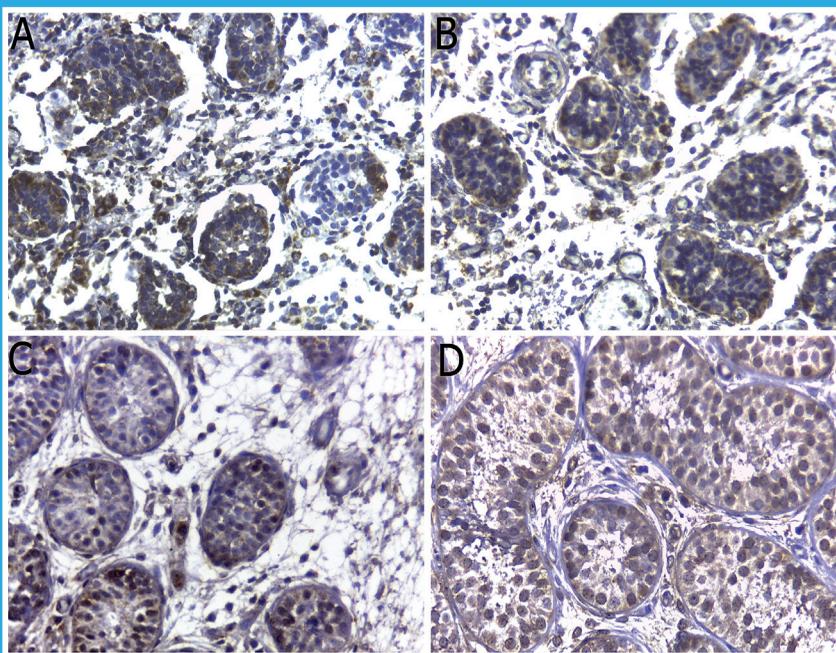


Revista de la Sociedad Argentina de Endocrinología Ginecológica y Reproductiva



Contenido de este número:

- Diabetes mellitus gestacional: estudio de prevalencia, factores de riesgo y niveles de vitamina D en un grupo de mujeres de La Plata, Argentina
- Sistema histaminérgico testicular: consideraciones sobre el empleo de antihistamínicos y su potencial efecto en la reproducción masculina
- Análisis genómicos aplicados a la reproducción
- Definiendo los límites de detección de los rearrreglos cromosómicos en embriones preimplantatorios usando secuenciación de siguiente generación
- Aborto recurrente. Comentarios sobre Causas endocrino-metabólicas e inmunológicas de aborto recurrente de la Guía de la Sociedad Europea de Reproducción Humana y Embriología. (ESHRE) 2017

Revista de la Sociedad Argentina de Endocrinología Ginecológica y Reproductiva



AFILIADA A LA INTERNATIONAL SOCIETY OF GYNECOLOGICAL ENDOCRINOLOGY (ISGE) Y A LA FEDERACIÓN LATINA DE ENDOCRINOLOGÍA GINECOLÓGICA (FLEG)

Año 26 • Volumen XXVI • N° 1 • Suplemento • Enero - junio de 2019 • ISSN 1515-8845 (impresa) ISSN 2469-0252 (en línea)

COMISIÓN DIRECTIVA 2018

Presidenta: **Dra. Sandra Demayo**
Vicepresidente: **Dr. Domingo Mugnolo**
Secretaria: **Dra. Adriana Monastero**
Prosecretaria: **Dra. Karina Tozzi**
Tesorera: **Dra. Lara Miechi**

Prosecretora: **Dra. Laura Mittelberg**
Vocales Titulares: **Dra. María Belén Pérez Lana, Dra. Constanza Franco, Dra. Claudia Velez, Dra. Alicia Jawerbaum**
Vocales Suplentes: **Dra. Lorena Giannoni, Dra. Marina Gelin, Dra. Karina Sternberg**

COMISIÓN REVISORA DE CUENTAS

Miembros Titulares: **Dra. Érika Abelleira, Dra. Mariana Angeloni, Dra. Valeria Servetti**

Miembros Suplentes: **Dra. Alejandra Palma Landeau, Dra. María Fernanda González de Chazal, Dra. Vanina Drappa**

COMITÉ EDITORIAL

Directora de Publicaciones: **Dra. Alicia Jawerbaum**, Doctora en Ciencias Biológicas, Universidad de Buenos Aires (UBA), Investigadora Principal del CONICET, Directora del Laboratorio de Reproducción y Metabolismo del CEFYBO-CONICET, Facultad de Medicina (UBA), CABA, Argentina.

Subdirector: **Dra. Claudia Peyrallo**, Médica Ginecóloga Especialista en Endocrinología Ginecológica y Reproductiva, Integrante de la Sección Reproducción del Servicio de Ginecología del Hospital Rivadavia, Jefa de Endocrinología Ginecológica del Servicio de Ginecología del Hospital Universitario Fundación Favaloro, Docente (UBA), CABA, Argentina. **Dra. Roxana Reynoso**, Doctora en Bioquímica (UBA), Especialista en Endocrinología ABA-SAEM,

Bioquímica especialista en Endocrinología Ginecológica y Reproductiva (SAEGRE), Docente II Cátedra de Fisiología, Facultad de Medicina (UBA), Investigadora Laboratorio de Endocrinología (UBA), CABA, Argentina.

Colaboradores: **Dra. Laura Estela Boero**, Bioquímica por la Universidad Nacional de Tucumán, Doctora en Bioquímica (UBA), Área Bioquímica Clínica, Especialista en Bioquímica Clínica, Área Endocrinología, Facultad de Farmacia y Bioquímica (UBA), Docente con Formación Pedagógica en Enseñanza Universitaria, Orientación Ciencias de la Salud, Facultad de Farmacia y Bioquímica (UBA), CABA, Argentina.

Dra. Adriana Monastero, Ginecóloga y Obstetra (UBA), Especialista en Endocrinología Ginecológica y Reproductiva (SAEGRE),

Magíster en Psiconeuroinmunoendocrinología Universidad Favaloro, CABA, Argentina, Fellow del American College of Gynecology and Obstetrics. **Dra. Luciana Porrati**, Médica Ginecóloga y Obstetra, Especialista en Medicina Endocrina y Reproductiva, Médica asociada en el Instituto de Ginecología y Fertilidad (IFER), Médica de la Sección de Reproducción del Hospital Bernardino Rivadavia, CABA, Argentina. **Dra. Mariela Bilotas**, Doctora en Ciencias Biológicas (UBA), Investigadora Adjunta del CONICET, Laboratorio de Inmunología de la Reproducción, IBYME-CONICET. **Dra. Rosanna Ramhorst**, Doctora en Ciencias Biológicas, Universidad de Buenos Aires (UBA), Investigadora Independiente del CONICET, Laboratorio de Inmunofarmacología IQUIBICEN-CONICET, Profesora Adjunta de la Universidad de Buenos Aires (UBA), CABA, Argentina

Propietaria:

Asociación Civil Sociedad Argentina de Endocrinología Ginecológica y Reproductiva

Domicilio Legal de la Revista:

Viamonte 2660, piso 6°, of. D (C1056ABR), CABA, Argentina
Registro en la Dirección Nacional de Derecho de Autor:
Exp. N° 14961376. ISSN 1515-8845 (impresa)
ISSN 2469-0252 (en línea)
Periodicidad: semestral

Edita:

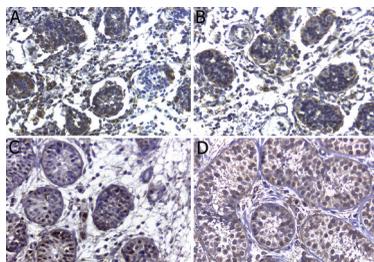
Sello Editorial Lugones® de Editorial Biotecnológica S.R.L.
Socio Gerente: Facundo Lugones
Jefa de Redacción: Lic. María Fernanda Cristoforetti
Coordinación Editorial: Ed. Carolina Bustos
Curapaligüe 202, 9° piso, of. B (1406),
CABA, Argentina. Tel.: (011) 4632-0701/4634-1481
E-mail: administracion@lugones.com.ar
www.lugoneseditorial.com.ar

Año 26 • Volumen XXVI • N° 1 • Suplemento • Enero - junio de 2019

Imprenta: Sello Editorial Lugones® Editorial Biotecnológica S.R.L., Curapaligüe 202, 9° B (1406), CABA, Argentina

La presente edición está impresa en papel libre de cloro.

Tapa



Expresión de H4R en cortes de testículo normal en niños. Los cortes se obtuvieron de niños fallecidos por cardiopatías que no presentaban patologías de tipo endocrinológico y fueron clasificados según las características propuestas por Tanner para los distintos estadios de maduración sexual. **A-D)** G1, neonatal (< 1 mes de edad); G2, infantil (1 a 12 meses de edad); G3, juvenil (1 a 12 años de edad); G4, puberal (12-14 años de edad), respectivamente.

Comité Científico

Presidente

Dr. Gabriel Fiszbajn

Integrantes

Dr. Manuel Nölting

Dr. Sebastián Gogorza

Dra. Susana Kopelman

Dra. Nora Moses

Dra. Alicia Jawerbaum

Dr. Domingo Mugnolo

Dra. María Teresa Nofal

Dra. María Belén Pérez Lana

Dra. Claudia Peyrallo

Dra. Susana Pilnik

Directores de Cursos

Capacitación Superior

Buenos Aires

Dr. Sandra Demayo

Dra. Laura Mitelberg

Dra. Gabriela Pundyk

Dra. Karina Sternberg

Capacitación Superior

Córdoba

Dr. Natalio Kuperman

Dra. Viviana Mesch

Dra. Mónica Nãñez

Dra. Lorena Giannoni

I Curso Anual de Endocrinología

Ginecológica y Reproductiva

Ushuaia - Río Grande

Dr. Fabián Gomez Giglio

Dra. Adriana Monastero

Dra. Karina Tozzi

Dra. Carolina Yulán

Coordinadores de Cursos

De Buenos Aires

Dra. Yamile Mocarbel

Dra. María Alejandra Palma

Landeau

Dra. Valeria Servetti

De Ushuaia- Río Grande

Dra. Gisela Di Pietro

Dra. María Fernanda González de

Chazal

Dra. Valeria Servetti

De Córdoba

Dra. Vanina Drappa

Dra. Mariana Angeloni

Comité de Certificación y Recertificación

Coordinadoras

Dra. Alicia Jawerbaum

Dra. Roxana Reynoso

Miembros

Dr. Manuel Nölting

Dra. Viviana Mesch

Dra. Laura Mitelberg

Comunicación Institucional

Dra. Lorena Giannoni

Dra. Valeria Servetti

Filiales

Filial Sur

Directores:

Dr. Fabián Gómez Giglio

Dra. María José Iturria

Filial NOA

Directores:

Dr. Néstor Zurueta

Dr. Juan José Aguilera

Filial Litoral

Directores:

Dr. Héctor Miechi

Dra. Delia Oстера

Filial Cuyo. Sede San Juan

Directora: Dra. Graciela

Schabelman

Filial Córdoba Centro

Director: Dr. Natalio Kuperman

Sociedad Argentina de Endocrinología Ginecológica y Reproductiva

Viamonte 2660, piso 6°, of. D (C1056ABR), (C1057AAU), Ciudad de Buenos Aires, Argentina.

Tel.: (5411) 4961-0290. Email: saegre@saegre.org.ar. Sitio web: www.saegre.org.ar

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

- Diabetes mellitus gestacional: estudio de prevalencia, factores de riesgo y niveles de vitamina D en un grupo de mujeres de La Plata, Argentina 43
Ana M. Aristimuño, Juan A. Verna, María S. Martínez Methol, Lorena Maydana, María D. González, Mabel O. Straccia, Fernando D. Ventimiglia, Jorge J. Bruno, Liliana E. D'Agostino

ACTUALIZACIÓN

- Sistema histaminérgico testicular: consideraciones sobre el empleo de antihistamínicos y su potencial efecto en la reproducción masculina 54
Carolina Mondillo, María Luisa Varela, Adriana María Belén Abiuso

REVISIÓN

- Análisis genómicos aplicados a la reproducción 59
Guadalupe Buda, Sebastián A. Vishnopolka, Germán Biagioli, Marcelo A. Marti, Adrián G. Turjanski

ANÁLISIS CRÍTICOS POR EXPERTOS DE TRABAJOS SELECCIONADOS

- Definiendo los límites de detección de los rearrreglos cromosómicos en embriones preimplantatorios usando secuenciación de siguiente generación 65
Comentario: Dr. Cristian Alvarez Sedó

COMENTARIO BIBLIOGRÁFICO

- Aborto recurrente. Guía de la Sociedad Europea de Reproducción Humana y Embriología. Noviembre de 2017 67
Comentario sobre Causas endocrino-metabólicas de aborto recurrente: Dra. Mariana López
Comentario sobre Evaluación inmunológica: E. Grasso, S. Gori, E. Soczewski, L. Fernández, C. Pérez Leirós y R. Ramhorst

NOVEDAD

- Herencia biparental del ADN mitocondrial en seres humanos 82

INDEX

ORIGINAL ARTICLE

- *Gestational diabetes mellitus: prevalence study, risk factors and vitamin D levels in a group of women in La Plata, Argentina* 43
Ana M. Aristimuño, Juan A. Verna, María S. Martínez Methol, Lorena Maydana, María D. González, Mabel O. Straccia, Fernando D. Ventimiglia, Jorge J. Bruno, Liliana E. D'Agostino

UPDATE

- *Testicular histaminergic system: considerations on the use of antihistamines and their potential effects on male reproduction* 54
Carolina Mondillo, María Luisa Varela, Adriana María Belén Abiuso

REVIEW

- *Genomic techniques applied to reproductive biology* 59
Guadalupe Buda, Sebastián A. Vishnopolka, Germán Biagioli, Marcelo A. Marti, Adrián G. Turjanski

CRITICAL ANALYSIS OF SELECTED ARTICLES: EXPERTS' OPINIONS

- *Defining the limits of detection for chromosome rearrangements in the preimplantation embryo using next generation sequencing* 65
Comment: Dr. Cristian Alvarez Sedó

ARTICLE COMMENTS

- *Recurrent pregnancy loss. Guideline of the European Society of Human Reproduction and Embryology. November 2017* 67
Comment on *Endocrine and metabolic causes of recurrent pregnancy loss*: Dra. Mariana López
Comment on *Immunological evaluation*: E. Grasso, S. Gori, E. Soczewski, L. Fernández, C. Pérez Leirós y R. Ramhorst

NOVEL

- *Biparental inheritance of mitochondrial DNA in humans* 82

REGLAMENTO DE PUBLICACIONES

Generalidades

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

Los manuscritos deben tipearse a doble espacio en papel tamaño A4, en Word for Windows, fuente Times New Roman, tamaño 12, con márgenes de al menos 25 mm y una extensión máxima de 30 páginas.

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

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

• En Prensa

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

• Textos electrónicos, bases de datos y programas informáticos

7. 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://lcmrvel.loc.gov:70/00/about/history> [Consulta: 5 mayo 1997].

Las características de las citas electrónicas son:

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

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

• Abreviaturas y símbolos

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

• Tablas

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

• Ilustraciones y epígrafes

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

• Permisos

Se deberá incluir la leyenda: Conflicto de interés: ninguno o especificar el conflicto de interés existente. Todo material tomado de otras fuentes, incluyendo figuras y/o tablas, 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.

Diabetes mellitus gestacional: estudio de prevalencia, factores de riesgo y niveles de vitamina D en un grupo de mujeres de La Plata, Argentina

Gestational diabetes mellitus: prevalence study, risk factors and vitamin D levels in a group of women in La Plata, Argentina

Ana M. Aristimuno¹, Juan A. Verna², María S. Martínez Methol³, Lorena Maydana⁴, María D. González⁵, Mabel O. Straccia⁶, Fernando D. Ventimiglia⁷, Jorge J. Bruno⁸ y Liliana E. D'Agostino⁹

¹ Bioquímica Especialista en Endocrinología

² Bioquímica Especialista en Química Clínica

³ Bioquímica

⁴ Licenciada en Bioquímica Especialista en Hematología

⁵ Licenciada en Bioquímica

⁶ Bioquímica Especialista en Epidemiología, Especialista en Química Clínica

⁷ Doctor en Bioquímica, Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata, Provincia de Buenos Aires, Argentina

⁸ Licenciado en Bioquímica

⁹ Licenciada en Bioquímica Especialista en Inmunología

Laboratorio D'Agostino-Bruno S.R.L., La Plata, Provincia de Buenos Aires, Argentina

Contacto de la autora: Ana M. Aristimuno

E-mail: aaaristimuno@dagostino-bruno.com.ar

Correspondencia: Calle 14 N° 280, B1902CTL, La Plata, Provincia de Buenos Aires, Argentina

Recibido: 22/10/2018 Aceptado: 28/3/2019

Conflicto de interés: los autores declaran no tener conflicto de interés.

Resumen

La prevalencia de la diabetes mellitus gestacional (DMG) varía según diferentes criterios diagnósticos, etnias, edad y composición corporal. Los objetivos fueron: calcular la prevalencia de la DMG, analizar factores de riesgo para su desarrollo y evaluar niveles de 25-OHVitamina D (25-OHVD). Se realizó un estudio de corte transversal seleccionando a 493 mujeres embarazadas que concurren a realizar la prueba de tolerancia oral a la glucosa (PTOG). En un subgrupo de 120 pacientes se midió 25-OHVD. Las glucemias fueron analizadas con un autoanalizador Cobas c501Roche (Hitachi High-Technologies Corporation, Japón) y las 25-OHVD, con un equipo Architect i1000® (Abbott Laboratories Diagnostics, EE. UU).

Considerando los criterios de la Asociación Latinoamericana de Diabetes (ALAD), la prevalencia de DMG fue de 9,7% y, según la International Association of Diabetes and Pregnancy Study Groups (IADPSG), de 15,4%. Las pacientes diabéticas, a diferencia de las no diabéticas, presentaron valores más elevados de IMC al inicio del embarazo (IMCinicial) ($p = 0,012$) y en el momento de realizarse la PTOG (IMCactual) ($p = 0,006$), edad ($p = 0,038$) e hipertensión arterial (HTA) ($p = 0,000$). El análisis de regresión múltiple mostró asociación de DMG con la edad (OR: 1,067; IC: 1,002-1,137; $p = 0,043$) y con la HTA (OR: 2,937; IC: 1,226-7,034; $p = 0,016$). El valor medio de 25-OHVD fue $22,51 \pm 9,00$ ng/mL ($79,2\% < 30,00$ ng/mL y $20,8\% \geq 30,00$ ng/mL). Se halló una relación lineal inversa del IMCinicial $\beta = -0,215$; $R^2 = 0,046$; $p = 0,018$ e IMCactual $\beta = -0,238$; $R^2 = 0,057$; $p = 0,009$ con los niveles de 25-OHVD. No encontramos diferencia significativa en los niveles de 25-OHVD entre pacientes diabéticas y no diabéticas.

La prevalencia de DMG depende del criterio diagnóstico. La DMG estuvo relacionada con la edad y la HTA y no se asoció con los niveles de 25-OHVD.

Palabras clave: diabetes mellitus gestacional, hipertensión arterial, 25-OHVD, edad materna, índice de masa corporal.

