intuitivamente no es de esperar que una respuesta defensiva pueda convertirse en mecanismo de enfermedad. Sin embargo, numerosa bibliografía señala al tejido adiposo como lugar de cita de macrófagos, que, al igual que los adipocitos, producen señales pro y antiinflamatorias que operando localmente y a distancia

modulan el tono inflamatorio del organismo.

El estudio de Phillips y Perry sobre 2047 sujetos entre 45 y 74 años trató de dilucidar la participación de mecanismos inflamatorios en la producción del SM y su relación con la O. En los casos en que la O se acompañó de SM se observó correlación positiva entre los marcadores inflamatorios C3, factor de necrosis tumoral alfa, interleuquina-6, leptina, proteína C reactiva e inhibidor del activador del plasminógeno-I y negativa para adiponectina. Coincidiendo, la prevalencia de enfermedad cardiovascular y de diabetes 2 fue menos frecuente en la población con más bajos marcadores sistémicos de inflamación, con independencia de la condición de obeso.

Sin embargo, una apreciable proporción de obesos son metabólicamente saludables y no presentan perfil inflamatorio humoral, y otros normopesos semejan el perfil metabólico de los obesos. Todo esto insinúa a la O como una manifestación semiológica asociada a la inflamación –más que su causa–, y al tejido adiposo como un efector inflamatorio ante factores que inducen esta respuesta.

Al igual que la inflamación, la O puede ser considerada protectora ante condiciones ambientales diferentes de las actuales, como las de hibernación, y la coexistencia de un mini-SM transitorio asociado a la ganancia de peso como un favorecedor del almacenamiento de grasa (1). Esto ocurre en estados anabólicos como el embarazo y la pubertad (2), en quienes la modificación de la sensibilidad al ingreso de glucosa mediado por insulina (3) aumenta su flujo hacia la reductiva vía de pentosas cuyas enzimas se conservan sensibles (4).

Desde la salud pública, la Argentina –con una prevalencia de obesidad en adultos del 18% sobre unos 41 millones de habitantes de los que el 50% está entre 20 y 65 años– alberga a unos 4 millones de obesos. Según el estudio de Phillips y Perry, el 70% de los obesos, o sea, unos 2.800.000, si se define la O según IMC, corresponde al grupo *metabólicamente no saludable* y sólo 2 millones si se lo hace con DEXA. En tanto, el 30% de no obesos *metabólicamente comprometidos* (5) suman unos 4.800.000. Obviamente, desde estas cifras, la O no parece ser causa principal de SM abriendo la cuestión a *factores más allá de la O*.

Siendo la alimentación un factor común tanto en obesos como en normales, la mayor ingesta de los obesos podría explicar su susceptibilidad al desarrollo de SM ante igual alimentación, posibilidad que dejan entrever Phillips y Perry al citar los efectos de los omega 3 sobre la inflamación.

Los alimentos procesados suelen ser fuente de dismetabolizantes como bifenilos, edulcorantes (como sacarina y fructosa), emulsificantes (mono-oleoil-glicerol) (6), nutrientes proinflamantes (omega 6) (7) y compuestos de glicosilación avanzada, como consecuencia de la tostación de los alimentos, entre otros (8).

Referencias

1. Johnson RJ, Andrews P, Benner SA, Oliver W. The evolution of obesity: insights from the mid-miocene. Transactions of the American Clinical and Climatological Ass. 2010;121:295-308.
2. Kahan SE, Hull RL, Utzschneider KM. Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. Nature. 2006;444:840-846.
3. Barbour LA, et al. Cellular Mechanisms for Insulin Resistance in Normal Pregnancy and Gestational Diabetes. Diabetes Care. 2007;30(2): S112-119.
4. Soeters MR, Soeters PB. The evolutionary benefit of insulin resistance. Clin Nutr. 2012;1-6.
5. Wildman RP, Muntner P, Reynolds K, et al. The Obese Without Cardiometabolic Risk Factor Clustering and the Normal Weight With Cardiometabolic Risk Factor Clustering. Arch Intern Med. 2008;168(15):1617-1624.
6. Corkey B. Hyperinsulinemia: cause or consequence? Diabetes. 2012;61:4-13.
7. Patterson E, Wall R, Fitzgerald GF, Ross RP, Stanton C. Health Implications of High Dietary Omega-6 Polyunsaturated Fatty Acids. J of Nutr and Metab 2012;Article ID 539426,doi:10.1155/2012/539426.
8. Goldberg T, Cai W, Melpomeni P, et al. Advanced Glycoxidation End Products in Commonly consumed foods. J Am Diet Associat. 2004;104:1287-1291.