Revista de la Sociedad Argentina de Endocrinología Ginecológica y Reproductiva 2019; Vol. XXVI N° 1 Supl. Enero - junio de 2019: 43-53

Abstract

The prevalence of gestational diabetes mellitus (GDM) varies due to different diagnostic criteria, ethnicity, age and body features. The goals were to calculate the prevalence of GDM, to analyze risk factors for their development and to evaluate levels of 25-OHvitamin D (25-OHVD). A cross-sectional study was conducted, we selected 493 pregnant women who were prescribed the oral glucose tolerance test (OGTT). In a subgroup of 120 patients, 25-OHVD was measured. The glycemias were analyzed in a Cobas c501Roche autoanalyzer (Hitachi High-Technologies Corporation, Japan) and the 25-OHVD with an Architect i1000® (Abbott Laboratories Diagnostics, USA).

Considering the criteria of the Latin American Diabetes Association (ALAD), the prevalence of GDM was 9.7% and according to the International Association of Diabetes and Pregnancy Study Groups (IADPSG) was 15.4%. Diabetic patients presented higher values than non-diabetic ones namely of BMI at the beginning of pregnancy (initial BMI) ($p = 0.012$) and at the time of the OGTT (current BMI) ($p = 0.006$), age ($p = 0.038$), and arterial hypertension (AH) ($p = 0.000$). Multiple regression analysis showed that GDM was related to age (OR: 1.067; CI: 1.002-1.137; $p = 0.043$) and to AH (OR: 2.937; CI: 1.226-7.034; $p = 0.016$). The mean value of 25-OHVD was 22.51 ± 9.00 ng/mL ($79.2\% < 30.00$ ng/mL and $20.8\% \geq 30.00$ ng/mL). An inverse linear relationship was found of the initial BMI $\beta = -0.215$; $R^2 = 0.046$; $p = 0.018$ and current BMI $\beta = -0.238$; $R^2 = 0.057$; $p = 0.009$ with the levels of 25-OHVD. We found no difference in 25-OHVD levels between diabetic and non-diabetic patients.

The prevalence of GDM depends on the diagnostic criteria. GDM was related to age and AH and was not associated with 25-OHVD levels.

Key words: gestational diabetes mellitus, arterial hypertension, 25-OHVD, maternal age, body mass index.

Revista de la Sociedad Argentina de Endocrinología Ginecológica y Reproductiva 2019; Vol. XXVI N° 1 Supl. Enero - junio de 2019: 43-53

INTRODUCCIÓN

La diabetes mellitus gestacional (DMG) es una condición de intolerancia a los hidratos de carbono de variada intensidad que comienza, o es reconocida por primera vez, durante el embarazo y es una de las complicaciones más comunes de este¹. Entre las complicaciones fetales de la DMG se incluyen macrosomía, distocia de hombro e hipoglucemia neonatal; entre los resultados adversos para la madre se pueden citar: mayor riesgo de parto por cesárea, preeclampsia e hipertensión durante el embarazo y también un significativo aumento en el riesgo de posterior desarrollo de diabetes tipo 2 (DM2). El diagnóstico oportuno y tratamiento de las mujeres con DMG reduce el riesgo de ocurrencia de al menos algunos de los efectos adversos².

La prevalencia de DMG varía a causa de diferentes criterios de tamizaje y diagnóstico, poblaciones, etnias, edad y composición corporal. La DMG es más común entre ciertos grupos étnicos, como afroamericanos, asiáticos, hispanos y mujeres nativas americanas, en comparación con mujeres blancas no hispanicas^{3,4}.

La incidencia de DMG aumentó significativamente de 5-6 a 15-20% tras adoptar el consenso de la IADPSG, principalmente a causa de que solo un valor anormal, y no dos, es suficiente para realizar el diagnóstico⁵. Las recomendaciones de la IADPSG son las primeras guías a gran escala basadas en la evidencia que correlacionan las concentraciones de glucosa materna con complicaciones del embarazo. Sin embargo, han sido motivo de controversias desde su publicación. La heterogeneidad en los criterios diagnósticos de DMG hace dificultoso su manejo óptimo, determinar la prevalencia con exactitud, establecer el riesgo de progresión a diabetes posparto, evaluar las posibles variaciones entre grupos étnicos y comparar los estudios publicados⁶.

Un aumento en la prevalencia de DMG también tiene implicancias en la prevención de DM2 en mujeres que han tenido DMG, debido a que aproximadamente el 50% de ellas desarrollan diabetes entre los 5 y 10 años después del parto⁷. El período posparto ofrece una oportunidad para estudiar a las mujeres en un estadio temprano de diabetes preexistente y aconsejarlas acerca de la prevención de la DM2⁸.

Mientras varios factores de riesgo de DMG se han identificado, incluyendo avanzada edad materna, obesidad, historia familiar de diabetes y etnia⁹, el modo en que estos factores de riesgo predisponen a la mujer a desarrollar DMG permanece como un área activa de investigación científica¹⁰.

La hipertensión gestacional o inducida en el embarazo es el desarrollo *de novo* de elevada presión sanguínea después de la semana 20 de gestación, sin la existencia de algunas de las anomalías que describen la preeclampsia (proteinuria, complicaciones multisistémicas, etc.) en una mujer previamente normotensa. El 25% de las mujeres con hipertensión gestacional desarrollan preeclampsia¹¹. A largo plazo, los desórdenes hipertensivos durante el embarazo (como también la DMG) predisponen a las madres a desórdenes cardiovasculares y metabólicos¹². La hipertensión crónica es aquella diagnosticada antes del embarazo o durante las primeras 20 semanas de gestación, o hipertensión que se diagnostica por primera vez durante el embarazo y no se resuelve a las 12 semanas posparto. La mayoría de las mujeres con hipertensión crónica tendrán una hipertensión leve y tienen bajo riesgo de complicaciones perinatales. La probabilidad de complicaciones aumenta en las mujeres con hipertensión severa o con enfermedad cardiovascular, renal o con patologías asociadas, especialmente trombofilias y lupus. El término hipertensión en el embarazo (o estado hipertensivo del embarazo) describe un amplio espectro de condiciones cuyo rango fluctúa entre elevaciones leves de la tensión arterial a hipertensión severa con daño de órgano blanco y grave morbilidad materno-fetal¹³.

Los trastornos hipertensivos afectan al 10% de los embarazos aproximadamente. Sus formas severas (preeclampsia y eclampsia) representan alrededor del 4,4% de todos los nacimientos. En el año 2010, en la Argentina, fueron la cuarta causa de muerte materna, con el 11% de todas las muertes. Durante 2011 la Razón de Mortalidad Materna (RMM) fue del 40 0/0000, de las cuales el 13,6% fueron atribuibles a trastornos hipertensivos del embarazo y puerperio^{14,15}.

Existe un gran interés en la vitamina D y sus potenciales efectos sobre los resultados del embarazo, incluyendo el crecimiento fetal, desórdenes hipertensivos y DMG¹⁶. Durante el embarazo y a través de la placenta se suministra al feto la vitamina D necesaria para una óptima mineralización del hueso fetal en desarrollo. Por ello, en este período van a tener lugar importantes cambios en el metabolismo del calcio y de la vitamina D que aseguren un aporte adecuado¹⁷. Al ser la 25-OHVD el único metabolito de la vitamina D que atraviesa la barrera placentaria para llegar al feto en desarrollo, las concentraciones plasmáticas de 25-OHVD fetales son

completamente dependientes de las concentraciones maternas circulantes, por lo que un adecuado nivel de esta hormona va a garantizar la síntesis de la 1,25(OH)₂Vitamina D (1,25[OH]₂VD) por el riñón fetal y asegurar un correcto desarrollo óseo del esqueleto fetal en el útero. Esto es debido a que la vitamina D favorece un adecuado aporte de calcio y fósforo al hueso en mineralización¹⁸. Las funciones no clásicas de la vitamina D han ganado atención por sus estrechas asociaciones entre deficiencia de vitamina D y DM2, enfermedad cardíaca, enfermedades autoinmunes y ciertos tipos de cáncer^{19,20}.

Si bien los estudios epidemiológicos han demostrado un consistente enlace entre deficiencia de vitamina D y un riesgo más elevado de DM2^{21,22} y la obesidad está fuertemente asociada con ambos, DMG⁸ y deficiencia de vitamina D^{19,23}, aún permanece sin dilucidar si la deficiencia de vitamina D contribuye a un riesgo materno de desarrollar DMG¹⁶. Los criterios establecidos por la *Endocrine Society* para definir el estado nutricional de vitamina D basado en los valores de 25-OHVD son: concentración adecuada o suficiencia: $\geq 30,00$ ng/mL, insuficiencia: 20,00-29,99 ng/mL, deficiencia: $< 20,00$ ng/mL²⁴. Es de gran importancia conocer qué grupos poblacionales pueden estar en riesgo de hipovitaminosis. Por esta razón, algunas autoridades sanitarias europeas han establecido cuáles son los grupos poblacionales en riesgo de déficit de vitamina D: embarazadas y mujeres en período de lactancia, niños menores de 5 años, adolescentes y personas mayores de 65 años²⁵.

Los objetivos del trabajo fueron: calcular la prevalencia de DMG en nuestro laboratorio teniendo en cuenta los criterios establecidos por la IADPSG y por la ALAD para su diagnóstico, evaluar si existen diferencias en las características antropométricas entre pacientes con DMG y no diabéticas y analizar asociaciones entre la presencia de DMG y factores de riesgo para su desarrollo.

Evaluar los valores de 25-OHVD en un grupo de pacientes, compararlos entre las diferentes estaciones del año y estudiar relaciones entre factores de riesgo para DMG y concentraciones de 25-OHVD.

MATERIALES Y MÉTODOS

Prueba de tolerancia oral a la glucosa (PTOG)

La prueba se realizó entre las 7:00 y las 9:00 con 8 a 12 horas de ayuno. Se les recomendó a las pacientes seguir una alimentación con dieta libre teniendo en cuenta un mínimo de 150 g de hidra-

tos de carbono/día y con actividad física normal durante 3 o más días previos al análisis⁴.

Durante el estudio se indicó permanecer en reposo, sin ingerir alimentos ni fumar. Fueron excluidas las pacientes que estuvieron recibiendo fármacos que modificaran la prueba, como corticoides, β -adrenérgicos, salicilatos, diuréticos y anticonvulsivantes, y aquellas que estuviesen cursando un proceso infeccioso.

Para establecer cuáles eran las pacientes que se encontraban en condiciones de realizar la prueba, se realizó una extracción de sangre en ayunas a fin de determinar el valor de glucemia basal por un método rápido. Además, se colectó una muestra para medir glucemia basal por el ensayo de rutina. Si el valor resultó ≥ 126 mg/dL por el método rápido, no se prosiguió con el estudio.

Las pacientes que presentaron niveles de glucemia en ayunas adecuados para realizar la PTOG (< 126 mg/dL) ingirieron 75 g de glucosa anhidra disuelta en 375 mL de agua a temperatura natural, la cual debió ingerirse en un lapso de 5 minutos. A los 120 minutos del comienzo de la ingestión de la solución se realizó una extracción de sangre para analizar el valor de glucosa postsobrecarga²⁶.

Debe tenerse en cuenta que no se realizaron extracciones de sangre a los 60 minutos posingesta de glucosa anhidra y, por lo tanto, no fue posible analizar la contribución de ese punto de corte a la prevalencia de DMG.

Muestras

Se utilizó sangre entera sin anticoagulante para medir glucosa en ayunas por el método rápido.

Las muestras basales y postsobrecarga se recogieron en tubos con gel acelerador de la coagulación Vacuette® (Greiner Bio-One International, Brasil). Todos los tubos se dejaron coagular durante 30 minutos a temperatura ambiente y fueron posteriormente centrifugados durante 15 minutos a 3600 rpm. Los sueros así obtenidos fueron procesados durante la mañana con las demás rutinas del laboratorio.

Población

Se realizó un estudio de corte transversal para el cual se seleccionaron 493 mujeres embarazadas que concurren al laboratorio para la realización de la PTOG.

A todas las candidatas a participar en el estudio se les solicitó su consentimiento informado para ser incluidas en el presente trabajo en forma

anónima y, para tal fin, se elaboró un cuestionario que respondieron mientras aguardaban el tiempo de espera de la prueba. Este incluía: edad, etnia, altura, peso (al inicio del embarazo y en el momento de realizar la prueba), semanas de gestación, antecedentes de DMG, haber tenido un niño en un embarazo previo $\geq 4,0$ kg, antecedentes familiares de DM, HTA, hábito de fumar, tipo de dieta e ingesta de medicación.

Con los datos de peso y altura se calcularon los índices de masa corporal (IMC) = peso (kg) / [altura (m)]² a fin de evaluar el grado de obesidad al inicio y en el momento de realizar la PTOG.

Para estudiar el estado nutricional de vitamina D, se seleccionaron al azar 120 pacientes, que se distribuyeron en 4 grupos de 30 individuos de acuerdo con las estaciones del año (otoño, invierno, primavera, verano). Se utilizó como criterio de exclusión la ingestión de complejos vitamínicos que pudiesen contener vitamina D.

Metodologías analíticas

Las glucemias en ayunas (método rápido) fueron analizadas inicialmente con un equipo ACCU-CHECK® Performa (Roche Diagnostics, EE. UU.), el cual se utilizó con el fin de obtener en forma rápida el nivel de glucosa en ayunas con reactivos del mismo fabricante. El coeficiente de variación analítico interensayo (CVa) fue 1,8%.

Las glucemias basales y posestímulo fueron analizadas en un autoanalizador Cobas c501Roche (Hitachi High-Technologies Corporation, Japón) con el método de la hexoquinasa con reactivos del mismo fabricante. Como control de calidad interno se utilizó el material Lyphocheck® Assayed Chemistry Control (Bio-Rad Laboratories, EE. UU.). Los CVa interensayo fueron: nivel normal 2,4% y nivel alto 2,2%. Se realizó el control de calidad externo a través del Programa de Evaluación Externa de la Calidad (PEEC-Fundación Bioquímica Argentina).

Las determinaciones de 25-OHVD se realizaron con un equipo Architect i1000® (Abbott Laboratories Diagnostics, EE. UU.) con el método de quimioluminiscencia utilizando reactivos del mismo fabricante. Se procesaron controles de calidad internos Architect 25-OHVD Controls (Abbott Diagnostics, Irlanda). Se evaluaron tres niveles: bajo, medio y alto y los CVa interensayo fueron 5,9; 5,1 y 4,4%, respectivamente. El control de calidad externo se realizó a través del Programa Internacional Buenos Aires de Asegu-

ramiento Externo de Calidad en Análisis Clínicos (PROGBA-CEMIC).

Definiciones

La PTOG se realiza preferentemente entre las semanas 24 y 28 de gestación. Según criterio médico y dependiendo de los recursos sanitarios, se recomienda indicar PTOG al inicio para descartar diabetes pregestacional no diagnosticada en pacientes con varios factores de riesgo de alto impacto para desarrollo de DMG y glucemia en ayunas normal. En caso de obtener un resultado normal, seguir el algoritmo de diagnóstico de DMG. Se recomienda reanalizar entre las 30 y 33 semanas a todas las embarazadas con factores de riesgo, priorizando a aquellas en quienes los mismos hayan aparecido durante el embarazo²⁷.

Criterios diagnósticos para diabetes mellitus gestacional

Debido a que la Sociedad Argentina de Diabetes (SAD) adhiere a los criterios de ALAD 2008 para el diagnóstico de DMG, esos fueron los puntos de corte adoptados en el presente trabajo (Tabla 1).

Criterio diagnóstico	Carga de glucosa (g)	Umbral de glucosa (mg/dL)			
		Ayunas	1 h	2 h	Valores alterados: n
ALAD 2008	75	100		140	1
IADPSG 2010**	75	92	180	153	1

Tabla 1: Criterios diagnóstico para DMG utilizados como referencia en el presente trabajo.

**Criterio adoptado por la OMS 2013 y por ADA (Asociación Americana de Diabetes) en 2011.

Análisis estadístico

El programa estadístico utilizado fue SPSS® Statistics® 21(IBM, EE. UU.) con el cual se estimaron estadísticos descriptivos y asociaciones entre las variables estudiadas. La presencia de HTA fue incluida en el modelo como una variable *dummy*. Las asociaciones entre variables se estudiaron mediante el análisis de regresión lineal múltiple y el análisis de regresión logística múltiple. En todos los casos se consideró que existían diferencias estadísticamente significativas para valores de $p < 0,05$.

RESULTADOS

La Tabla 2 muestra las características de la población estudiada según los resultados obtenidos en las encuestas y la prevalencia de los factores de riesgo presentados.

En la Tabla 3 pueden observarse las características antropométricas de las pacientes, las cuales tenían edades comprendidas entre 15 y 47 años.

Las pacientes acudieron a realizarse la PTOG en diferentes momentos de su embarazo, según prescripción médica, de las cuales 17 (3,4%) se encontraban entre 20 y 23 semanas, 423 (85,8%) entre 24 y 28 semanas y 53 (10,8%) entre 29 y 34 semanas, respectivamente.

Los valores de IMC al inicio del embarazo se encontraron entre 16,1 y 43,0 kg/m² y en el momento de realizarse la PTOG, entre 19,0 y 46,3 kg/m², lo cual evidencia amplios rangos de valores en ambos parámetros.

	n (%)
Etnia	
Caucásicas	350 (96,1%)
Africana	1 (0,3%)
Amerindias	13 (3,6%)
Perdidos	129
Hipertensión arterial	33 (6,7%)
Historia familiar de diabetes	190 (38,5%)
Hábito de fumar	32 (6,6%)
Perdidos	6
Diabetes gestacional en embarazo previo	16 (3,4%)
Perdidos	26
Niño > 4000 g	15 (3,4%)
Perdidos	46

Tabla 2: Características generales de la población estudiada.

Variable	n = 493
Edad (años)	33 ± 5
Semanas de embarazo	25,8 ± 2,5
IMC inicial (kg/m ²)	23,7 ± 4,5
IMC actual (kg/m ²)	26,4 ± 4,6
Ganancia de peso (kg)	7,0 ± 3,4
Glucosa basal (mg/dL)	83,5 ± 7,6
Glucosa poscarga (mg/dL)	103,1 ± 25,8

Tabla 3: Características antropométricas y niveles de glucemias en pacientes embarazadas. Valores expresados como media ± DE.

IMC actual: índice de masa corporal en el momento de realizarse la PTOG; IMC inicial: índice de masa corporal al inicio del embarazo; ganancia de peso: peso en el momento de realizarse la PTOG - Peso inicial; glucosa basal: glucosa medida en ayunas previo a la ingesta de sobrecarga de glucosa; glucosa poscarga: glucosa medida a las 2 horas posingesta de sobrecarga de glucosa.

Analizando los valores de IMC inicial, el 10,8% eran obesas (IMC ≥ 30,0), presentando un valor medio ± DE: 33,7 ± 3,3 kg/m² (IC 95%: 32,8-34,6). El 27,2% tenían sobrepeso/obesidad, con IMC ≥ 25,0. Valor medio ± DE: 29,6 ± 4,1 kg/m² (IC 95%: 28,9-30,3).

La Tabla 4 muestra los valores de prevalencia de DMG en la población estudiada según los criterios diagnósticos de ALAD e IADPSG. Teniendo en cuenta los criterios ALAD, la prevalencia de DMG fue de 9,7% de los cuales el 76,1% de las pacientes fueron diagnosticadas considerando el umbral postsobrecarga de glucosa. Sólo 2 mujeres excedieron ambos umbrales de glucemia simultáneamente.

Si se consideran los criterios establecidos por la IADPSG, la prevalencia de DMG fue de 15,4%, la mayor contribución a ese porcentaje correspondió a aquellas pacientes que sobrepasaron el umbral de la glucemia basal (85,3%); además, 8 pacientes mostraron niveles de glucosa basal y a las 2 horas postsobrecarga por encima de ambos límites conjuntamente.

Como se observa en la Tabla 5, considerando el criterio diagnóstico ALAD, los valores de IMC inicial ($p = 0,012$), IMC actual ($p = 0,006$) y la edad ($p = 0,038$) fueron significativamente mayores en las pacientes con DMG respecto de las no diabéticas. No se encontraron diferencias significativas en la ganancia de peso entre ambos grupos ($p = 0,715$).

De las 16 pacientes con DMG en un embarazo previo, 7 (43,8%) fueron diagnosticadas en el presente trabajo de DMG. Considerando la variable peso del niño al nacer > 4,0 kg en embarazos previos (15 mujeres), se observó que el 13,3% presentaron diagnóstico actual de DMG ($n = 2$).

De las 190 pacientes que expresaron tener un familiar en algún grado con DM, 16 (8,4%) fueron diagnosticadas de DMG; solo una paciente con hábito de fumar presentó DMG (3,1%).

Criterio diagnóstico	n = 493	Glucosa basal mg/dL ± DE	Glucosa poscarga mg/dL ± DE
ALAD 2008	No diabéticas	82,9 ± 6,7 n = 480	98,6 ± 20,7 n = 456
	Diabéticas	105,5 ± 7,3 n = 13	158,7 ± 16,1 n = 37
	Porcentaje de diabéticas	2,6%	7,5%
IADPSG 2010 (OMS 2013-ADA 2011)	No diabéticas	81,5 ± 5,6 n = 427	100,4 ± 22,3 n = 475
	Diabéticas	96,6 ± 5,7 n = 66	173,0 ± 10,8 n = 18
	Porcentaje de diabéticas	13,4%	3,7%

Tabla 4: Niveles de glucosa y porcentajes de DMG obtenidos al considerar los distintos criterios diagnósticos.

Entre las pacientes diabéticas gestacionales, 9 presentaron HTA (18,7%) y 24 no diabéticas tenían HTA (5,4%); la diferencia fue estadísticamente significativa ($p = 0,000$).

En el análisis de regresión múltiple (Tabla 6) pudo observarse que, si bien el R^2 fue bajo, los niveles de glucosa basal se relacionaron lineal y positivamente con la edad ($p = 0,000$) y con la presencia de HTA ($p = 0,002$). Los valores de glucosa poscarga presentaron también asociación lineal positiva con la edad de las pacientes ($p = 0,004$) y con la presencia de HTA ($p = 0,001$).

En la Tabla 7, el análisis de regresión logística múltiple demostró que el diagnóstico de DMG estuvo significativamente relacionado con la edad y con la presencia de HTA en las pacientes.

Se dividió a las pacientes en dos grupos etarios, < 35 años y ≥ 35 años a fin de estudiar los niveles de glucosa e IMC (Tabla 8). Si bien al comienzo del embarazo las pacientes presentaban un IMC discretamente diferente entre ambos

grupos ($p = 0,049$), cuando acudieron a realizarse la PTOG las mujeres mayores de 35 años tuvieron IMC ($p = 0,026$), niveles de glucosa basal ($p = 0,005$) y poscarga ($p = 0,031$) mayores.

El 23,9% de las pacientes < 35 años y el 32,8% de las > 35 años (OR = 1,551; IC 95%: 1,031-2,333; $p = 0,034$) presentaron sobrepeso/obesidad al inicio del embarazo.

Entre las embarazadas < 35 años, el 7,5% fueron diagnosticadas de DMG, mientras que entre las > 35 años, el 13,7% tuvieron DMG (OR = 1,947; IC 95%: 1,070-3,544; $p = 0,027$).

Se realizó el análisis de regresión logística múltiple para estudiar y cuantificar la relación entre la presencia de DMG y los factores de riesgo: HTA, historia familiar de DM y sobrepeso/obesidad. En las pacientes < 35 años los resultados demostraron asociación lineal positiva entre diagnóstico de DMG e HTA (OR: 3,958; IC 95%: 1,097-14,286; $p = 0,036$) y entre DMG y presencia de sobrepeso/obesidad (OR: 3,534; IC 95%: 1,489-8,389; $p = 0,004$), mientras que en las embarazadas ≥ 35 años solo hubo relación lineal positiva con HTA (OR: 4,208; IC 95%: 1,247-14,197; $p = 0,021$).

	No Diabéticas gestacionales n = 445	Diabéticas gestacionales n = 48	p
Ganancia de Peso (kg)	6,98 ± 3,21	7,23 ± 4,60	0,715
Edad (años)	33 ± 5	34 ± 6	0,038
IMC inicial (kg/m ²)	23,5 ± 4,3	25,7 ± 5,6	0,012
IMC actual (kg/m ²)	26,1 ± 4,4	28,5 ± 5,5	0,006

Tabla 5: Características antropométricas de pacientes embarazadas no diabéticas y diabéticas gestacionales. Valores expresados como media ± DE.

Ganancia de peso: peso al momento de realizarse la PTOG – peso inicial; IMC inicial: Índice de masa corporal al inicio del embarazo; IMC actual: índice de masa corporal al momento de realizarse la PTOG; Prueba de comparación de medias basada en la variable t-Student.

Variable dependiente	R ²	β (p-valor)			HTA
		Edad	IMC inicial	IMC actual	
Glucosa basal	0,123	0,161 (0,000)	ns	ns	0,133 (0,002)
Glucosa poscarga	0,057	0,128 (0,004)	ns	ns	0,146 (0,001)

Tabla 6: Análisis de regresión lineal múltiple de los efectos de la edad, IMC inicial e IMC actual sobre los niveles de glucosa basal y glucosa poscarga.

n = 493; Glucosa basal: glucosa medida en ayunas previo a la ingesta de sobrecarga de glucosa; glucosa poscarga: glucosa medida a las 2 horas posingesta de sobrecarga de glucosa; IMC actual: índice de masa corporal en el momento de realizarse la PTOG; IMC inicial: índice de masa corporal al inicio del embarazo; HTA: hipertensión arterial; R²: cuadrado del coeficiente de correlación; β: coeficiente de regresión parcial estandarizado.

Variable dependiente	OR; IC 95% (p-valor)			
	Edad	IMC inicial	IMC actual	HTA
Diabetes mellitus gestacional	1,067; 1,002-1,137 (0,043)	ns	ns	2,937; 1,226-7,034 (0,016)

Tabla 7: Análisis de regresión logística múltiple de los efectos de la edad, IMC inicial e IMC actual sobre la presencia de DMG.

n = 493; IMC actual: índice de masa corporal en el momento de realizarse la PTOG; IMC inicial: índice de masa corporal al inicio del embarazo; HTA: hipertensión arterial; OR: odds ratio.

	< 35 años n = 318	≥ 35 años n = 175	p
IMC inicial (kg/m ²)	23,4 ± 4,3	24,3 ± 4,8	0,049
IMC actual (kg/m ²)	26,0 ± 4,4	27,0 ± 4,8	0,026
Glucosa basal (mg/dl)	82,8 ± 7,7	84,8 ± 7,3	0,005
Glucosa poscarga (mg/dl)	101,2 ± 24,0	106,5 ± 28,7	0,031

Tabla 8: Niveles de IMC y de glucosa en pacientes < 35 años y ≥ 35 años. Valores expresados como media ± DE.

n = 493; IMC actual: índice de masa corporal en el momento de realizarse la PTOG; IMC inicial: índice de masa corporal al inicio del embarazo; glucosa basal: glucosa medida en ayunas previo a la ingesta de sobrecarga de glucosa; glucosa poscarga: glucosa medida a las 2 horas posingesta de sobrecarga de glucosa; prueba de comparación de medias basada en la variable t-Student.

Los niveles de 25-OHVD que se obtuvieron de las 120 pacientes estudiadas mostraron un valor medio de $22,51 \pm 9,00$ ng/mL, con un intervalo de medición entre 7,30 y 50,40 ng/mL. El 46,7% ($n = 56$) presentaron niveles $< 20,00$ ng/mL, 32,5% ($n = 39$) niveles $> 20,00$ y $< 30,00$ ng/mL y 20,8% ($n = 25$) $> 30,00$ ng/mL.

Los valores medios de 25-OHVD fueron significativamente mayores en el verano respecto del invierno ($p = 0,000$) y de la primavera ($p = 0,000$) y en el otoño respecto del invierno ($p = 0,002$). No hubo diferencias significativas entre los valores de verano y otoño (Figura 1).

Se realizó un análisis de regresión simple de los niveles de 25-OHVD y los valores de glucosa basal y poscarga, edad, IMC al inicio del embarazo e IMC en el momento de realizarse la PTOG. Solo se halló relación lineal inversa con el IMC inicial ($\beta = -0,215$; $R^2 = 0,046$; $p = 0,018$) y con el IMC en el momento de realizarse la PTOG ($\beta = -0,238$; $R^2 = 0,057$; $p = 0,009$).

Los valores medios de 25-OHVD fueron de $19,44 \pm 7,70$ ng/mL en las pacientes con $IMC > 25,0$ ($n = 38$) y de $24,03 \pm 9,20$ ng/mL en aquellas que presentaron $IMC < 25,0$ ($n = 82$), se observó una diferencia estadísticamente significativa ($p = 0,009$) entre ambos valores (Figura 2).

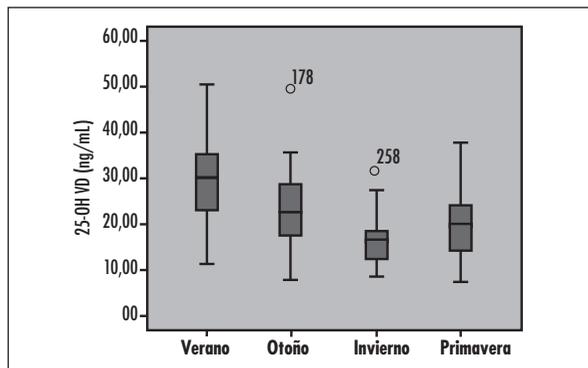


Figura 1: Distribución de niveles de 25-OHVD en las cuatro estaciones del año (valor medio \pm DE). $p = 0,000$ verano-invierno y verano-primavera; $p = 0,002$ otoño-invierno.

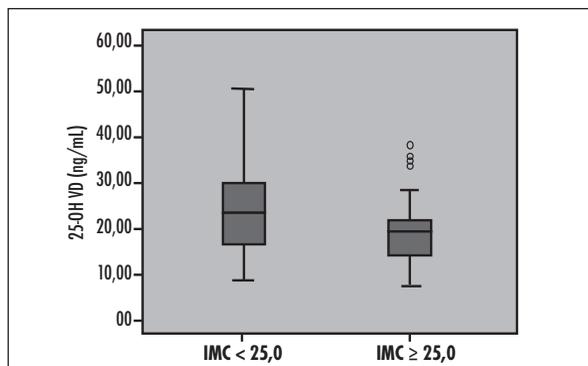


Figura 2: Distribución de valores de 25-OHVD (valor medio \pm DE) en pacientes con sobrepeso y con $IMC < 25,0$.

No se encontró diferencia significativa entre niveles de 25-OHVD y presencia de HTA ($n = 5$).

DISCUSIÓN

La prevalencia de DMG, adoptando los criterios diagnósticos establecidos por la IADPSG, fue 1,6 veces mayor respecto de los establecidos por ALAD 2008. Estos resultados estuvieron en concordancia con los obtenidos en otros estudios^{3,5}. Datos del estudio HAPO mostraron que la prevalencia de DMG aumentó un 42%, desde 11,3% con los criterios utilizados hasta ese momento a 16,1% con los establecidos por la IADPSG²⁸, mientras que en Australia los cambios observados fueron de 9,6 a 13,0%²⁹, muy similares a los obtenidos en este trabajo.

La amplitud en los intervalos de prevalencia registrados en la literatura refleja no solo la importancia de factores genéticos y ambientales en distintas poblaciones, sino también la falta de unificación de los criterios diagnósticos y estrategias de cribado de esta afección en todo el mundo^{30,31}. Aún permanece sin dilucidarse si el criterio diagnóstico más estricto de DMG establecido por la IADPSG puede ciertamente ayudar a detectar más individuos con riesgo más elevado de desarrollar diabetes mellitus en el futuro³². El aumento en la incidencia de DMG adoptando los criterios de la IADPSG tiene un impacto sobre los costos en el sistema de salud y las necesidades de infraestructura médica y comprende la potencial medicalización de embarazadas previamente categorizadas como normales³³. Los errores en la clasificación de mujeres con DMG resultarán en la instauración de terapia a muchas mujeres sin DMG y la ausencia de tratamiento a otras con DMG, lo que remarca la necesidad de una correcta clasificación³⁴.

Este escenario nos motivó a investigar los factores de riesgo de DMG en nuestra población de embarazadas, las relaciones entre estos y el diagnóstico de DMG, ya que se sabe que el tratamiento de DMG disminuye las posibles complicaciones generadas por la enfermedad³⁵ y puede ayudar a prevenir el futuro desarrollo de DM2³⁶. Esto hace posible considerar un balance entre potenciales efectos adversos generados por el test (ansiedad, estrés psicológico y futura percepción de salud) y potenciales beneficios considerando factores de riesgo individuales y discutiéndolos con cada paciente³⁷. Si bien en la Argentina el tamizaje para DMG se realiza en forma universal con la PTOG, algunos autores consideran que no existe suficiente evidencia de efectividad clínica

para implementar recomendaciones de tamizaje, además de la falta de métodos de ensayo y valores de corte universalmente aceptados³⁸.

Existe una serie de consideraciones para tener en cuenta cuando se analizan los resultados del trabajo realizado. Las pacientes que concurren habitualmente al laboratorio pertenecen a un nivel socioeconómico medio-medio alto y asisten a controles médicos y bioquímicos pregestacionales y gestacionales periódicos, lo cual pudo introducir sesgos en los resultados obtenidos. Las pacientes diabéticas presentaron mayor IMC tanto al inicio del embarazo como en el momento de la PTOG, lo cual se halla en concordancia con los datos bibliográficos^{8,39,40}; sin embargo, no hubo diferencia estadísticamente significativa entre diabéticas y no diabéticas al considerar la ganancia de peso obtenida en el mismo lapso de tiempo, lo cual puso de manifiesto cierto grado de intervención médica en el control del estado nutricional de las pacientes. Una limitación del estudio la constituye el hecho de que los datos de altura y peso de las pacientes no fueron medidos en forma directa por los autores, sino que fueron obtenidos por las respuestas de las pacientes en el cuestionario respondido por ellas mismas. Otra limitación es que se realizaron dos extracciones de sangre para evaluar los niveles de glucemia: la primera en ayunas y la segunda a los 120 minutos posingesta de la sobrecarga de glucosa anhidra, no se realizó la extracción que se menciona en el consenso de IADPSG a los 60 minutos posingesta. Este hecho pudo influenciar en los resultados de incidencia de DMG, ya que ese valor no se tuvo en cuenta.

Se sabe que el incremento de los malos hábitos alimentarios y la inactividad física que predomina hoy día en la población general, específicamente en la población en edad reproductiva, han aumentado la prevalencia de obesidad y trastornos del metabolismo de los carbohidratos; en las mujeres embarazadas estos eventos están ligados con el incremento de la prevalencia de DMG⁴¹. En un estudio realizado por Lindqvist et al., las mujeres obesas tuvieron un sustancial aumento del riesgo de DMG (OR: 4,14; IC 95%: 3,81-4,50) comparado con mujeres con peso normal⁴².

Según se menciona en las guías de diagnóstico y tratamiento de diabetes gestacional ALAD 2016⁴ como prevención de DMG, toda mujer embarazada obesa o con antecedentes de DMG, en especial si presenta glucemia en ayunas de 85-99 mg/dL en el primer control, debe tener un estricto segui-

miento con plan de alimentación y actividad física y sin intervención farmacológica, con el fin de prevenir el desarrollo de DMG^{4,43}. El monitoreo glucémico es el parámetro de control metabólico más importante durante el embarazo, ya que permite tomar conductas terapéuticas rápidamente. Su mayor utilidad se alcanza con educación y supervisión del cumplimiento⁴. En la población de embarazadas estudiada por nosotros, si bien el R² fue bajo, los niveles de glucosa basal se relacionaron lineal y positivamente con la edad ($p = 0,000$) y con la presencia de HTA ($p = 0,002$), de igual modo los valores de glucosa postsobrecarga oral presentaron relación lineal positiva con la edad de las pacientes ($p = 0,004$) y con la presencia de HTA ($p = 0,001$). En concordancia con estos resultados, la presencia de DMG estuvo significativamente relacionada con la edad (OR: 1,067; IC: 1,002-1,137; $p = 0,043$) y con la presencia de HTA en las pacientes (OR: 2,937; IC: 1,226-7,034; $p = 0,016$).

Se ha reportado previamente el aumento de la edad materna como un factor de riesgo para DMG^{42,44}. Nuestros datos concuerdan con estos datos bibliográficos.

Se sabe que la DMG es un importante contribuyente a la morbilidad materna. Las mujeres con DMG tienen mayor riesgo de desórdenes hipertensivos del embarazo⁴⁵, 7,4% mayor riesgo de padecer DM2 más tardíamente⁴⁶ y 2,2% mayor riesgo de desarrollar enfermedad cardiovascular a largo plazo comparado con las que tuvieron un embarazo normoglucémico⁴⁷. En una población de mujeres estudiadas por McKenzie-Sampson et al., las pacientes con DMG tuvieron mayor incidencia acumulativa de hospitalizaciones por enfermedad cardiovascular pasados 25 años del momento del parto, comparado con mujeres sin DMG, recomendando que las primeras deberían ser monitoreadas para prevenir la enfermedad cardiovascular luego del embarazo⁴⁸.

A fin de estudiar el factor de riesgo edad con mayor detalle, dividimos a las pacientes en dos grupos etarios: < 35 años y > 35 años. Las embarazadas > 35 años tuvieron mayor IMC en el momento de realizarse la PTOG ($p = 0,026$), niveles más elevados de glucosa basal ($p = 0,005$) y postsobrecarga ($p = 0,031$) que las menores de 35 años. El 32,8% de las pacientes > 35 años presentaron sobrepeso/obesidad con IMC al inicio > 25,0 (OR = 1,551; IC 95%: 1,031-2,333; $p = 0,034$) y el 13,7% tuvieron DMG (OR = 1,947; IC 95% 1,070-3,544; $p = 0,027$), siendo ambos porcentajes mayores que en el grupo de las < 35 años.

Resultados similares fueron reportados por Lindqvist et al., quienes hallaron un OR 1,79 veces más elevado (IC 95%: 1,15-1,95) de DMG para edad materna > 35 años comparado con edad materna < 35 años⁴².

El valor medio de 25-OHVD fue de 22,51 ± 9,00 ng/mL, el cual se encontró dentro de niveles de insuficiencia (> 20,00 ng/mL y < 30,00 ng/mL), según los criterios establecidos por la *Endocrine Society*. El 79,2% de las 120 pacientes a las cuales se les midió 25-OHVD presentaron valores < 30,00 ng/mL y el 46,7% fueron deficientes, definido como concentración de 25-OHVD < 20,00 ng/mL y el 32,5% mostraron insuficiencia en 25-OHVD. Niveles suficientes de 25-OHVD con concentraciones > 30,00 ng/mL estuvieron presentes en el 20,8% de las mujeres. Estos resultados son similares a los publicados por otros autores en la República Argentina⁴⁹⁻⁵¹. Es de gran importancia tener en cuenta que el feto en desarrollo va a depender de las reservas maternas de 25-OHVD, por lo que las madres deficientes en 25-OHVD expondrán a sus hijos en crecimiento a un ambiente deficiente en vitamina D, con la consecuente hipovitaminosis en el nacimiento e infancia temprana⁵².