Comentario

Prof. Dra. Gabriela Berg
Laboratorio de Lípidos y Lipoproteínas
Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA

La obesidad es una patología de carácter multifactorial ya que en ella participan factores biológicos, de comportamiento, culturales, sociales, medioambientales y económicos que establecen una red de interacción múltiple y compleja. Aunque la obesidad implica un aumento de la masa de tejido adiposo, las evidencias disponibles muestran que su impacto sobre la salud depende no solo del volumen de grasa acumulada, sino también de su distribución corporal. Se sabe que el incremento de obesidad a nivel mundial en los últimos años es alarmante. Particularmente en nuestro país, de acuerdo con la última Encuesta Nacional de Factores de Riesgo en la Argentina, entre 2005 y 2009 se observó un incremento marcado de IR, obesidad y diabetes (del 8,4 al 9,6%) en la población general (1).

La obesidad se asocia a insulinorresistencia y al desarrollo de síndrome metabólico, a diabetes tipo 2 y enfermedad cardiovascular. El proceso inflamatorio que acompaña a la obesidad se encuentra directamente asociado al mayor riesgo cardiovascular. Cuando los adipocitos se hipertrofian, secretan citoquinas proinflamatorias como el factor de necrosis tumoral-α (TNF-α) y la proteína quimiotáctica de monocitos (MCP-1), lo que favorece el aumento del número de células inflamatorias en su interior, transformándose en tejido inflamado (2). El reclutamiento de monocitos y linfocitos dentro del tejido adiposo favorece el desarrollo de una matriz de estroma vascular, con capacidad de sintetizar mayor cantidad de citoquinas proinflamatorias (3).

Sin embargo, no todos los sujetos obesos tienen el mismo riesgo cardiometabólico y algunos obesos pueden considerarse metabólicamente sanos, en tanto que algunos individuos delgados presentan riesgo cardiometabólico semejante al de los obesos (4). El tejido adiposo de individuos metabólicamente sanos se caracteriza por presentar adipocitos de menor tamaño, con menor infiltración de macrófagos y un perfil inflamatorio menos desfavorable (5). Si la inflamación es responsable de las diferencias observadas entre individuos metabólicamente sanos y no sanos, aún no ha sido esclarecido.

En virtud de estas controversias, el trabajo de Phillips y Perry propone la evaluación de diferentes marcadores de inflamación (citoquinas, adipocitoquinas, proteínas de fase aguda, factores de coagulación y células de la serie blanca) en individuos obesos y no obesos metabólicamente sanos y no sanos. Para ello, estudiaron cuatro grupos de pacientes de ambos sexos, obesos metabólicamente sanos, obesos metabólicamente no sanos y sus respectivos controles delgados. La definición del estado "metabólicamente sano" se realizó de acuerdo con cinco definiciones previas, que incluyen la combinación de distintas alteraciones metabólicas como tensión arterial elevada, niveles plasmáticos elevados de triglicéridos, colesterol-total, colesterol-HDL, glucemia, índice HOMA y proteína C reactiva, y aumento de circunferencia de cintura.

El hallazgo más significativo del trabajo de Phillips y Perry fue la menor concentración circulante del factor 3 del complemento (C3) en los individuos "metabólicamente sanos" (obesos y no obesos), independientemente de la definición utilizada. Más aún, dependiendo de las distintas definiciones también reportaron menores niveles de proteína C reactiva, interleuquina 6 (IL-6), TNF-α, inhibidor del activador del plasminógeno (PAI-1) y células de la serie blanca, así como mayores concentraciones de adiponectina. Luego de un análisis de regresión logística identificaron que los biomarcadores que mejor predicen el estado metabólicamente sano dentro de los obesos eran el descenso de C3, de PAI-1, de células de la serie blanca y el aumento de adiponectina.

El aumento en los niveles de C3, una proteína reactante de fase aguda que tiene un papel central en la respuesta inmune, se ha asociado con obesidad, mayor riesgo cardiometabólico y diabetes tipo 2 (6). A partir del presente trabajo, la medida de C3 es propuesta como biomarcador para poder caracterizar el estado "metabólicamente sano" en individuos obesos y delgados. Además, dada la asociación entre los marcadores de inflamación y las distintas definiciones de obesos "metabólicamente sanos" utilizadas en este trabajo, se resalta la necesidad de encontrar una única definición, especialmente con el objetivo de poder realizar el *screening* de los pacientes y las intervenciones farmacológicas correspondientes.

Referencias

1. Ferrante D, Linetzky B, Konfino J, et al. Encuesta Nacional de Factores de Riesgo 2009: evolución de la epidemia de enfermedades crónicas no transmisibles en Argentina. Estudio de corte transversal. Rev Argent Salud Pública. 2011;2:34-41.
2. Heilbronn LK, Campbell LV. Adipose tissue macrophages, low grade inflammation and insulin resistance in human obesity. Curr Pharm Des. 2008;14(12):1225-30.
3. Berg G, Miksztowicz V, Schreier L. Metalloproteinases in metabolic syndrome. Revisión por invitación. Clinica Chimica Acta. 2011;412(19-20):1731-9.
4. Ruderman NB, Schneider SH, Berchtold P. The "metabolically-obese", normal-weight individual. Am J Clin Nutr. 1981;34:1617-21.
5. O´Connell J, Lynch L, Hogan A, et al. Preadipocyte factor-1 is associated with metabolic profile in severe obesity. J Clin Endocrinol Metab. 2011;96:E680-4.
6. Hertle E, van Greevenbroek MM, Stehouwe CD. Complement C3: an emerging risk factor in cardiometabolic disease. Diabetologia. 2012;55:881-4.

Novedades bibliográficas

Comparación de los efectos del mioinositol y d-quiroinositol en la función ovárica y en factores metabólicos en mujeres con SOP

Comparison between effects of myoinositol and d-chiroinositol on ovarian function and metabolic factors in women with PCOS

Alfonsa Pizzo[1], Antonio Simone Laganà[1], Luisa Barbaro[2]

[1]Department of Pediatric, Gynecological, Microbiological and Biomedical Sciences, University of Messina, Messina, Italy and [2]Obstetrics and Gynecology Section, Family Counseling Center, Messina, Italy.

E-mail: antlagana@unime.it

Gynecologycal Endocrinology. 2014;30(3):205-208.

El mioinositol y el D-quiroinositol son capaces de mejorar la función ovárica y el metabolismo de pacientes con síndrome de ovario poliquístico (SOP). El objetivo de este trabajo es comparar los efectos del mioinositol y del D-quiroinositol en pacientes con SOP. Se reclutaron 50 pacientes con características biofísicas homogéneas, afectadas por SOP y alteraciones menstruales. Se dividieron aleatoriamente en 2 grupos: 25 fueron tratadas con 4 g de mioinositol y 400 µg de ácido fólico por día, vía oral por 6 meses, y 25 fueron tratadas con 1 g de D-quiroinositol y 400 µg de ácido fólico por día, vía oral por 6 meses.

Pre y postratamiento se analizaron en ambos grupos IMC, presión sistólica y diastólica, *score* de Ferriman-Gallwey, *score* de Cremoncini, valores séricos de LH, cociente LH/FSH, testosterona total y libre, S-DHEA, SHBG, Δ-4-androstenediona, prolactina, insulina, HOMA, y la regularización de los ciclos menstruales. Ambas isoformas de inositol fueron efectivas para mejorar la función ovárica y el metabolismo en pacientes con SOP. El mioinositol mostró mayor efecto en el perfil metabólico, en tanto el D-quiroinositol fue más eficaz para mejorar el hiperandrogenismo.

Efectos endocrinos de la exposición al humo de tabaco durante la lactancia en crías macho al momento del destete y en la adultez

Santos-Silva AP, Oliveira E, Pinheiro CR, Santana AC, Nascimento-Saba CC, Abreu-Villaça Y, Moura EG, Lisboa PC.