Las mujeres con sobrepeso/obesidad (IMC inicial > 25,0) presentaron valores de 25-OHVD significativamente menores que aquellas con IMC inicial < 25,0 ($p = 0,009$). Se sabe que una de las causas de deficiencia es la obesidad, debido a que la grasa corporal secuestra la 25-OHVD reduciendo su biodisponibilidad, lo cual se asocia a la naturaleza liposoluble de esta vitamina⁵³⁻⁵⁵.

En nuestro grupo de estudio, no se observó relación lineal de los niveles de 25-OHVD con la edad, en coincidencia con el trabajo de Mansur et al., ni con los niveles de glucemia⁵¹.

Tampoco hallamos diferencia estadísticamente significativa entre los valores de 25-OHVD en pacientes con DMG y sin DMG. Baker et al. reportaron que las mujeres con deficiencia de vitamina D en etapas tempranas del embarazo no presentaron un significativo mayor riesgo de DMG comparado con las mujeres que no tuvieron deficiencia (OR: 0,78; IC: 0,22-2,78)⁵⁶. Similarmente, otros autores no observaron asociaciones entre la deficiencia de vitamina D y el riesgo de DMG en estudios realizados en Corea, norte de Inglaterra y Australia⁵⁷⁻⁶⁰. Sin embargo, otros estudios han hallado asociación entre bajas concentraciones de 25-OHVD y presencia de DMG^{54,61}. Las inconsistencias en los resultados reportados pueden

deberse, al menos en parte, al momento estacional en que se realiza la medición de vitamina D, diferencias en los ensayos utilizados para medir las concentraciones de 25-OHVD, inadecuado/inconsistente análisis de influencia de variables que pueden actuar como confundidores y diferencias en los criterios utilizados para el diagnóstico de DMG⁵⁴. La asociación entre vitamina D y su rol específico en el desarrollo de DMG es controvertida y amerita más investigaciones⁶².

Una limitación del presente trabajo lo constituyó el hecho de haber medido el nivel de 25-OHVD en un único momento del embarazo, cuando las pacientes concurren a realizar la PTOG, lo cual no nos permitió conocer el estatus de vitamina D en forma integrada a lo largo del curso del período gestacional.

Los requerimientos de vitamina D durante el embarazo son desconocidos. Debido a que las concentraciones de 25-OHVD son dependientes del estado nutricional materno de vitamina D, debería prevenirse su deficiencia durante el embarazo a fin de proteger el desarrollo esquelético fetal^{63,64}. Es cuestionable la utilización de los mismos puntos de corte para 25-OHVD en mujeres embarazadas y en no embarazadas adultas⁶³, por lo que se necesitan puntos de corte específicos para embarazadas⁶⁵.

CONCLUSIONES

La prevalencia de DMG, adoptando los criterios diagnósticos establecidos por la IADPSG, fue más elevada respecto de los considerados por ALAD 2008, debido a que los primeros son más exigentes, especialmente en el valor umbral adoptado para la glucosa en ayunas. Los principales factores de riesgo asociado a DMG en esta población fueron la edad y la presencia de HTA. Es importante destacar que el 43,8% de las pacientes que respondieron positivamente haber tenido antecedentes de DMG presentaron la patología en este estudio.

Una amplia mayoría de las pacientes estudiadas (79,2%) presentaron niveles de insuficiencia/deficiencia de 25-OHVD. Este hallazgo remarca la importancia de obtener valores de referencia para esta vitamina en embarazadas.

REFERENCIAS

1. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2014;37(suppl1):S81-90.
2. Donovan L, Hartling L, Muise M, Guthrie A, Vandermeer B,

- Dryden DM. Screening tests for gestational diabetes: a systematic review for the U.S. Preventive Services Task Force. *Ann Intern Med* 2013;159(2):115-22.
3. Vandorsten JP, Dodson WC, Espeland MA, Grobman WA, Guise JM, Mercer BM, et al. NIH consensus development conference: diagnosing gestational diabetes mellitus. *NIH Consens State Sci Statements* 2013;29(1):1-31.
 4. Salzberg S, Alvaríñas J, López G, Gorbán de Lapertosa S, Linari M, Falcón E, et al. Guías de diagnóstico y tratamiento de diabetes gestacional. *ALAD* 2016. *Rev ALAD* 2016; 6:155-69.
 5. American Diabetes Association. Standards of Medical Care in Diabetes-2017. *Diabetes Care* 2017;40(suppl1):S1-135.
 6. Sacks D. Diagnosis of Gestational Diabetes Mellitus: It is time for International Consensus. *Clinical Chemistry* 2014;60(1):141-3.
 7. Kim C, Newton KM, Knopp RH: Gestational diabetes and the incidence of type 2 diabetes: a systematic review. *Diabetes Care* 2002;25:1862-8.
 8. Chu S, Callaghan W, Kim S, Schmid C, Lau J, England L, et al. Maternal obesity and risk of gestational diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2007;30(8):2070-6.
 9. Bardenheier BH, Elixhauser A, Imperatore G, Devlin HM, Kuklina EV, Geiss LS, et al. Variation in prevalence of gestational diabetes mellitus among hospital discharges for obstetric delivery across 23 States in the United States. *Diabetes Care* 2013;36:1209-14.
 10. Harlev A, Wiznitzer A. New insights on glucose pathophysiology in gestational diabetes and insulin resistance. *Curr Diab Rep* 2010;10:242-7.
 11. Tranquilli AL, Dekker G, Magee L, Roberts J, Sibai BM, Steyn W, et al. The classification, diagnosis and management of the hypertensive disorders of pregnancy: a revised statement from the ISSHP. *Pregnancy Hypertens.* 2014;4(2):97-104.
 12. Valdés G, Quezada F, Marchant E, von Schultendorff A, Morán S, Padilla O, et al. Association of remote hypertension in pregnancy with coronary artery disease: a case-control study. *Hypertension* 2009;53:733-8.
 13. Ministerio de Salud de la República Argentina. Dirección Nacional de Maternidad e Infancia. Guía para el diagnóstico y tratamiento de la Hipertensión en el Embarazo. Segunda edición. 2010:1-32.
 14. Ministerio de Salud de la Nación República Argentina. Métodos Anticonceptivos. Guía práctica para profesionales de la salud. Documento de Trabajo 2012:1-293.
 15. Ministerio de Salud de la República Argentina. Dirección Nacional de Maternidad e Infancia. Subsecretaría de Salud Comunitaria. Recomendaciones para la Práctica del Control preconcepcional, prenatal y puerperal. Primera Edición. 2013:1-163.
 16. Burris H, Camargo C. Vitamin D and gestational diabetes mellitus. *Curr Diab Rep* 2014;14(1):451.
 17. Hollis BW, Wagner CL. Vitamin D and pregnancy: Skeletal effects, nonskeletal effects, and birth outcomes. *Calcif Tissue Int* 2013;92(2):128-39.
 18. Cooper C, Javaid K, Westlake S, Harvey N, Dennison E. Developmental origins of osteoporotic fracture: the role of maternal Vitamin D insufficiency. *J Nutr* 2005;135(11):2728-34.
 19. Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med* 2007;357:266-81.
 20. Holick MF, Chen TC. Vitamin D deficiency: A worldwide problem with health consequences. *Am J Clin Nutr* 2008;87(suppl):1080S- 6S.
 21. Pittas AG, Lau J, Hu FB, Dawson-Hughes B. The role of vitamin D and calcium in type 2 diabetes. A systematic review and meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92:2017-29.
 22. Ozfirat Z, Chowdhury TA. Vitamin D deficiency and type 2 diabetes. *Postgrad Med J* 2010;86(1011):18-25;quiz 24.
 23. Cheng S, Massaro JM, Fox CS, Larson MG, Keyes MJ, McCabe EL, et al. Adiposity, cardiometabolic risk, and vitamin D status: the Framingham Heart Study. *Diabetes* 2009;59:242-8.
 24. Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, et al. Evaluation, treatment and prevention of Vitamin D deficiency: an Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 2011;96(7):1911-30.
 25. Vitamin D: implementation of existing guidance to prevent deficiency [Internet]. United Kingdom: NICE (National Institute for Health and Clinical Excellence). 2013. Recuperado a partir de: <https://www.nice.org.uk/guidance/ph56/documents/implementing-Vitamin-D-guidance-final-scope-2>
 26. Sacks DB, Bruns DE, Goldstein DE, Maclaren NK, McDonald JM, Parrott M. Guidelines and recommendations for laboratory analysis in the diagnosis and management of diabetes mellitus. *Clin Chem* 2002;48(3):436-72.
 27. Ministerio de Salud. Gobierno de Chile. Guía Diabetes y Embarazo. Disponible en: http://www.minsal.cl/wp-content/uploads/2015/11/Guia-diabetes-y-embarazo_web-14-11-2014.pdf
 28. HAPO Study Cooperative Research Group, Metzger BE, Lowe LP, Dyer AR, Trimble ER, Chaovarindr U Coustan DR, et al. Hyperglycemia and adverse pregnancy outcomes. *N Engl J Med* 2008;358(19):1991-02.
 29. Moses RG, Morris GJ, Petocz P, San Gil FS, Garg D. The impact of potential new diagnostic criteria on the prevalence of gestational diabetes mellitus in Australia. *Med J Aust* 2011;194(7):338-40.
 30. González-Ruiz M, Rodríguez-Bandala C, Salcedo Vargas M, Martínez-Lara E, Enríquez-Espinoza F, Polo-Soto S, et al. Actualidades en diabetes gestacional. *Rev Sanid Milit Mex* 2014;68(5):276-82.
 31. American Diabetes Association. Standards of Medical Care in Diabetes-2015. *Diabetes Car* 2015;38(suppl1):S1-90.
 32. Fukatsu M, Takai Y, Matsunaga S, Era S, Ono Y, Saito M, et al. Diagnosis and potential management of gestational diabetes mellitus using the International association of diabetes and pregnancy study groups criteria. *J Obstet Gynaecol Res* 2017;43(2):272-80.
 33. American Diabetes Association. Standards of Medical Care in Diabetes-2018. *Diabetes Care* 2018;41(suppl1):S1-159.
 34. Agarwal MM. Gestational diabetes mellitus: an update on the current international diagnostic criteria. *World J Diabetes* 2015;6(6):782-91.
 35. Hartling L, Dryden DM, Guthrie A, Muise M, Vandermeer B, Donovan L. Benefits and harms of treating gestational diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis for the U.S. Preventive Services Task Force and the National Institutes of Health Office of Medical Applications of Research. *Ann Intern Med* 2013;159:123-9.
 36. Feig DS, Zinman B, Wang X, Hux JE. Risk of development of diabetes mellitus after diagnosis of gestational diabetes. *CMAJ.* 2008;179:229-34.
 37. Prutsky G, Domecq J, Sundaresh V, Elraiyah T, Nabhan M, Prokop L, et al. Screening for gestational diabetes: a systematic review and meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab* 2013;98(11):4311-8.

38. Buckley B, Harreiter J, Damm P, Corcoy R, Chico A, Simons D, et al. Gestational diabetes mellitus in Europe: prevalence, current screening practice and barriers to screening. A review. *Diabet Med* 2012;29:844-54.
39. Bozkurt L, Göbl C, Pfligl L, Leitner K, Bancher-Todesca D, Luger A, et al. Pathophysiological characteristics and effects of obesity in women with early and late manifestation of gestational diabetes diagnosed by the International Association of diabetes and pregnancy study groups criteria. *J Clin Endocrinol Metab* 2015;100(3):1113-20.
40. Black MH, Sacks DA, Xiang AH, Lawrence JM. The relative contribution of prepregnancy overweight and obesity, gestational weight gain, and IADPSG defined gestational diabetes mellitus to fetal overgrowth. *Diab Care* 2013;36:56-62.
41. Medina Pérez EA, Sánchez-Reyes A, Hernández- Peredo AR, Martínez-López MA, Jiménez-Flores CN, Serrano-Ortiz I, et al. Diabetes gestacional. Diagnóstico y tratamiento en el primer nivel de atención. *Med Int Méx.* 2017;33(1):91-8.
42. Lindqvist M, Persson M, Lindkvist M, Mogren I. No consensus on gestational diabetes mellitus screening regimes in Sweden: pregnancy outcomes in relation to different screening regimes 2011 to 2012, a cross-sectional study. *BMC Pregnancy Childbirth* 2014;14:185.
43. Koivusalo SB. Gestational Diabetes Mellitus can be prevented by lifestyle intervention: The finish gestational diabetes prevention study (RADIEL) a randomized controlled trial. *Diabetes Care.* 2016;39(1):24-30.
44. Carolan M, Davey MA, Biro MA, Kealy M. Maternal age, ethnicity and gestational diabetes mellitus. *Midwifery* 2012;28(6):778-83.
45. Bryson CL, Ioannou GN, Rulyak SJ, Critchlow C. Association between Gestational Diabetes and Pregnancy-induced Hypertension. *Am J Epidemiol* 2003;158:1148-53.
46. Bellamy L, Casas JP, Hingorani AD, Williams D. Type 2 diabetes mellitus after gestational diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Lancet* 2009;373:1773-9.
47. Fadl H, Magnuson A, Östlund I, Montgomery S, Hanson U, Schwarcz E. Gestational diabetes mellitus and later cardiovascular disease: a Swedish population based case-control study. *BJOG* 2014;121:1530-6.
48. McKenzie-Sampson S, Paradis G, Healy-Profittós J, St-Pierre F, Auger N. Gestational diabetes and risk of cardiovascular disease up to 25 years after pregnancy: a retrospective cohort study. *Acta Diabetol* 2018;55(4):315-22.
49. Giacoia E, Vidal Armijo O, Seleme S, Cabrera S, Rodriguez P, Bacchini V. Prevalencia de hipovitaminosis D en una población de pacientes embarazadas de alto riesgo. [abstract n°. 78]. En: Programa y Comunicaciones orales XVIII Congreso de SAEM. 6-9 de noviembre de 2013. RAEM. 2013;50(Supl.):126.
50. Mansur J. Nivel de 25 OH Vit D en embarazadas [abstract n°. 81]. En: Programa y Comunicaciones orales XVIII Congreso de SAEM. 6-9 de noviembre de 2013. RAEM 2013;50(Supl.):129.
51. Mansur JL, Giacoia E, Costanzo PR. Variación estacional de los niveles de vitamina D y su relación con la obesidad en una población de embarazadas de alto riesgo [abstract n°. 12]. En: Programa y Comunicaciones orales 1° Congreso de Osteología AAOMM- SAO. 27 al 29 de octubre de 2016. Actualizaciones en Osteología 2016;12(supl D):42.
52. Hollis BW, Wagner CL. Assessment of dietary Vitamin D requirements during pregnancy and lactation. *Am J Clin Nutr* 2004;79:717-26.
53. Wortsman J, Matsuoka LY, Chen TC, Lu Z, Holick MF. Decreased bioavailability of Vitamin D in obesity. *Am J Clin Nutr* 2000;72(3):690-3.
54. Arnold D, Enquobahrie D, Qiu C, Huang J, Grote N, Vander-Stoep A, et al. Early Pregnancy Maternal Vitamin D Concentrations and Risk of Gestational Diabetes Mellitus. *Paediatr Perinat Epidemiol* 2015;29(3):200-10.
55. Rodríguez-Dehli AC, Riaño Galán I, Fernández-Somoano A, Navarrete-Muñoz EM, Espada M, Vioque J, et al. Prevalencia de deficiencia e insuficiencia de Vitamina D y factores asociados en mujeres embarazadas del norte de España. *Nutr Hosp* 2015;31(4):1633-40.
56. Baker AM, Haeri S, Camargo CA, Stuebe AM, Boggess KA. First-trimester maternal vitamin D status and risk for gestational diabetes (GDM) a nested case-control study. *Diabetes Metab Res Rev* 2012;28:164-8.
57. Park S, Yoon H-K, Ryu H-M, Han YJ, Lee SW, Park BK, et al. Maternal vitamin D deficiency in early pregnancy is not associated with gestational diabetes mellitus development or pregnancy outcomes in Korean pregnant women in a prospective study. *J Nutr Sci Vitaminol* 2014;60:269-75.
58. Schneuer FJ, Roberts CL, Gulbert C, Simpson JM, Algert CS, Khambalia AZ, et al. Effects of maternal serum 25-hydroxyvitamin D concentrations in the first trimester on subsequent pregnancy outcomes in an Australian population. *Am J Clin Nutr* 2014;99:287-95.
59. Whitelaw DC, Scally AJ, Tuffnell DJ, Davies TJ, Fraser WD, Bhopal RS, et al. Associations of circulating calcium and 25-hydroxyvitamin D with glucose metabolism in pregnancy: a cross-sectional study in European and South Asian women. *J Clin Endocrinol Metab* 2014;99:938-46.
60. Hauta-alus H, Viljakainen H, Holmlund-Suila E, Enlund-Cerullo M, Rosendahl J, Valkama S, et al. Maternal vitamin D status, gestational diabetes and infant birth size. *BMC Pregnancy Childbirth* 2017;17:420.
61. Xu C, Ma HH, Wang Y. Maternal early pregnancy plasma concentration of 25-hydroxyvitamin d and risk of gestational diabetes mellitus. *Calcif Tissue Int* 2018;102(3):280-6.
62. Verburg P, Tucker G, Scheil W, Erwich J, Dekker G, Roberts C. Seasonality of gestational diabetes mellitus: a South Australian population study. *BMJ Open Diabetes Research Care* 2016;4:e000286.
63. Brannon PM, Picciano MF. Vitamin D in pregnancy and lactation in humans. *Annu Rev Nutr* 2011;31:89-115.
64. Munns CF, Shaw N, Kiely M, et al. Global consensus recommendations on prevention and management of nutritional rickets. *J Clin Endocrinol Metab* 2016;101:394-415.
65. Kiely M, Hemmingway A, O'Callagh K. Vitamin D in pregnancy: current perspectives and future directions. *Ther Adv Musculoskel Dis* 2017;9(6):145-54.

Sistema histaminérgico testicular: consideraciones sobre el empleo de antihistamínicos y su potencial efecto en la reproducción masculina

Testicular histaminergic system: considerations on the use of antihistamines and their potential effects on male reproduction

Carolina Mondillo, María Luisa Varela y Adriana María Belén Abiuso

Laboratorio de Endocrinología Molecular y Transducción de Señales, Instituto de Biología y Medicina Experimental (IBYME-CONICET), Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

Contacto de la autora: Carolina Mondillo

E-mail: carolina.mondillo@gmail.com

Correspondencia: Vuelta de Obligado 2490 (C1428ADN), Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

Recibido: 30/5/2019 Aceptado: 30/6/2019

Conflicto de interés: las autoras declaran no tener conflicto de interés.

Resumen

La histamina (HA) es una amina biógena para la que se han informado más de 20 funciones biológicas. Tal diversidad funcional se debe, en parte, a su capacidad de unión a cuatro subtipos de receptores (H1R, H2R, H3R y H4R), todos ellos pertenecientes a la familia de receptores de siete pasos transmembrana acoplados a proteínas G (GPCR) y asociados a distintas vías de señalización intracelular. Teniendo en cuenta la diversidad de síndromes asociados con la HA, en los últimos años se han introducido en la clínica una amplia variedad de compuestos antihistamínicos para su tratamiento, muchos de ellos de venta libre. El presente trabajo hace particular hincapié en los potenciales efectos negativos de los antihistamínicos (antagonistas de H1R y H2R) sobre distintos aspectos de la función reproductiva masculina. Por otro lado, se muestra aquí por primera vez la expresión de H4R a lo largo del desarrollo testicular normal y se describen los efectos de la activación selectiva de ese receptor sobre la funcionalidad de las células de Leydig. Si bien resta profundizar el conocimiento actual acerca del papel del sistema histaminérgico testicular, las evidencias científicas que aquí se describen son suficientes para plantear que la evaluación de los posibles efectos de las drogas histaminérgicas sobre la salud sexual y reproductiva debería incorporarse en los estudios clínicos a fin de ampliar las oportunidades para el diseño racional de medicamentos dirigidos al tratamiento de patologías relacionadas con la HA y que tengan mínimo o nulo impacto negativo sobre la fertilidad.