J Endocrinol. 2013 May 28;218(1):13-24.

Los hijos de madres fumadoras durante el embarazo muestran mayor susceptibilidad a desarrollar obesidad en la vida adulta. Previamente, nosotros no pudimos demostrar el desarrollo de obesidad en crías de ratas solo cuando las madres eran expuestas al humo de tabaco durante la lactancia. En este estudio evaluamos los efectos de la corta y larga exposición al humo de tabaco de la madre y sus crías durante la lactancia sobre parámetros endocrinos y metabólicos. Para ello diseñamos un modelo experimental donde las ratas que amamantaban y sus crías fueron divididas en dos grupos: grupo expuesto (GE), exposición al humo producido por un cigarrillo en una máquina de fumar (4 veces/día, desde el día 3 al 21 de vida de lactancia) y un grupo expuesto a aire filtrado. Las crías fueron sacrificadas a los 21 y 180 días. Al destete, las ratas expuestas al humo de tabaco mostraban menor peso corporal (7%), largo (5%), masa grasa retroperitoneal (59%), área adiposa visceral (60%), hipertiroxinemia (59%), hipercorticostironemia (60%) y mayor contenido de catecolaminas en adrenal (+58%). En los animales adultos, que habían estado expuestos al humo de tabaco, se observó: mayor ingesta de alimentos (+10%), masa grasa total corporal (+50%), masa grasa visceral (retroperitoneal 55%, mesentérica 67% y epididimal 55%) y menor área adiposa subcutánea (24%) con altos niveles de glucosa (11%), leptina (85%), adiponectina (incremento de 1 a 4 veces), triyodotironina total (71%), tiroxina libre (57%), TSH (36%), triglicéridos (65%), VLDL colesterol (+66%) y HDL colesterol (91%) y menor corticostironemia (41%) y contenido de catecolaminas de origen adrenal (57%). Nuestros resultados sugieren que la exposición al humo de tabaco tanto de las madres como de las crías durante la lactancia causa malnutrición en la vida temprana que predispone a la obesidad y a disturbios metabólicos y hormonales en la vida adulta, sólo si las crías están expuestas al mismo ambiente de humo que las madres.

Bisfenol A conjugado en suero materno en relación con el riesgo de aborto

Conjugated bisphenol A in maternal serum in relation to miscarriage risk

Ruth B. Lathi, M.D.,[a] Cara A. Liebert, M.D., [b] Kathleen F. Brookfield, M.D., Ph.D., M.P.H.,[a] Julia A. Taylor, Ph.D.,[c] Frederick S. vom Saal, Ph.D.,[c] Victor Y. Fujimoto, M.D.,[d] and Valerie L. Baker, M.D.[a]

[a] Department of Obstetrics and Gynecology, Stanford University, Palo Alto, California; [b] Department of Surgery, Stanford Hospital and Clinics, Stanford, California; [c] Division of Biological Sciences, University of Missouri–Columbia, Columbia, Missouri; and [d] Department of Obstetrics, Gynecology, and Reproductive Sciences, University of California at San Francisco, San Francisco, California

Fertil Steril. 2014 Jul;102(1):123-128.

Objetivo: examinar la relación entre la concentración en suero materno de bisfenol A (BPA) en el momento de la pérdida del ciclo menstrual y el riesgo de aborto involuntario.
Diseño: cohorte retrospectivo de muestras de suero recogidas de forma prospectiva.
Lugar de estudio: centro académico de fertilidad.
Pacientes: mujeres con embarazos únicos que se presentaban para el control del embarazo temprano.
Intervención: se analizaron las concentraciones de BPA conjugado en suero de muestras almacenadas desde la 4ta a 5ta semanas de gestación.
Principales medidas de resultado: nacido vivo, aborto involuntario y el contenido cromosómico de aborto involuntario.
Resultados: se incluyeron 115 mujeres en el estudio, hubo 47 nacimientos y 68 abortos (46 aneuploides y 22 euploides). La concentración media de BPA conjugado fue mayor en las mujeres que habían abortado respecto de aquellas que habían tenido partos con recién nacidos vivos (0,101 vs. 0,075 ng/ml). En las mujeres con el más alto porcentaje de BPA conjugado había un aumento del riesgo relativo de aborto involuntario (1,83; 95% CI; 1,14-2,96) en comparación con las mujeres en el cuartilo más bajo. Hemos encontrado un aumento del riesgo similar para ambos tipos de abortos involuntarios, euploides y aneuploides.
Conclusiones: el BPA conjugado en suero materno se asoció con un mayor riesgo de aborto involuntario aneuploide y euploide en esta cohorte. Los resultados del impacto de la reducción de la exposición en el futuro de los embarazos merecen mayores estudios.
Palabras clave: aneuploidía, bisfenol A, disruptor endocrino, aborto, embarazo.