Palabras clave: receptores histaminérgicos, testículo, antihistamínicos, esteroidogénesis.

Abstract

Histamine (HA) is a biogenic amine with more than 20 biological functions. Such functional diversity is due, in part, to its ability to bind to four receptor subtypes (H1R, H2R, H3R and H4R), all of which belong to the family of seven transmembrane receptors coupled to G proteins (GPCR) and are associated with different intracellular signaling pathways. Considering the diversity of syndromes associated with HA, in recent years a wide variety of anti-histamine compounds have been introduced in the clinics for the treatment of these diseases, many of which are over-the-counter. The present update specifically addresses the potential negative effects of antihistamines (antagonists of H1R and H2R) on different aspects of male reproductive function. On the other hand, the expression of H4R throughout normal testicular development is shown here for the first time, as well as the effects of H4R selective activation on Leydig cell function. Although our current knowledge about the role of the testicular histaminergic system needs to be deepened, the scientific evidence described here is sufficient to recommend that the evaluation of the possible effects of histaminergic drugs on sexual and reproductive health is incorporated into clinical studies, in order to expand the opportunities for the rational design of drugs aimed at treating HA-related pathologies with minimum or null negative impact on fertility.

Key words: histaminergic receptors, testes, antihistamines, steroidogenesis.

Revista de la Sociedad Argentina de Endocrinología Ginecológica y Reproductiva 2019; Vol. XXVI N° 1 Supl. Enero - junio de 2019: 54-59

Revista de la Sociedad Argentina de Endocrinología Ginecológica y Reproductiva 2019; Vol. XXVI N° 1 Supl. Enero - junio de 2019: 54-59

INTRODUCCIÓN

La histamina (HA) es una de las biomoléculas más pequeñas presentes en el organismo. Está compuesta por un anillo imidazólico y un grupo etilamino como cadena lateral. Esta amina biógena es sintetizada a partir del aminoácido L-histidina, a través de una reacción de descarboxilación catalizada por la L-histidina descarboxilasa (HDC), única enzima productora de HA en los mamíferos¹. A la HA se le han adjudicado más de 20 funciones biológicas desde su descubrimiento en 1910 hasta la actualidad. Tal diversidad funcional se debe, en parte, a su capacidad de unión a cuatro subtipos de receptores (H1R, H2R, H3R y H4R), todos ellos pertenecientes a la familia de

receptores de siete pasos transmembrana acoplados a proteínas G (GPCR) y asociados a distintas vías de señalización intracelular. Así, la respuesta final de la HA sobre sus células blanco dependerá del patrón de receptores histaminérgicos que esas células expresen en su membrana. Teniendo en cuenta la diversidad de síndromes asociados con la HA, en los últimos años se han introducido en la clínica una amplia variedad de compuestos antihistamínicos para su tratamiento, en particular antagonistas de H1R y H2R como loratadina, desloratadina, cimetidina, ranitidina, nizatidina y famotidina, entre otros². Sin embargo, tanto los profesionales de la salud como los pacientes deberían contemplar que el uso indiscriminado de

antihistamínicos podría tener efectos secundarios a largo plazo en los diversos órganos blanco de la HA. En este sentido, el presente trabajo de revisión hace particular hincapié en los potenciales efectos de los antihistamínicos H1R y H2R sobre distintos aspectos de la función reproductiva masculina. Por otro lado, se muestra aquí por primera vez la expresión de H4R a lo largo del desarrollo testicular humano y se describen los efectos de la activación de ese receptor sobre la funcionalidad de las células de Leydig. El incremento sostenido en el número de publicaciones y solicitudes de patente relacionadas con H4R^{3,4} desde su descubrimiento hasta la fecha subraya la importancia de abordar este tema.

BLANCOS DE ACCIÓN DE LA HISTAMINA A TRAVÉS DE RECEPTORES CLÁSICOS H1R Y H2R EN EL TESTÍCULO

La evidencia científica reunida hasta el momento indica la presencia de receptores H1R y H2R funcionales en las células de Leydig de ratón, rata, ser humano y en el vertebrado ectotérmico *Hemidactylus flaviviridis*⁵⁻¹⁰. En concordancia con estos hallazgos, se ha informado que la HA ejerce un efecto bifásico sobre la esteroidogénesis en la línea de células de Leydig tumorales de ratón MA-10 y en células de Leydig normales de rata, mientras que la HA en concentraciones del orden nanomolar induce la síntesis de esteroides basal y, estimulada por la hormona luteinizante (LH)/gonadotrofina coriónica humana (hCG), concentraciones micromolares de esa amina muestran un potente efecto antiesteroidogénico⁶. Con base en estos resultados y otros posteriores⁶⁻⁹, el efecto estimulador de la HA sobre la esteroidogénesis estaría mediado principalmente por la activación de H2R y el consecuente incremento en los niveles intracelulares de AMPc, mientras que la reducción de los niveles de esteroides implicaría la activación de H1R, el acoplamiento de este receptor a una proteína Gq, la estimulación de la ruta de la fosfolipasa

C (PLC)/inositol 1,4,5-trifosfato (IP₃) y un aumento de la actividad de la enzima óxido nítrico sintasa (NOS)^{2,8}. Además de las células de Leydig, las células germinales, las células peritubulares y los macrófagos de diferentes especies expresan receptores H1R y/o H2R y, por lo tanto, son potenciales blancos de acción de la HA producida localmente^{5,9}. Al respecto, como se observó en las células de Leydig, la HA ejerce un efecto modulador bifásico sobre la respuesta inmune de los macrófagos testiculares en el lagarto *H. flaviviridis*⁹. En cuanto a las células peritubulares, recientemente se describió que su función estaría regulada por productos de secreción de mastocitos y macrófagos y que, en respuesta a estos productos, las células peritubulares liberarían factores que contribuirían a modular los procesos inflamatorios¹¹. Más aún, los estudios recientes han revelado que las células peritubulares están involucradas en el transporte de espermatozoides inmóviles –una función importante para la fertilidad masculina–, producen componentes de la matriz extracelular y contribuyen a mantener el nicho de células madre espermatogoniales mediante la secreción de distintos factores¹¹. El hecho de que las células peritubulares expresen receptores H1R sugiere que la HA podría influir directamente en las funciones antes descritas. Sin embargo, esta posibilidad aún no ha sido explorada. Hasta el momento, no se han realizado estudios en células de Sertoli aisladas o en células endoteliales testiculares, pero es razonable especular que tales células también pueden ser blanco de acción de la HA. Con respecto a esto último, se ha demostrado recientemente el efecto de la HA sobre las células endoteliales de múltiples tejidos^{12,13}. Además, en una publicación de hace más de treinta años se informó sobre el deterioro de la barrera hematotesticular posadministración del liberador de HA 48/80 en cobayos¹⁴. La Figura 1 ilustra los tipos celulares del testículo para los que se ha informado la expresión de H1R y H2R y que podrían ser blanco de acción de los antihistamínicos.

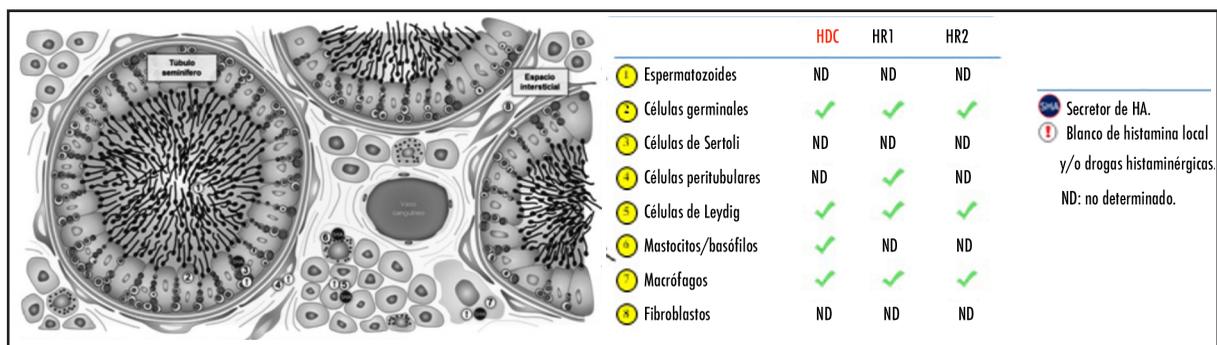


Figura 1: Representación esquemática de un corte de testículo adulto. Los números señalan los tipos celulares que pueden ser blanco de acción de la histamina o de las drogas histaminérgicas.

ANTI-HISTAMÍNICOS (ANTAGONISTAS DE RECEPTORES CLÁSICOS H1R Y H2R) Y SU POTENCIAL EFECTO NEGATIVO SOBRE LA REPRODUCCIÓN MASCULINA

Como se desprende de los párrafos anteriores, se ha demostrado ampliamente que la HA contribuye al funcionamiento normal del sistema reproductor masculino mediante su unión a receptores H1R y H2R. Puntualmente, su papel como modulador local de la esteroidogénesis en las células de Leydig, que se localizan por fuera de la barrera hematotesticular, hace pensar que los antihistamínicos podrían afectar la homeostasis en el testículo al aumentar o disminuir la producción de andrógenos⁶⁻⁹. Al respecto, se ha informado que ingerir alrededor de 1200 mg/día de cimetidina –antagonista H2R indicado para úlceras estomacales– puede disminuir los niveles de testosterona¹⁵⁻¹⁷. Por otro lado, se describió que la cimetidina reduce el recuento de espermatozoides en los seres humanos, en especial en dosis superiores a 1000 mg/día¹⁵⁻²¹, mientras que ejerce efectos moderados sobre la morfología y la motilidad espermáticas^{19,20,22,23}. El efecto de la cimetidina sobre el número de espermatozoides ha sido confirmado por Aprioku et al. (2014)²⁴ en ratas Wistar. Además, un estudio previo realizado por Sinha et al. (2006)²⁵ en ratas albinas demostró una reducción en el recuento de espermatozoides, así como una disminución en la morfología y la motilidad de estos después de un tratamiento con cimetidina por 15 días. Además, Nayeri y Kazerouni (2002)²⁶ informaron que las vesículas seminales de ratas macho tratadas con este medicamento en una dosis de 100 mg/kg durante 5 semanas tenían menor peso en comparación con las del grupo no tratado. Una posible explicación para el impacto perjudicial de la cimetidina sobre la calidad espermática es que aumenta significativamente los niveles de Ca²⁺ intracelular y se ha demostrado que la elevación del Ca²⁺ reduce la viabilidad de los espermatozoides²⁷. Además, se ha encontrado que la cimetidina disminuye la altura del epitelio germinal y el diámetro de los túbulos seminíferos en testículos de ratones cuando se administra una dosis de 10-100 mg/día durante 15 días²⁸. Se obtuvieron resultados consistentes en ratas macho Wistar albinas, a las que se les inyectó cimetidina por vía intraperitoneal, en una dosis de 50 mg/kg, durante 52 días²⁹. Además, en un estudio posterior, Sasso-Cerri y Cerri (2008)³⁰ demostraron que la cimetidina puede conducir al desprendimiento y apoptosis de las células de Sertoli, lo que afecta negativamente la calidad de los espermatozoides.

Más aún, en 2009, Sasso-Cerri reforzó sus resultados anteriores al demostrar que la cimetidina aumenta la expresión del receptor de estrógenos beta y la apoptosis en células germinales de ratas macho adultas³¹. El efecto de la ranitidina, un análogo de la cimetidina, sobre la calidad del semen todavía es un tema de debate³². La famotidina es el único antagonista H2R del cual se ha informado que beneficia la fisiología de los espermatozoides; sin embargo, los estudios no clínicos indican que su uso puede tener efectos negativos en ciertos parámetros espermáticos³². Estudios clínicos adicionales serán de gran importancia para evaluar con más precisión los efectos de la famotidina en la calidad del semen. Con respecto a los antagonistas del receptor H1R empleados para el tratamiento de las alergias, como la desloratadina y la loratadina, Kuzminov et al. (2014)³³ observaron una acción citotóxica en espermatozoides de toro. El potencial impacto negativo de los antihistamínicos sobre la reproducción masculina parece aún más significativo si consideramos que la HA fue implicada en la erección peneana y el comportamiento sexual, además de la esteroidogénesis y la espermatogénesis^{25,34,35}. En este sentido, se informó que la HA puede inducir, en forma dependiente de la dosis, la relajación del músculo liso en el cuerpo cavernoso humano y que este efecto es inhibido por la cimetidina y potenciado en presencia del antagonista del receptor H1R mepiramina^{34,36,37}. Sumado a esto último, algunos estudios de casos han sugerido un impacto de la HA en la respuesta eyaculatoria del hombre adulto³⁸⁻⁴⁰. En aparente contradicción, un informe más reciente indica un papel para la HA en el mecanismo fisiológico que modifica el deseo sexual humano después del orgasmo/eyaculación, más que una participación en el mantenimiento de la flacidez o rigidez del pene o la finalización de la erección⁴¹. Con base en estos resultados, la HA sería un mediador en el sistema de retroalimentación neuroendocrina que modula la función sexual masculina.

RECEPTOR H4 A HISTAMINA. GENERALIDADES

El receptor H4 a histamina (H4R), el más recientemente descrito de la familia de receptores histaminérgicos, fue descubierto a partir del análisis genómico de la secuencia del receptor H3. Ambos tienen una relación cercana tanto estructural (37-43% de homología en su secuencia) como farmacológica. El H4R es una proteína de 44 kDa con 390 aminoácidos y el gen que lo codi-

fica se encuentra en el cromosoma 18 en los seres humanos⁴². Al igual que el receptor H3R, el H4R está acoplado a una proteína Gi/o, que inhibe a la adenilato ciclasa (AC), reduciendo los niveles de AMPc intracelular. También se ha sugerido que H4R podría tener actividad constitutiva, esto último basado en los niveles más bajos de AMPc basal o estimulados por FSK en células transfectadas con cDNA de H4R, en comparación con células no transfectadas⁴³. Si bien en un principio se pensó que el patrón de expresión de H4R se circunscribía principalmente a células de la médula ósea como basófilos, eosinófilos, monocitos y células T, ahora se sabe que H4R se expresa en múltiples tipos celulares diferentes, incluidos los propios mastocitos, en los que mediaría procesos quimiotáxicos⁴. De particular interés para el presente trabajo resulta el hecho de que hace poco se describió la expresión de receptores H4R funcionales en el testículo⁴⁴⁻⁴⁶.

H4R EN EL TESTÍCULO: ESTADO DEL ARTE

Recientemente, nuestro grupo informó por primera vez sobre la expresión proteica de H4R en las líneas de células de Leydig MA-10 y en células de Leydig normales de rata⁴⁴, en concordancia con un trabajo previo de O'Reilly et al. (2002) en el que se describió la expresión de ARNm de H4R en el testículo humano. A su vez, empleando tres agonistas H4R diferentes (VUF8430, clobenpropit y JNJ28610244), demostramos que en ambos modelos experimentales la activación de ese receptor tiene un efecto inhibitorio sobre: a) la respuesta esteroideogénica a LH/hCG, b) la expresión de la proteína reguladora de la esteroidogénesis aguda (StAR) inducida por LH/hCG y c) la proliferación celular⁴⁴. En línea con estos hallazgos y como ya se indicó, diversos trabajos señalan que H4R está asociado a una proteína Gai/0^{47,48}, lo cual permitiría explicar por qué su activación conduce a una reducción en la expresión de StAR, cuya regulación está asociada a sitios de unión CRE (elementos que responden a AMPc)⁴⁹ y, por ende, a una marcada disminución de la esteroidogénesis. Desde ya, la participación de otros caminos de transducción no puede descartarse. Teniendo en cuenta los efectos antiesteroideogénicos de la activación de H4R en las células de Leydig, es razonable inferir que este receptor está involucrado, junto con H1R, en los efectos inhibitorios de la HA sobre la síntesis de esteroides, ya descritos en este artículo. A favor de esta hipótesis, se observaron efectos sinérgicos entre HRH1 y HRH4

en otros tipos celulares, en los que H1R colocaliza con H4R⁵⁰⁻⁵². Más allá de los ensayos en células aisladas detallados hasta aquí, nuestro grupo estudió mediante inmunohistoquímica la expresión de H4R en cortes de testículo de ratas de distintas edades (7, 21, 35, 90 y 240 días de edad)⁴⁴ y encontró sitios de expresión H4R en las células de Leydig en todos los casos y también en las células germinales de ratas de 21 días⁴⁴. A fin de robustecer estos hallazgos, en el transcurso del último año nuestro grupo evaluó, en colaboración con profesionales del Servicio de Endocrinología del Hospital de Pediatría Garrahan, la expresión proteica de H4R a lo largo del desarrollo testicular humano normal. Los cortes se obtuvieron de niños fallecidos por cardiopatías que no presentaban patologías de tipo endocrinológico y fueron clasificados según las características propuestas por Tanner para los distintos estadios de maduración sexual: G1, neonatal (< 1 mes de edad); G2, infantil (1 a 12 meses de edad); G3, juvenil (1 a 12 años de edad); G4, puberal (12-14 años de edad). Se observó marca positiva para H4R en todos los casos (Figura 2). El hecho de que las células de Leydig murinas inmaduras y progenitoras sean susceptibles a la acción antiproliferativa de los agonistas H4R, sumado a que ese receptor está presente a lo largo del desarrollo testicular murino⁴⁴ y humano (véase Fig. 2), señala la importancia del diseño racional de fármacos dirigidos a H4R a fin de evitar efectos secundarios sobre la función normal del testículo tanto en niños como en adultos.

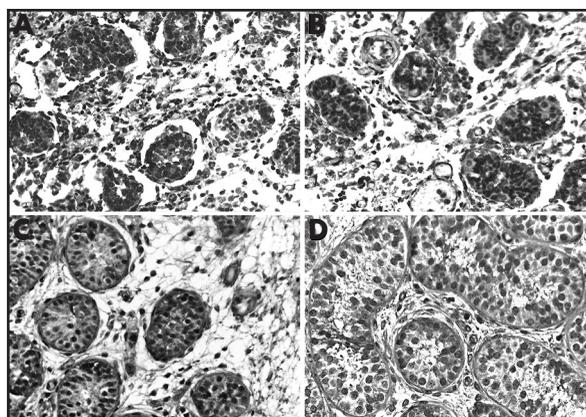


Figura 2: Análisis inmunohistoquímico de la expresión de H4R en cortes de testículo normal en niños. Los cortes se obtuvieron de niños fallecidos por cardiopatías que no presentaban patologías de tipo endocrinológico y fueron clasificados según las características propuestas por Tanner para los distintos estadios de maduración sexual. **A-D)** G1, neonatal (< 1 mes de edad); G2, infantil (1 a 12 meses de edad); G3, juvenil (1 a 12 años de edad); G4, puberal (12-14 años de edad), respectivamente. Se observó marca positiva para el receptor en todos los casos.

CONCLUSIÓN

En vista de las evidencias científicas incluidas en el presente artículo, la evaluación de los posibles efectos inducidos por las drogas histamínicas sobre la salud sexual y reproductiva debería formar parte de los estudios clínicos, a fin de desarrollar antihistamínicos eficaces y seguros, que tengan nulo o mínimo impacto negativo sobre la fertilidad.

REFERENCIAS

- Ohtsu H. Histamine synthesis and lessons learned from histidine decarboxylase deficient mice. *Adv Exp Med Biol* 2010;709:21-31.
- Mondillo C, Varela ML, Abiuso AMB, Vázquez R. Potential negative effects of anti-histamines on male reproductive function. *Reproduction* 2018;155:R221-R227.
- Leurs R, Chazot PL, Shenton FC, Lim HD, De Esch IJ. Molecular and biochemical pharmacology of the histamine H4 receptor. *Br J Pharmacol* 2009;157:14-23.
- Schreeb A, Łażewska D, Dove S, Buschauer A, Kieć-Kononowicz K, Stark Hin, Stark H (ed.). *Histamine H4 Recept. A Nov Drug Target Immunoregul Inflamm*, Versita: London, Berlin, Boston; 2013:21-62.
- Albrecht M, Frungieri MB, Gonzalez-Calvar S, Meineke V, Köhn FM, Mayerhofer A. Evidence for a histaminergic system in the human testis. *Fertil Steril* 2005;83:1060-3.
- Mondillo C, Patrignani Z, Reche C, Rivera E, Pignataro O. Dual role of histamine in modulation of Leydig cell steroidogenesis via HRH1 and HRH2 receptor subtypes. *Biol Reprod* 2005;73:899-907.
- Mondillo C, Falus A, Pignataro O, Pap E. Prolonged Histamine Deficiency in Histidine Decarboxylase Gene Knockout Mice Affects Leydig Cell Function. *J Androl* 2006;28:86-91.
- Mondillo C, Pagotto RM, Piotrkowski B, Reche CG, Patrignani ZJ, Cymering CB, Pignataro OP. Involvement of nitric oxide synthase in the mechanism of histamine-induced inhibition of Leydig cell steroidogenesis via histamine receptor subtypes in Sprague-Dawley rats. *Biol Reprod* 2009;80:144-52.
- Khan UW, Rai U. Differential effects of histamine on Leydig cell and testicular macrophage activities in wall lizards: precise role of H1/H2 receptor subtypes. *J Endocrinol* 2007;194:441-8.
- Mayerhofer A, Bartke A, Began AG, Tim B. Histamine affects testicular steroid production in the golden hamster. *Endocrinology* 1989;125:2212-4.
- Mayerhofer A. Human testicular peritubular cells: More than meets the eye. *Reproduction* 2013;145:107-16.
- Adderley SP, Lawrence C, Madonia E, Olubadewo JO, Breslin JW. Histamine activates p38 MAP kinase and alters local lamellipodia dynamics, reducing endothelial barrier integrity and eliciting central movement of actin fibers. *Am J Physiol Cell Physiol* 2015;309:C51-9.
- Ashina K, Tsubosaka Y, Nakamura T, Omori K, Kobayashi K, Hori M, Ozaki H, Murata T. Histamine Induces Vascular Hyperpermeability by Increasing Blood Flow and Endothelial Barrier Disruption In Vivo. *PLoS One* 2015;10:e0132367.
- Nemetallah BR, Howell RE, Ellis LC. Histamine and secondary autoimmune infertility in dark mink (*Mustela vison*). *Arch Androl* 1985;15:79-82.
- Elliott J. Side effects of cimetidine use coming under scrutiny. *JAMA* 1979;242:13.
- Fuentes RJ, Dolinsky D. Endocrine Function after Cimetidine. *N Engl J Med* 1979;301:501-2.
- Babb RR. Cimetidine: clinical uses and possible side effects. *Postgrad Med* 1980;68:87-93.
- Van Thiel DH, Gavaler JS, Smith WI, Paul G. Hypothalamic-Pituitary-Gonadal Dysfunction in Men Using Cimetidine. *N Engl J Med* 1979;300:1012-5.
- Wang C, Lai CL, Lam KC, Yeung KK. Effect of cimetidine on gonadal function in man. *Br J Clin Pharmacol* 1982;813:791-4.
- Buchanan JF, Davis IJ. Drug-Induced Infertility. *Drug Intell Clin Pharm* 1984;18:122-32.
- Van Thiel DH, Gavaler JS, Heyl A, Susen B. An evaluation of the anti-androgen effects associated with H2 antagonist therapy. *Scand J Gastroenterol* 1987;Suppl 136:24-8.
- Bianchi Porro G, Ragni G, Ruspa M, Petrillo M, Barattini G. Long-term treatment with cimetidine does not essentially affect the hypothalamic-pituitary-gonadal axis in man. *Hepato-gastroenterology* 1985;32:77-80.
- Thomas M, Turner P. Effect of chlorpheniramine, promethazine and cimetidine on human sperm motility in-vitro. *J Pharm Pharmacol* 1983;35:61-2.
- Aprioku J, Ibeachu C, Amah-Tariah F. Differential effects of H2 receptor antagonists on male reproductive function and hepatic enzymes in Wistar rats. *Asian J Biomed Pharm Sci* 2014;4:2-7.
- Sinha RB, Banerjee P, Ganguly AK. Serum concentration of testosterone, epididymal mast cell population and histamine content in relation to sperm count and their motility in albino rats following H2 receptor blocker treatment. *Nepal Med Coll J* 2006;8:36-9.
- Nayeri Kaman GD, Kazerouni M. The effect of cimetidine on serum testosterone, testes, prostate and seminal vesicle and its reversibility in rats. *J Med Res* 2002;1:1-9.
- Gupta A, Khosla R, Gupta S, Tiwary AK. Influence of histamine and H1-receptor antagonists on ejaculated human spermatozoa: Role of intrasperm Ca²⁺. *Indian J Exp Biol* 2004;42:481-5.
- Gill M, Sareen ML, Sanyal SN. Effect of H2-receptor antagonists, cimetidine and ranitidine on reproductive functions in male mice. *Indian J Exp Biol* 1991;29:900-6.
- Sasso-Cerri E, Miraglia SM. In situ demonstration of both TUNEL-labeled germ cell and Sertoli cell in the cimetidine-treated rats. *Histol Histopathol* 2002;17:411-7.
- Sasso-Cerri E, Cerri PS. Morphological evidences indicate that the interference of cimetidine on the peritubular components is responsible for detachment and apoptosis of Sertoli cells. *Reprod Biol Endocrinol* 2008;6:18.
- Sasso-Cerri E. Enhanced ERbeta immunorexpression and apoptosis in the germ cells of cimetidine-treated rats. *Reprod Biol Endocrinol* 2009;7:127.
- Banihani SA. Histamine-2 Receptor Antagonists and Semen Quality. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2016;118:9-13.
- Kuzminov O, Ostapiv D, Alekhina T. Evaluation of cytotoxic action of antihistamines – desloratadine and loratadine – using bulls spermatozoa as a test object. *Visnyk Dnipropetr Univ Biol Med* 2014;5:3-6.
- Cará AM, Lopes-Martins RA, Antunes E, Nahoum CR, De Nucci G. The role of histamine in human penile erection. *Br J Urol* 1995;75:220-4.
- Pár G, Szekeres-Barthó J, Buzás E, Pap E, Falus A. Impaired reproduction of histamine deficient (histidine-decarboxylase knockout) mice is caused predominantly by a decreased male mating behavior. *Am J Reprod Immunol* 2003;50:152-8.

36. Penttilae O, Vartiainen A. Acetylcholine, histamine, 5-hydroxytryptamine and catecholamine contents of mammalian penile erectile and urethral tissue. *Acta Pharmacol Toxicol (Copenh)* 1964;21:145-51.
37. Teixeira CE, Moreno RA, Ferreira U, Rodrigues Netto N, Fregonesi A, Antunes E, De Nucci G. Pharmacological characterization of kinin-induced relaxation of human corpus cavernosum. *Br J Urol* 1998;81:432-6.
38. Raja M. Risperidone-induced absence of ejaculation. *Int Clin Psychopharmacol* 1999;14:317-9.
39. Holtmann M, Gerstner S, Schmidt MH. Risperidone-Associated Ejaculatory and Urinary Dysfunction in Male Adolescents. *J Child Adolesc Psychopharmacol* 2003;13:107-9.
40. Labbate LA. Psychotropics and sexual dysfunction: the evidence and treatments. *Adv Psychosom Med* 2008;29:107-30.
41. Ückert S, Wilken M, Stief C, Trottman M, Kuczyk M, Becker A. Is there a significance of histamine in the control of the human male sexual response? *Andrologia* 2012;44:538-42.
42. Igaz P, Hegyesi H. Histamine receptors: H1, H2, H3, H4, and the putative "Hic" (intracellular) receptor. Coding genes and gene products, "in silico" and experimental data. *Histamine Biol Med Asp Budapest, Basel Karger, Spring Med Publ* 2004;69-77.
43. Lázár-Molnár E. Signal-transduction pathways of histamine receptors. *Histamine Biol Med Asp Budapest, Hungary Spring Med Publ Ltd* 2004;89-99.
44. Abiuso AMB, Berensztein E, Pagotto RM, Pereyra EN, Medina V, Lamas DJM, Moreno MB, Pignataro OP, Mondillo C. H4 histamine receptors inhibit steroidogenesis and proliferation in Leydig cells. *J Endocrinol* 2014;223:241-53.
45. Abiuso AMB, Varela ML, Haro Durand L, Besio Moreno M, Marcos A, Ponzio R, Rivarola MA, Belgorosky A, Pignataro OP, Berensztein E, Mondillo C. Histamine H4 receptor as a novel therapeutic target for the treatment of Leydig-cell tumours in prepubertal boys. *Eur J Cancer* 2018;91.
46. O'Reilly M, Alpert R, Jenkinson S, Gladue RP, Foo S, Trim S, Peter B, Trevethick M, Fidock M. Identification of a histamine h 4 receptor on human eosinophils—role in eosinophil chemotaxis. *J Recept Signal Transduct* 2002;22:431-48.
47. Petit-Bertron A-F, Machavoine F, Defresne MP, Gillard M, Chatelain P, Mistry P, Schneider E, Dy M. H4 Histamine Receptors Mediate Cell Cycle Arrest in Growth Factor-Induced Murine and Human Hematopoietic Progenitor Cells. *PLoS One* 2009;4:e6504.
48. Nguyen T, Shapiro DA, George SR, Setola V, Lee DK, Cheng R, Rauser L, Lee SP, Lynch KR, Roth BL, O'Dowd BF. Discovery of a Novel Member of the Histamine Receptor Family. *Mol Pharmacol* 2001;59:427-33.
49. Sirianni R, Chimento A, Malivindi R, Mazzitelli I, Andò S, Pezzi V. Insulin-like growth factor-1, regulating aromatase expression through steroidogenic factor 1, supports estrogen-dependent tumor Leydig cell proliferation. *Cancer Res* 2007;67:8368-77.
50. Thurmond RL, Gelfand EW, Dunford PJ. The role of histamine H1 and H4 receptors in allergic inflammation: the search for new antihistamines. *Nat Rev Drug Discov* 2008;7:41-53.
51. Deiteren A, De Man JG, Ruysers NE, Moreels TG, Pelckmans PA, De Winter BY. Histamine H4 and H1 receptors contribute to postinflammatory visceral hypersensitivity. *Gut* 2014;63:1873-82.
52. Kordulewska N, Cieślińska A, Fiedorowicz E, Jarmołowska B, Kostyra E. Effect of the Fexofenadine on the expression of HRH-1 and HRH-4 receptor in Peripheral Blood Mononuclear Cell isolated from children with diagnosed allergy - in vitro study Short communication. *J Pharm Pharm Sci* 2019;22:93-7.

REVISIÓN

Análisis genómicos aplicados a la reproducción

Genomic techniques applied to reproductive biology

Guadalupe Buda^{1,2}, Sebastián A. Vishnopolska^{2,3}, Germán Biagioli^{1,2}, Marcelo A. Marti^{2,3} y Adrián G. Turjanski^{2,3}

¹ BITGENIA, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

² Departamento de Química Biológica, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, CABA, Argentina

³ Instituto de Química Biológica, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (IQUIBICEN) CONICET, CABA, Argentina

Contacto del autor: Adrián G. Turjanski

E-mail: adrian@qb.fcen.uba.ar, adrian.turjanski@bitgenia.com

Correspondencia: Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, CABA, Argentina.

Recibido: 4/5/2019 Aceptado: 4/6/2019

Conflicto de interés: los autores declaran no tener conflicto de interés.

Resumen

La genómica es una disciplina científica enfocada en la secuenciación masiva del ADN y el análisis del genoma de un organismo de manera integral. Si bien se viene implementado en el estudio de la reproducción desde hace décadas, con el advenimiento del siglo XXI está a las puertas de un cambio de paradigma, producto del desarrollo de las tecnologías NGS (*Next Generation Sequencing*) que permiten obtener, a un costo accesible, la información genómica completa de un individuo, abriendo el camino a una medicina verdaderamente personalizada y de precisión.

Abstract

Genomics is a scientific discipline focused on the massive sequencing of DNA and the analysis of the entire genome in an integral way. Although it has been implemented in the study of reproduction for decades, with the advent of the 21st century, thanks to the development of NGS (Next Generation Sequencing) technologies, it was possible to obtain, at an accessible cost, the complete genomic information of an individual, opening the way to a truly personalized medicine.

Los análisis genómicos asociados a la reproducción incluyen, entre otros: i) estudios preconceptionales para evitar y/o prevenir el riesgo de concebir un hijo afectado con alguna enfermedad mendeliana recesiva, ii) el diagnóstico genético preimplantacional, iii) la detección y el diagnóstico prenatal de anomalías congénitas y iv) el estudio genómico del recién nacido tanto para anomalías congénitas como para el estudio de la predisposición de desarrollar enfermedades complejas y síndromes metabólicos. En este trabajo describiremos estas metodologías, resaltando su alcance y la factibilidad de su implementación en la práctica médica.

Palabras clave: secuenciación de próxima generación (NGS), enfermedades hereditarias poco frecuentes, genómica reproductiva, condición de portador, infertilidad, GWAS.

Revista de la Sociedad Argentina de Endocrinología Ginecológica y Reproductiva 2019; Vol. XXVI Nº 1 Supl. Enero - junio de 2019:59-65

Genetic studies in reproduction include, among others: i) preconceptional studies to prevent the risk of conceiving an affected child with a recessive Mendelian disease, ii) preimplantation genetic diagnosis, iii) prenatal screening and diagnosis of congenital anomalies and iv) the genomic study of the newborn for congenital anomalies and the predisposition study to develop complex diseases and metabolic syndromes. In this paper we will describe these methodologies, highlighting their scope and the feasibility of their implementation in medical practice.

Key words: next generation sequencing (NGS), rare hereditary diseases, reproductive genomics, carrier screening, infertility, GWAS.

Revista de la Sociedad Argentina de Endocrinología Ginecológica y Reproductiva 2019; Vol. XXVI Nº 1 Supl. Enero - junio de 2019: 59-65

INTRODUCCIÓN

La genómica es una disciplina científica enfocada en la secuenciación del ADN y el análisis del genoma completo de un organismo. Si bien la genética se viene implementando en el estudio de la reproducción desde hace décadas, con el advenimiento del siglo XXI está a las puertas de un cambio de paradigma, producto del desarrollo de las tecnologías NGS (*Next Generation Sequencing*) que permiten obtener, a un costo accesible¹, la información genómica de un individuo, abriendo el camino a una medicina verdaderamente personalizada y de precisión².

La genética reproductiva incluye no solo la detección y el diagnóstico prenatal de anomalías congénitas, sino también el asesoramiento genético preconceptional para evitar y/o prevenir, en familias con individuos portadores, el riesgo de concebir un hijo afectado con alguna enfermedad mendeliana recesiva, mediante el estudio de la pareja antes de concebir (*Carrier Screening*) y/o la implementación de Tecnologías de Reproducción Asistida (TRA) y el diagnóstico genético preimplantacional (PGD). En particular, la información preconceptional es de alta relevancia, ya que muchos futuros padres están interesados en aprender acerca de la posibilidad de transmitir una condición particular a sus hijos. Por lo tanto, es importante conocer las opciones reproductivas disponibles según las condiciones genéticas de los individuos. Finalmente, el estudio de los recién nacidos y el asesoramiento genético en la infancia representan un área de gran crecimiento y desarrollo.

GENÓMICA Y ENFERMEDADES MENDELIANAS

La aplicación de las tecnologías genómicas en la clínica se ha enfocado primeramente en el diagnóstico de enfermedades genéticas mendelianas (es decir, monogénicas), usualmente poco frecuentes³.

Según Orphanet (*The portal for rare diseases and orphan drugs*)⁴, las enfermedades poco frecuentes (EpoF) –mal llamadas raras– son aquellas que afectan a uno en al menos 2000 individuos. De acuerdo con el catálogo OMIM (*Online Mendelian Inheritance in Man*)⁵, en la actualidad se conocen alrededor de 8000 enfermedades genéticas, la mayoría de ellas de tipo monogénico. En la Argentina, las enfermedades poco frecuentes –de origen genético, crónicas y degenerativas– afectan a alrededor de 3,2 millones de habitantes.

Las afecciones genéticas mendelianas recesivas son causadas por mutaciones que pueden transmitirse generacionalmente de forma silenciosa dentro de una familia, manifestándose únicamente cuando dos padres “portadores” tienen un hijo que recibe dos copias del gen defectuoso (aquel que posee una variante –o mutación– patogénica), una de cada uno de ellos. Las enfermedades más conocidas de este tipo son, entre otras, la fibrosis quística, la pérdida de audición no sindrómica hereditaria, la enfermedad de Tay-Sachs y la β -talasemia. Su relevancia para la genómica reproductiva radica en que, para las enfermedades con un modelo de herencia recesivo, mediante la determinación de la información genómica de los futuros padres y la identificación de la presencia o ausencia de variantes responsables de las mismas, permite evaluar el riesgo de concebir niños que puedan desarrollar alguna de ellas.

Los esquemas de aplicación de tecnología genómica en la clínica para el diagnóstico preciso de enfermedades mendelianas y el potencial hallazgo de nuevos genes o variantes asociados a la enfermedad en cuestión no están, sin embargo, exentos de dificultades⁶. En los países en desarrollo, como la Argentina, estas dificultades se ven exacerbadas debido a la dificultad de acceso a las tecnologías genómicas y la escasa formación de los profesionales en los aspectos técnicos y clínicos necesarios

para su implementación. Sin embargo, en nuestro país, se trabaja con el objetivo de realizar análisis de pacientes con diagnóstico presuntivo de enfermedades genéticas poco frecuentes y se ofrecen estudios genéticos que incluyen estudio del genoma completo (*Whole Genome Sequencing*, WGS), de exomas (*Whole Exome Sequencing*, WES)^{7,8}, paneles ya sea para el estudio de enfermedades monogénicas de un paciente con diagnóstico clínico presuntivo, como estudios preconceptionales destinados a la planificación familiar conocidos como *carrier screening*.

Una vez decidido un protocolo de secuenciación dado, ya sea WGS, WES o panel, los datos deben ser procesados por medio de algoritmos bioinformáticos para obtener las variantes presentes en un paciente particular, que son luego analizadas en relación con su relevancia. Para esto se suelen utilizar plataformas de análisis bioinformáticas, que disponibilizan y facilitan el acceso a la información genética. Utilizando este tipo de *software* que funciona dentro de un servidor accesible por la red se facilita la consulta de datos de variantes genómicas de cada caso, así como el acceso a los datos por parte del equipo médico. Los casos son sometidos a un protocolo de búsqueda de variantes con probada patogenicidad, de acuerdo con los criterios establecidos por el *American College of Medical Genetics and Genomics* (ACMG)⁹.