Suplemento del Libro de Resúmenes del IX Congreso Argentino de Endocrinología Ginecológica y Reproductiva

Presentación Oral

ASOCIACIÓN ENTRE PERFIL LIPÍDICO Y HORMONAS EN FALLA OVÁRICA PREMATURA

B. Pérez Lana; V. Servetti; V. Straminsky; L. Galluzzo; G. Blanco; M. Nölting
Sección Endocrinología Ginecológica, División Ginecología del Hospital de Clínicas "José de San Martín".

Objetivo: investigar los niveles de lípidos séricos y valores hormonales en mujeres con falla ovárica prematura (FOP), así como su asociación.

Resultados: se analizaron 25 pacientes con FOP. Niveles medios de estradiol: 20 pg/ml; FSH: 86 UI/l; colesterol total: 186 mg/dl; LDL: 108 mg/dl; HDL: 55 mg/dl; triglicéridos: 94 mg/dl. Hubo correlación negativa entre estradiol y colesterol total (r=-0,44; p=0,03). No hay correlación entre FSH y lípidos.

Conclusión: el aumento del colesterol total en asociación con el descenso del estradiol en mujeres con FOP sugiere que la deprivación estrogénica provoca un desfavorable cambio lipídico en estas pacientes, lo que conduce a un aumento del riesgo cardiovascular.

IX CONGRESO ARGENTINO DE ENDOCRINOLOGÍA GINECOLÓGICA Y REPRODUCTIVA y VIII ENCUENTRO LATINOAMERICANO DE ENDOCRINOLOGÍA GINECOLÓGICA Y REPRODUCTIVA

"LA MUJER CONTEMPORÁNEA Y SU INFLUENCIA CON EL MEDIO, EN LA ARGENTINA Y EN EL MUNDO"

Realizado en los días 27, 28 y 29 de abril de 2014, este Congreso tuvo una importante convocatoria y asistieron profesionales relacionados con la especialidad (endocrinólogos, ginecólogos, biólogos, bioquímicos, etc.) de distintos puntos de la Argentina y otros de Latinoamérica. Contó con la participación de destacados disertantes de nuestro país y de los EE.UU., Italia, Chile, Uruguay, Brasil y Paraguay.
Se rindió homenaje a la trayectoria de las Dras. Susana Leiderman y Haydeé Benenzia.

Se otorgó el **premio "Dr. Armando Mendizábal"** al mejor Trabajo de Investigación y resultó premiado el trabajo **"Diagnóstico genético preimplantatorio por hibridación genómica comparada en *array* en biopsia de trofoblasto en portadores de reordenamientos equilibrados"**, de los doctores M.E. Ducatelli, F. Coco, B. Irigoyen, S. Neuspiller, F. Gismondi, N. Neuspiller, R. Coco.

Por primera vez se otorgó el **premio "Dr. Eduardo Lombardi"** a la mejor presentación de trabajos presentados como pósters y resultaron premiados el trabajo **"Indicadores de resistencia insulínica en adolescentes de Comodoro Rivadavia"**, de los doctores G. Ponce, A. Rodríguez, A. Quezada, M. Boeri, M. Soto y F. Brites, y el trabajo **"Efecto inmunorregulador de la progesterona sobre el sistema VIP/VPAC: modulación de la respuesta inflamatoria implantatoria"**, de los doctores M. Agüero, L. Fraccaroli, E. Grasso, D. Paparini, C. Pérez Leirós, R. Ramhorst.