ESTUDIOS PRECONCEPCIONALES *Carrier-screening* o detección de portadores

Esta prueba genética se utiliza para determinar y detectar si una persona sana es portadora de variantes patogénicas asociadas a determinadas enfermedades mendelianas de herencia recesiva¹⁰⁻¹². Para que se desarrolle este tipo de enfermedades es necesario heredar dos copias defectuosas de un determinado gen. Es por esta razón que aquellos individuos que poseen una única copia defectuosa del mismo y que usualmente no desarrollan la enfermedad ni presentan síntomas son considerados como portadores sanos. Cuando ambos padres son portadores de un alelo defectuoso del mismo gen, entonces cada hijo de la pareja tiene un 25% de probabilidad de heredar ambas copias y, por lo tanto, de desarrollar la enfermedad; un 25% de probabilidad de heredar dos alelos sanos, y un 50% de probabilidad de ser portador sano. Si solo uno de los padres es portador, entonces cada niño tiene un 50% de probabilidad de heredar la variante y de ser portador.

En este contexto, este tipo de estudios proporciona información valiosa, basada en datos genéticos, sobre el “riesgo reproductivo potencial” de un individuo y las posibilidades que este tiene de concebir un hijo con una enfermedad genética. De esta forma, se ofrece el análisis de cientos de mutaciones relacionadas con trastornos genéticos mendelianos recesivos, lo que permite brindar información acerca de la condición de sano/portador a cada persona. En este sentido, si las dos personas que constituyen una pareja deciden realizar este test, esta prueba les permitirá, a la hora de planificar una familia, conocer cuál es la probabilidad de que sus hijos hereden una o dos copias de un gen defectuoso y, por consiguiente, la condición de ser portadores y/o desarrollar este tipo de patologías. Es importante remarcar que este tipo de estudio se puede realizar más allá de si se usaran tecnologías de reproducción asistida o no, ya que se estudia para cada progenitor si es portador o no.

Existe otro estudio de portadores que consiste en la detección de mosaicismos germinales¹³. Así como un portador heterocigoto para una variante patogénica constituye un individuo sano con 50% de posibilidades de pasar el alelo defectuoso a su descendencia, las células germinales pueden adquirir mutaciones somáticas que son pasadas a la siguiente generación. El padre o madre, sin embargo, es sano al poseer la mayor parte de sus células sin la variante, o sea, son mosaicos. Usualmente una sospecha de mosaicismo germinal aparece cuando una pareja concibe un hijo con una enfermedad genética de tipo dominante y desea saber si existe la posibilidad de tener otro hijo con la misma enfermedad. En caso de que la mutación se haya dado *de novo* en el cigoto, las posibilidades de tener un segundo hijo con la misma enfermedad es baja. Sin embargo, si la mutación se originó en el tejido germinal –que es lo que evalúa el test– las posibilidades de tener otro hijo afectado pueden ser muy altas, superando el 50%. De conocerse la mutación causante de la patología dominante en el hijo, es posible determinar la proporción de gametos afectados mediante una biopsia testicular (la más común) u ovárica seguida de secuenciación NGS a alta profundidad. El análisis de secuenciación, NGS de mosaicismo germinal, se puede pedir en el país y la metodología es secuenciación y el resultado es un análisis de portador donde solo se modifica la toma de muestra.

DIAGNÓSTICO PRENATAL

El diagnóstico prenatal incluye un conjunto de pruebas diagnósticas que se llevan a cabo durante el embarazo con la finalidad de identificar la presencia de posibles defectos congénitos en el feto o bien factores de riesgo maternos que puedan requerir controles estrictos a lo largo de la gestación^{14,15}. El diagnóstico precoz de cualquier defecto congénito posibilita la adopción de medidas adecuadas, tanto durante el embarazo como durante el parto, para evitar riesgos innecesarios e intentar mejorar el pronóstico del neonato tras el nacimiento. Inicialmente, gran parte del crecimiento de la demanda de servicios de asesoramiento genético se produjo al comienzo del diagnóstico prenatal a fines de los años sesenta y principios de los setenta. En ese momento, las mujeres eran derivadas para un diagnóstico prenatal mediante una amniocentesis debido al mayor riesgo de trisomías cromosómicas asociadas con la edad materna avanzada o debido al riesgo de una afección genética específica en casos con una historia familiar. Las pruebas, en ese momento, se limitaban a la identificación de grandes anomalías citogenéticas estructurales y aneuploidías y a la detección de trastornos de un solo gen. En la actualidad, la oferta de este tipo de test es amplia y variada e incluye pruebas prenatales no invasivas que detectan anomalías cromosómicas –entre las que se incluyen la trisomía 21 (síndrome de Down), la trisomía 18 (síndrome de Edwards), la trisomía 13 (síndrome de Patau)– y, en muchos casos, permiten la identificación y el reporte de mutaciones conocidas asociadas al desarrollo de enfermedades monogénicas. La sensibilidad y especificidad del test no invasivo, basado en la detección y secuenciación masiva del ADN fetal en sangre materna, es del 99%^{16,17}. También se están utilizando y desarrollando pruebas citogenéticas mejoradas con hibridación in situ fluorescente (FISH) e hibridación genómica comparativa (aCGH) para el diagnóstico prenatal con el fin de identificar duplicaciones/inserciones y anomalías cromosómicas.

DIAGNÓSTICO GENÉTICO PREIMPLANTACIONAL

Es un conjunto de procedimientos destinados a conocer características genéticas de los embriones obtenidos mediante fecundación *in vitro*, con el fin de seleccionar los que resultan idóneos para su transferencia al útero¹⁸⁻²⁰. La utilidad del diagnóstico genético preimplantacional (DGP) en otras situaciones, como el aborto de repetición, los fallos reiterados en

la implantación de embriones obtenidos mediante fecundación *in vitro* o la edad reproductiva avanzada, no ha sido demostrada. El objetivo final es la selección de embriones libres de defectos genéticos. Con esta técnica se pretende aumentar la probabilidad de lograr un hijo apto como donante en casos de familias con descendientes previamente afectados por enfermedades graves que tienen como único tratamiento la donación de células, tejidos u órganos.

Esta técnica puede resultar útil en situaciones de pacientes afectados o portadores de enfermedades monogénicas, portadores de alteraciones cromosómicas transmisibles o pacientes con mayor riesgo de alteraciones genéticas en sus gametos (ovocitos y espermatozoides), que podrían determinar la formación de embriones genéticamente alterados. El tipo de trastorno genético transmisible que se pretenda evitar determinará la técnica de diagnóstico genético que deba ser aplicada, hibridación in situ fluorescente (FISH), reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y/o tecnologías de secuenciación masiva.

ESTUDIOS GENÓMICOS ORIENTADOS A LA FERTILIDAD

Según los estudios epidemiológicos más amplios, la esterilidad afecta al 15% de la población en edad reproductiva de los países occidentales, es decir, a una de cada seis parejas, y experimenta una evolución creciente. Aunque el progenitor masculino es responsable de entre el 25% y el 35% de los casos, la edad avanzada de las mujeres con deseo reproductivo puede considerarse como la principal causa actual de incremento de esterilidad. En aquellos casos de parejas afectadas por trastornos de la fertilidad conocidos o evidentes: mujeres en edad reproductiva y sin menstruación espontánea por causas desconocidas, pacientes diagnosticadas de obstrucción tubárica bilateral, fallo ovárico establecido o malformaciones uterinas, varones con azoospermia, etc., será necesaria la asistencia médica a la procreación, por lo que deben consultar a un especialista en cuanto tengan deseo reproductivo²⁰. En parejas infértiles o con antecedentes reproductivos desfavorables (más de dos abortos, partos de fetos inmaduros o grandes prematuros, muertes fetales intrauterinas de causa inexplicada o potencialmente recurrente, hijos anteriores con anomalías congénitas, portadores o afectados por enfermedades transmisibles), suele ser aconsejable evaluar el riesgo de pérdida gestacional futura y la posible existencia de factores predisponentes, que eventualmente podrían ser tratados con eficacia.

Considerando que aproximadamente el 10% de los casos de infertilidad tienen una etiología genética²¹⁻²³, es importante recordar que los defectos genéticos pueden ser responsables de una gran variedad de trastornos clínicos que causan infertilidad femenina y masculina, como la deficiencia de hormonas gonadotróficas, insuficiencia ovárica prematura, fallos en la espermatogénesis y la azoospermia obstructiva. Los estudios genéticos en los progenitores masculinos²⁴⁻²⁶ suelen incluir la secuenciación y el análisis de los siguientes genes AR, AZF, CATSPER1, CFTR, DDX25, DNAH5, DNAH11, DNAI1, ESR2, FSHB, FSHR, GNRHR, INSL3, LHCGR, NLRP14, PRDM9, PRM1, PRM2, PRM3, RBMXL2, RXFP2, TEK2, USP26 y UTP14C. Por otro lado, las causas genéticas más comunes de infertilidad femenina incluyen anomalías cromosómicas y trastornos ovulatorios, como síndrome de Kallman, síndrome del X frágil y discinesia ciliar primaria^{27,28}. La infertilidad también se puede observar como una manifestación secundaria en muchas otras afecciones genéticas, como galactosemia, mucopolisacaridosis, Prader-Willi, fibrosis quística, pseudohipoparatiroidismo tipo 1a, oftalmoplejía externa progresiva y ovasucopasas. En este sentido, los paneles de genes ofrecidos en el mercado para infertilidad femenina abarcan la secuenciación y el análisis de los siguientes genes: ANOS1, AR, BMP15, CBX2, CYP11A1, CYP19A1, CYP21A2, DHH, FGF8, FGFR1, FIGLA, FMRI, FOXL2, FSHB, FSHR, GNRH1, GNRHR, HESX1, HSD17B3, KISS1, KISS1R, LHB, LHCGR, LHX3, LHX4, MAP3K1, NOBOX, NR0B1, NR5A1, NSMF, POU1F1, PROKR2, PROP1, SEMA3A, SOHLH1, SRD5A2, TAC3, TACR3, TUBB8, WDR11, WNT4, ZP1. La realización de este tipo de estudios proporcionará, en aquellos casos donde existe una fuerte sospecha, una orientación diagnóstica a los especialistas que les permitirá detectar qué tipo de condición (hereditaria, reversible o irreversible) deben tratar. De la misma forma, conocer la causa exacta de la infertilidad les permite a los especialistas tomar mejores decisiones de diagnóstico y brindar asesoramiento preciso a los padres. Por esta razón, las pruebas genéticas tienen el potencial de ayudar a un número significativo de parejas en su deseo de tener hijos.

ESTUDIOS DE ASOCIACIÓN GENÓMICA

En los últimos años, los métodos para estudios de asociación genómica (*Genome Wide Association Studies*, GWAS) han revolucionado el descubrimiento de genes para rasgos y enfermedades frecuentes²⁹. Hoy sabemos que existen determinados

factores genéticos de predisposición a determinadas condiciones en las que se ven afectadas tanto la reproducción como la fertilidad masculina y femenina. Los resultados de los estudios GWAS se documentan en el Catálogo de estudios de asociación genómica publicado por el Instituto Nacional de Investigación del Genoma Humano (www.genome.gov) e informan cientos de publicaciones sobre más de 30 rasgos y enfermedades asociadas con la reproducción. Los marcadores genéticos identificados en este estudio podrían servir como objetivos farmacológicos para prevenir o retrasar las disminuciones en la fertilidad y la calidad del esperma relacionadas con la edad o podrían ser útiles también para mejorar los resultados en los tratamientos de fertilidad.

El objetivo de este tipo de estudios consiste en detectar *loci* de rasgos cuantitativos (QTL) para rasgos de fertilidad femenina o masculina en determinadas poblaciones utilizando diversas estrategias^{30,31}. Los resultados que consiguen niveles de significación estadística generalmente se replican bien en estudios independientes. Los ejemplos de variación genética que afectan la tasa de embarazo múltiple, la infertilidad, la endometriosis y la edad de aparición de la menarca demuestran que el espectro de variantes relacionadas con la enfermedad para los rasgos reproductivos es similar al de la mayoría de las otras enfermedades comunes. Estos estudios han avanzado mucho hacia la comprensión de los factores genéticos que contribuyen a la variación en los rasgos y enfermedades que influyen en la fertilidad femenina y masculina. Los datos que surgen de GWAS demuestran la utilidad de la genética para explicar las observaciones epidemiológicas, revelando vías biológicas compartidas que vinculan el momento de la pubertad, la fertilidad, el envejecimiento reproductivo y los resultados de salud. Muchas variantes implican los genes de daño/reparación del ADN en la variación de la edad de la menopausia, impactando en la salud del folículo y el envejecimiento. Además del descubrimiento de genes y vías individuales, los estudios sobre los factores de riesgo genéticos ayudan a interpretar las relaciones subyacentes y la dirección de la causalidad en la regulación de la vida reproductiva, la fertilidad y rasgos relacionados. El “éxito” de los GWAS radica en el descubrimiento de nuevos objetivos genéticos para el diseño de biomarcadores, el desarrollo de fármacos y una mayor comprensión de los factores ambientales que contribuyen al riesgo de la enfermedad. Los resultados también muestran que los datos genéticos pueden ayudar a definir subti-

pos de enfermedad y comorbilidad con otros rasgos y enfermedades.

Se han encontrado más de 50 marcadores genéticos relacionados con la fertilidad. Particularmente, como se ha publicado en la revista *Nature Communications*³², un estudio identificó 19 variantes genéticas asociadas con endometriosis y, muchas de ellas, asociadas también con otras afecciones de salud como el cáncer de ovario, enfermedades cardiovasculares y colesterol alto. Por otro lado, *PLOS Genetic*³³ publicó recientemente un estudio en el que se encontraron 14 variantes genéticas asociadas con el síndrome del ovario poliquístico (SOP), tres de las cuales fueron identificadas por primera vez. El estudio también encontró correlaciones entre el SOP y la obesidad, la respuesta a la insulina y la enfermedad arterial coronaria.

Los fundamentos genéticos del SOP implican vías neuroendocrinas, metabólicas y reproductivas, y parecerían estar vinculadas también con otras afecciones, como los trastornos metabólicos como la diabetes tipo 2 y la menopausia. El análisis de los factores de riesgo usando técnicas de *array* de SNP como los que se usaron para realizar los GWAS se pueden efectuar en la Argentina y adquieren utilidad para los profesionales en conjunto con otros estudios complementarios.

ESTUDIOS POSNATALES

Una vez nacido, existen estudios genéticos que aportan información asociada con el riesgo de desarrollar distintas enfermedades monogénicas y/o sobre la condición de portador del neonato. El tipo de prueba ordenada posnatalmente depende de las indicaciones médicas, que puede incluir la confirmación de diagnósticos potenciales mediante el examen prenatal, presencia de anomalías congénitas múltiples, retraso del crecimiento intrauterino, microcefalia, macrocefalia, características dismórficas, hipotonía, pérdida auditiva, cribado anormal del recién nacido, retraso del desarrollo/discapacidad intelectual o un *screening* neonatal anormal. Un cariotipo está indicado para la evaluación de aneuploidías, mosaicismo, translocaciones e historia familiar de abortos involuntarios múltiples y/o múltiples anomalías congénitas³⁴.

Particularmente, el test utilizando tecnologías de NGS se realiza a partir de la secuenciación exómica del ADN extraído de unas pocas gotas de sangre del bebé, facilitando la detección temprana de determinados síndromes y permitiendo la prevención de afecciones que, diagnosticadas en los primeros días

o meses de vida y con intervenciones tempranas, se podrían evitar o disminuir.

El asesoramiento genético consiste en el proceso de obtención de información para asistir al individuo (pareja o familia) en el entendimiento de la naturaleza del desorden genético y/o congénito que lo está afectando, su transmisión y las opciones en el manejo y planificación familiar (consejo genético).

La genética cumple un papel muy importante en la reproducción y la planificación familiar. Los avances científicos y las diferentes innovaciones tecnológicas dieron lugar a que actualmente se pudieran ofrecer, a costos y tiempos accesibles, una amplia gama de servicios y test diagnósticos que se ajustan a diferentes necesidades, permitiendo la previsión tanto antes como durante y después del embarazo, la prevención y el diagnóstico temprano de condiciones hereditarias y el asesoramiento genético personalizado.

REFERENCIAS

1. Natrajan R, Reis-Filho JS. Next-generation sequencing applied to molecular diagnostics. *Expert Rev Mol Diagn* 2011;11:425-44.
2. Koboldt DC, et al. The next-generation sequencing revolution and its impact on genomics. *Cell* 2013;155(1):27-38.
3. Rabbani B, Mahdieh N, Hosomichi K, Nakaoka H, Inoue I. Next-generation sequencing: impact of exome sequencing in characterizing Mendelian disorders. *J Human Gen* 2012;57(10):621-32.
4. Orphanet: an online rare disease and orphan drug data base. INSERM 1997. Disponible en: <http://www.orpha.net>. [Consulta: agosto 2017].
5. Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM®. McKusick-Nathans Institute of Genetic Medicine, Johns Hopkins University (Baltimore, MD), August 17, 2017. World Wide Web URL: <https://omim.org/>
6. Bamshad MJ, Ng SB, Bigham AW, et al. Exome sequencing as a tool for Mendelian disease gene discovery. *Nat Rev Genet* 2011;12(11):745-55.
7. Nickerson DA, Bamshad MJ, Shendure J. Massively parallel sequencing and rare disease. *Hum Mol Genet* 2010;19:R119-124.
8. Rabbani B, Mahdieh N, Hosomichi K, Nakaoka H, Inoue I. Next-generation sequencing: impact of exome sequencing in characterizing Mendelian disorders. *J Hum Genet* 2012;57(10):621-32.
9. Richards, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med* 2015;17(5):405-24.
10. Shiroff JJ, Gregoski MJ. The measurement of patient attitudes regarding prenatal and preconception genetic carrier screening and translational behavioral medicine: an integrative review. *Transl Behav Med* 2017;7(2):364-70.
11. Mastantuoni E, Saccone G, Al-Kouatly HB, Paternoster M, D'Alessandro P, Arduino B, Carbone L, Esposito G, Raffone A, De Vivo V, Maruotti GM, Berghella V, Zullo F. Expanded carrier screening: A current perspective. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2018;230:41-54.
12. Plantinga M, et al. Population-based preconception carrier screening: how potential users from the general population view a test for 50 serious diseases. *Eur J Hum Gen*

- 2016;24(10):1417-23.
13. Gajecka M, et al. Unrevealed mosaicism in the next-generation sequencing era. *Mol Genet Genomics* 2016;291(2):513-30.
 14. Wieacker P, Steinhard J. The prenatal diagnosis of genetic diseases. *Deutsches Arzteblatt International* 2010; 107(48):857-62.
 15. Pergament E. The Future of Prenatal Diagnosis and Screening. *J Clin Med* 2014;3(4):1291-301.
 16. Nicolaides KH, Syngelaki A, Ashoor G, Birdir C, Touzet G. Non-invasive prenatal testing for fetal trisomies in a routinely screened first-trimester population. *Am J Obstet Gynecol* 2012;207(5):374.
 17. Zhang H, Gao Y, Jiang F, et al. Non-invasive prenatal testing for trisomies 21, 18 and 13: clinical experience from 146 958 pregnancies. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2015;45(5):530-8.
 18. Chen H-F, Chen SU, Ma G-C, et al. Preimplantation genetic diagnosis and screening: Current status and future challenges. *Journal of the Formosan Medical Association* 2018;117(2):94-100.
 19. Stern HJ. Preimplantation genetic diagnosis: prenatal testing for embryos finally achieving its potential. *J Clin Med* 2014;3(1):280-309.
 20. Saber más sobre fertilidad y reproducción asistida. SEF, Sociedad Española de Fertilidad. Disponible en: <https://www.sefertilidad.net/>
 21. Zorrilla M, Yatsenko AN. The genetics of infertility: current status of the field. *Curr Genet Med Rep* 2013;1(4).
 22. Venkatesh T, et al. New insights into the genetic basis of infertility. *Appl Clin Genet* 2014;7:235-43.
 23. Mallepaly R, Butler PR, Herati AS, Lamb DJ. Genetic basis of male and female infertility. *Monogr Hum Genet* 2017;1-16.
 24. Plaseska-Karanfilska D, et al. Genetic causes of male infertility. *BJMG* 2012;15,Suppl:31-4.
 25. Miyamoto T, et al. Human male infertility and its genetic causes. *Reprod Med Biol* 2017;16(2):81-8.
 26. Krausz C, Riera-Escamilla A. Genetics of male infertility. *Nat Rev Urol* 2018;15(6):369-84.
 27. Simpson JL. Genetics of female infertility due to anomalies of the ovary and mullerian ducts. *Methods Mol Biol* 2014;1154:39-73.
 28. Gajbhiye R, et al. Complex genetics of female fertility. Review article. *NPJ Genomic Medicine* 2018;(3):29.
 29. Witte JS. Genome-wide association studies and beyond. *Annu Rev Public Health* 2010;31:9-20.
 30. Kosova G, Scott NM, Niederberger C, Prins GS, Ober C. Genome-wide association study identifies candidate genes for male fertility traits in humans. *Am J Hum Genet* 2012;90(6):950-61.
 31. Aoxing Liu, Yachun Wang, Goutam Sahana, Qin Zhang, Lin Liu, Mogens Sandø Lund et, al. Genome-wide Association Studies for Female Fertility Traits in Chinese and Nordic Holsteins. *Scientific Reports* 2017;7. Article number: 8487
 32. Sapkota, Yadav, et al. Meta-analysis identifies five novel loci associated with endometriosis highlighting key genes involved in hormone metabolism. *Nature Communications* 2017;8:5539.
 33. Day F, et al. Large-scale genome-wide meta-analysis of polycystic ovary syndrome suggests shared genetic architecture for different diagnosis criteria. *PLoS Genetics* 2018;14:12 e1007813.
 34. Stoler JM, et al. Prenatal and postnatal genetic testing: why, how, and when? *Pediatr Ann* 2017 ;46(11):e423-e427.