Se hizo entrega a los asistentes del cuadernillo *Conclusiones del foro de discusión sobre la evaluación tiroidea en las distintas etapas de la vida de la mujer*. El material se elaboró a partir del foro que se llevó a cabo durante el VIII Congreso Argentino de Endocrinología Ginecológica y Reproductiva de 2012 y que estuvo constituido por cuatro mesas de trabajo: Niñez y adolescencia, Reproducción, Embarazo y Adultez sin deseo de embarazo/menopausia.

Nos enorgullece el resultado de este evento científico. Sentimos que no importan los esfuerzos realizados, si se alcanzan los objetivos que se propone esta Sociedad.

Calendario de Eventos

Eventos nacionales

Agosto de 2014

- **6º Congreso Internacional y 8º Congreso Argentino de Controversias en Obstetricia y Ginecología**
  27 al 29 de agosto
  CABA, Argentina
  Informes e inscripción: http://www.aacog.org.ar/

Septiembre de 2014

- **Congreso de la Sociedad Argentina de Osteoporosis CAO 2014**
  4 al 6 de septiembre
  Buenos Aires, Argentina
  Informes e inscripción: http://www.osteoporosis.org.ar/

- **XIII Jornadas Nacionales de Mastología**
  Mendoza, Argentina
  4 al 6 de septiembre
  Informes e inscripción: http://www.samas.org.ar/

- **VII Simposio Internacional de Bioquímica Endocrinológica Organizado por el Departamento de Bioquímica de la Sociedad Argentina de Endocrinología y Metabolismo**
  CABA, Argentina
  11 y 12 de septiembre
  Informes e inscripción: graciela@saem.org.ar, www.saem.org.ar

- **Congreso Argentino de Patología del Tracto Genital Inferior y Colposcopía – XLIII Reunión Anual de la Sociedad Argentina de Patología del Tracto Genital Inferior y Colposcopía**
  11 al 13 de septiembre
  Buenos Aires, Argentina
  Informes e inscripción: http://www.sagij.org.ar/ginecologia-infanto-juvenil/congreso-argentino-de-patologia-del-tracto-genital-inferior-y-colposcopia-xliii-reunion-anual/

Octubre de 2014

- **X Congreso FASEN**
  8 al 10 de octubre
  Córdoba, Argentina
  Informes e inscripción: www.congresofasen.com.ar/

Noviembre de 2014

- **XVI Congreso Argentino de Medicina Reproductiva - Sociedad Argentina de Medicina Reproductiva**
  11 al 14 de noviembre
  CABA, Argentina
  Informes e inscripción: www.samer.org.ar

- **LIX Reunión Científica Anual de Investigación Clínica**
  Mar del Plata, Argentina
  19 al 22 de noviembre
  Informes e inscripción: www.saic.org.ar

Eventos internacionales

Septiembre de 2014

- **Congreso Latinoamericano de Obstetricia y Ginecología FLASOG 2014**
  15 al 19 de septiembre
  Guayaquil, Ecuador
  Informes e inscripción: http://www.flasog.org/

- **13avo Congreso Europeo de Ginecología Pediátrica y del Adolescente**
  17 al 20 de septiembre
  Londres, Reino Unido
  Informes e inscripción: http://www.rcog.org.uk/events/eurapag2014

Noviembre de 2014

- **III Congreso de la Asociación Latinoamericana de Endocrinología Ginecológica y I Congreso del Capítulo de Endocrinología Ginecológica de la Sociedad Paraguaya de Obstetricia y Ginecología**
  11 al 13 de noviembre
  Asunción, Paraguay
  Informes e inscripción: http://www.spgo.org.py/

Diciembre de 2014

- **20avo Congreso Mundial de Controversias en Obstetricia, Ginecología e Infertilidad (COGI)**
  París, Francia
  4 al 7 de diciembre
  Informes e inscripción: http://www.congressmed.com/cogi/

Abril de 2015

- **VI Simposio Latinoamericano de Interacción Materno Fetal y Placenta, V Simposio Latinoamericano de Inmunología Reproductiva**
  Mar del Plata, Argentina
  13 al 16 de abril
  Informes e inscripción: http://www.slimp.org

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 sus fuentes); 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 extensión máxima de 30 hojas.

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://lcmarvel.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, definirlas 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 arábicos 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.