ANÁLISIS CRÍTICO

Definiendo los límites de detección de los rearrreglos cromosómicos en embriones preimplantatorios usando secuenciación de siguiente generación

Defining the limits of detection for chromosome rearrangements in the preimplantation embryo using next generation sequencing

Cuman C, Beyer CE, Brodie D, Fullston T, Lin JJ, Willats E, Zander-Fox D, Mullen J
Hum Reprod 2018 doi: 10.1093/humrep/dey227. [Epub ahead of print]

Comentario: Dr. Cristian Álvarez Sedó
Director del Laboratorio BioCEGYR

La hibridación genómica comparada convencional (CGH) fue la primera de las metodologías de *screening* cromosómico completo (de sus siglas en inglés –CCS– *Comprehensive Chromosome Screening*). Esta metodología involucra el aislamiento y etiquetado del ADN obtenido de una biopsia de blastómera mediante sondas fluorescentes y el mismo se compara con el ADN de un individuo con cariotipo normal. Tanto el ADN de prueba como el de referencia se hibridan a nivel de cromosomas metafásicos durante aproximadamente 3 a 5 días¹. Esta metodología se denomina comúnmente mCGH

(proviene de hacer la hibridación en el estado cromosómico de metafase). El índice de detección de esta metodología está alrededor de 5 a 20 Mb (dependiendo de la plataforma empleada). A pesar de poseer un límite de detección similar al cariotipo convencional y el FISH, el punto a favor de la técnica es el poder explorar la totalidad de los cromosomas de la blastómera.

El mCGH convencional fue rápidamente reemplazado por microarreglos basados en CGH (aCGH), que implica la hibridación de ADN en un microarreglo que contiene aproximadamente 3000 a 4000

fragmentos de ADN humano de origen bacteriano (BAC) y la intensidad de ambas señales de hibridación se mide objetivamente mediante una fórmula logarítmica ($\log_2\text{Ratio}$)². La tasa de detección del aCGH es de aproximadamente 5-10 Mb³ y permite la detección de aneuploidías cromosómicas completas y aneuploidías segmentarias mayores de 5 Mb⁴.

Cuando el aCGH fue utilizado para PGT-A por los laboratorios comerciales, estos sabían que solo era útil para identificar aneuploidías cromosómicas completas y/o pérdidas o ganancias segmentarias completas, ya que en teoría no fue diseñado o validado para identificar anomalías cromosómicas estructurales ni mosaicos de tamaños muy pequeños (< 1 Mb). En este sentido, la plataforma 24Sure V3 (Illumina, antes Bluegenome) fue diseñada para la detección de anomalías con ganancias o pérdidas cromosómicas completas; sin embargo, la plataforma 24Sure+ (Illumina, antes Bluegenome), al poseer una mayor densidad de fragmentos de ADN en el microarreglo, pudo ser empleada con éxito en la detección de anomalías cromosómicas estructurales, principalmente en translocaciones robertsonianas⁵ y recíprocas. La capacidad de detección de la plataforma 24Sure+ es de 0,5 Mb a lo largo del genoma y de 0,25 Mb en las regiones subtelo méricas. Por lo que hasta el año 2015, la mayoría de los casos de PGT-SR (Estudio genético preimplantatorio para anomalías estructurales) se realizaban con éxito mediante esta plataforma. Sin embargo, en comparación de su versión simple (24Sure), esta tenía un costo muy elevado, por lo que en principio fue empleada de rutina para los casos de PGT-A.

Posteriormente al año 2015, la secuenciación de nueva generación (NGS) apareció como una tecnología robusta y reproducible que revolucionó el concepto de PGT-A y PGT-SR. Para este proceso se requiere previamente la amplificación del ADN. Al mismo tiempo, la incorporación de la bioinformática ayudó a que el algoritmo de decisión pueda ayudar a eliminar la mayoría de los artefactos producidos durante el proceso de amplificación/preparación de las bibliotecas genómicas. En la actualidad, principalmente existen dos plataformas de NGS para PGT-A (Illumina y Thermo Fisher). Las plataformas de NGS pueden identificar aneuploidías cromosómicas completas, mosaicismo (20-80%) y ADN mitocondrial, así también permiten la detección de translocaciones cuando el desbalance es mayor de 5-10 Mb⁶ y utilizando plataformas de mayor densidad este límite de detección puede llegar a 1 Mb, muy similar al obtenido por el 24Sure+.

Luego de esta reseña de las técnicas más empleadas en PGT-A y PGT-SR, analizaremos en detalle los aspectos técnicos y metodológicos del presente trabajo publicado en *Human Reproduction* en 2018.

El trabajo publicado tiene como objetivo primario demostrar que la plataforma de NGS puede tener igual o similar tasa de detección (concordancia) de rearrreglos cromosómicos en ADN proveniente de embriones que previamente fueron estudiados con la plataforma de *arrays* de alta resolución (24Sure+) y al mismo tiempo definir el límite de detección de la plataforma de NGS (Illumina) para casos de PGT-SR.

El diseño experimental fue de tipo retrospectivo, donde se revaluaron 200 embriones previamente identificados mediante la plataforma 24Sure+ y luego por NGS (Illumina, VeriSeq). Sin embargo, como primera crítica al trabajo debemos decir que el diseño no fue realizado de forma ciega, lo cual sería un modelo ideal cuando se trata de procedimientos de reanálisis. Esta conducta les daría mayor robustez a los resultados, ya que nos “asegura” que ambos análisis fueron realizados de forma independiente, e idealmente, por otro operador. Por otro lado, el hecho de que el material fuera provisto por dos centros diferentes no le suma un aspecto metodológico robusto necesariamente, más allá del de alcanzar un número de embriones adecuado, pero no desde el punto de vista del reanálisis, el cual es el principal objetivo del trabajo.

En los resultados previamente obtenidos para la plataforma de 24Sure+ fueron detectados casos de: translocaciones recíprocas (68 pacientes), inversiones pericéntricas (3 pacientes), inversiones paracéntricas (1 paciente) e inserciones (2 pacientes). Por otro lado, en relación con los rangos de definición de anomalías cromosómicas completas y/o mosaicos, corresponden adecuadamente a lo que la literatura actualmente define^{7,8}. Tanto el análisis de la plataforma *array* como el de NGS fueron realizados mediante el mismo *software* en su última versión. De manera muy cierta, los autores del trabajo hacen un acápito muy importante relacionado con la incapacidad de detección del NGS de algunas regiones cromosómicas, principalmente en los brazos p de los cromosomas acrocéntricos, los cuales son difícilmente detectados por la plataforma de NGS debido a su naturaleza en la secuencia, así como del cromosoma Y. En la Tabla 1 se representa claramente la falta de *bins* en los respectivos sectores. En este sentido, desde nuestro laboratorio siempre hemos recomendado analizar previamente el cariotipo parental antes de poder asegurar la detección de rearrreglos cromosómicos en embriones, ya que no siempre es

viable debido a estos aspectos técnicos del NGS.

Producto del análisis de *array* se produjeron 294 segmentos cromosómicos desbalanceados, los cuales fueron luego analizados mediante NGS. En relación con los resultados, los autores manifiestan que 16 de los 294 segmentos cromosómicos no fueron detectados (9) o no fueron concordantes (7). Así, la técnica de NGS detectó 285/294 (97%) de los segmentos desbalanceados previamente diagnosticados por *array*. Sin embargo, cuando analizan globalmente el caso de PGT-SR, los autores manifiestan que el 100% de los casos son concordantes, ya que teniendo en cuenta la significancia clínica del evento cromosómico, el resultado no cambiaría. Considero que este punto hay que tomarlo de manera muy delicada, ya que puede llevar a una interpretación inexacta del trabajo, en el sentido de que el NGS es "idéntico" al *array* de alta resolución. Creo que no es así, tiene ciertas ventajas desde otros puntos de vista, pero desde la resolución hay que considerar el otro aspecto de este trabajo, lo cual nos dice qué cambios que involucren 10 Mb de ADN pueden ser detectados por esta metodología y cuando son menores de esto no podrán ser valorados. Por lo tanto, siempre es importante destacar este punto en el momento de informar un embrión normal/balanceado, es decir, que es normal/balanceado considerando 10 Mb como límite de detección.

Otro punto para destacar es que los autores ponen de manifiesto algo fundamental en el momento de tomar decisiones en el laboratorio de biología molecular, son los resultados métricos de calidad de la corrida, lo cual es independiente entre corrida y corrida de NGS; así, en el momento de tomar decisiones respecto de los desbalances cromosómicos la confianza de los resultados tiene que alcanzar valores muy altos de calidad. En ese punto los laboratorios deben establecer e informar los valores métricos de calidad para los cuales determinan ganancias, pérdidas totales o parciales en los cromosomas. En nuestro caso, para el análisis de la viabilidad de los

casos de PGT-SR, analizamos la región donde se produciría el desbalance cromosómico y valoramos la cantidad de *bins* presentes en esa región (10 o más), la cual debe tener una densidad óptima para valorar los cambios que puedan ocurrir. Quiero recalcar este punto, ya que siempre es importante valorar cada caso de PGT-SR desde el punto de vista de la viabilidad de detección de los cambios (# de cromosoma, ubicación/región, cantidad de *bins* presentes en la región, etc.). Este punto que remarco fue igualmente considerado por los autores en la discusión del trabajo.

En conclusión, el presente trabajo tiene un gran aspecto positivo, el cual ha sido poner de manifiesto que la técnica de NGS puede ayudar a la detección de desbalances cromosómicos con alta eficiencia; sin embargo, no debemos dejar pasar por alto que cada caso es independiente y debe ser evaluada su factibilidad.

REFERENCIAS

1. Wilton L, Williamson R, McBain J, et al. Birth of a healthy infant after preimplantation confirmation of euploidy by comparative genomic hybridization. *N Engl J Med* 2001;345(21):1537-41.
2. Handyside AH. 24-chromosome copy number analysis: a comparison of available technologies. *Fertil Steril* 2013;100(3):595-602.
3. Alfarawati S, Fragouli E, Colls P, et al. First births after preimplantation genetic diagnosis of structural chromosome abnormalities using comparative genomic hybridization and microarray analysis. *Hum Reprod* 2011;26(6):1560-74.
4. Geraedts J, Sermon K. Preimplantation genetic screening 2.0: the theory. *Mol Hum Reprod* 2016;22(8):839-44.
5. Fiorentino F, Spizzichino L, Bono S, et al. PGD for reciprocal and Robertsonian translocations using array comparative genomic hybridization. *Hum Reprod* 2011;26(7):1925-35.
6. Fiorentino F, Biricik A, Bono S, et al. Development and validation of a next-generation sequencing-based protocol for 24-chromosome aneuploidy screening of embryos. *Fertil Steril* 2014;101(5):1375-82.
7. Munné S, Blazek J, Large M, et al. Detailed investigation into the cytogenetic constitution and pregnancy outcome of replacing mosaic blastocysts detected by high resolution Next Generation Sequencing. *Fertil Steril* 2017;108:62-71.
8. Spinella F, Fiorentino F, Biricik A, et al. Extent of chromosomal mosaicism influences the clinical outcome of in vitro fertilization treatments. *Fertil Steril* 2018;109:77-83.

COMENTARIO BIBLIOGRÁFICO

Aborto recurrente. Guía de la Sociedad Europea de Reproducción Humana y Embriología Noviembre de 2017

Recurrent pregnancy loss. Guidelines of the European Society of Human Reproduction and Embryology November 2017

ESHRE Early Pregnancy Guideline Development Group

Guía de la *European Society of Human Reproduction and Embryology*. Noviembre de 2017
<https://www.eshre.eu/Guidelines-and-Legal/Guidelines/Recurrent-pregnancy-loss.aspx>

INTRODUCCIÓN

La Sociedad Europea de Reproducción Humana y Embriología (ESHRE), a través de un grupo de trabajo de especialistas referentes en el área reproductiva, generó una serie de pautas para el diagnóstico y tratamiento de pacientes con pérdidas tempranas del embarazo basada tanto en evidencias surgidas de la investigación básica como de evidencias clínicas¹. La guía proporciona un soporte para profesionales de la salud de nivel secundario y terciario que tienen contacto directo con las parejas con pérdida recurrente del embarazo (PRE) y toman decisiones con respecto a su atención. En ella, a través de un enfoque multidisciplinario, se recomiendan potenciales tratamientos y distintos protocolos de investigación que podrían ser útiles para identificar el origen de las pérdidas del embarazo o posibles blancos terapéuticos. El objetivo general de esta guía es proporcionar a los especialistas clínicos criterios consensuados para el tratamiento de mujeres con PRE, entendiendo como tal la pérdida de dos o más embarazos antes de las 10 semanas de gestación, excluyendo embarazos ectópicos y embarazos molares. A continuación se comentan en los capítulos correspondientes a A) Causas endocrino-metabólicas y B) Causas inmunológicas.

A) Comentario bibliográfico del capítulo Causas endocrino-metabólicas de aborto recurrente

Dra. Mariana López

Médica Endocrinóloga Especializada en Trastornos Endocrinos de la Reproducción y el Embarazo

Endocrinóloga del Centro de Investigaciones en Medicina Reproductiva (CIMER), CABA, Argentina

La ESHRE publicó en noviembre de 2017 una guía sobre los diferentes factores para evaluar en las parejas con abortos recurrentes.

Resumiré y comentaré aquí las causas endocrino-metabólicas, intentando responder las siguientes preguntas:

¿Es necesario evaluar los factores endocrino-metabólicos en las pacientes con abortos recurrentes? ¿Cuáles? ¿Qué posibilidades terapéuticas podemos ofrecer a nuestras pacientes?

Disfunción tiroidea

Las hormonas tiroideas son esenciales para lograr el embarazo, que este sea evolutivo y el desarrollo fetal normal. Los trastornos de esta glándula y la presencia de anticuerpos antiperoxidasa tiroidea (ATPO)

y/o de anticuerpos antitiroglobulina (ATG) se asocian con foliculogénesis, espermatogénesis, fertilización y embriogénesis alteradas, avalando un papel importante de los trastornos tiroideos en la subfertilidad y en la pérdida del embarazo. El estudio publicado por Vissenberg et al. en 2015 así lo confirma².

Hipotiroidismo

La guía de la ESHRE expresa que no se han encontrado estudios de alta calidad que demuestren fehacientemente una asociación entre hipotiroidismo manifiesto y pérdida recurrente del embarazo (PRE). Un estudio de calidad moderada evaluó la función tiroidea en 163 mujeres no embarazadas con antecedentes de PRE y 170 controles de la misma edad. La prevalencia de hipotiroidismo, basada en el dosaje de T₃ (triiodotironina), T₄ (tiroxina) y TSH (hormona estimulante de la tiroides), fue más alta en mujeres con PRE (4,29%) en comparación con los controles (0,61%), pero no hubo evidencia de una diferencia significativa en el riesgo de PRE entre 8 mujeres hipotiroideas y 325 eutiroides (OR 7,6; IC 95%: 0,92 a 62)^{3,4}.

Tres estudios investigaron la asociación entre hipotiroidismo subclínico y PRE.

En el estudio de cohorte de Bernardi et al., el 19% de 286 mujeres con PRE (≥ 2 pérdidas de embarazo < 10 semanas) mostraron hipotiroidismo subclínico. Definen este último como TSH > 2,5 mUI/L con tiroxina libre normal. Hallaron una tasa acumulativa de recién nacido vivo similar en mujeres con hipotiroidismo subclínico y mujeres eutiroides⁵.

Lo que se le critica a este estudio es la decisión de los autores de cambiar la definición clásica de hipotiroidismo subclínico, ya que el mismo se considera cuando la TSH está por encima del nivel de corte considerado normal para cada laboratorio, habitualmente TSH > 4 mUI/L con niveles normales de T₄ y/o T₄ libre.

Resultados similares fueron reportados por Van Dijk et al. en 2016, detectaron hipotiroidismo subclínico en solo 2,4% de 848 mujeres con PRE y no encontraron diferencias en la tasa de nacidos vivos o abortos espontáneos en mujeres con hipotiroidismo subclínico y mujeres eutiroides. En el tercer estudio, se detectó hipotiroidismo subclínico en 27% de 100 mujeres embarazadas con antecedentes de PRE, que fue similar a la prevalencia en el grupo de control de 100 mujeres embarazadas sin antecedentes de pérdida del embarazo (24%)⁶.

Hipotiroidismo aislado

Se la define como una concentración de TSH normal con T₄ libre en el percentil 5 o 10 inferior del rango de referencia. Se la ha asociado con un mayor riesgo de complicaciones obstétricas y deterioro neurocognitivo infantil, pero no con PRE. Otros autores no confirmaron esta asociación^{7,8}.

Autoinmunidad tiroidea

La prevalencia de ATPO positivo es del 8-14% en mujeres en edad reproductiva. En mujeres con PRE, la presencia de autoanticuerpos ATPO y ATG es más frecuente que en la población general. Se encontró una asociación entre la presencia de ATPO y PRE en un metanálisis de 13 estudios (3 cohortes, 10 estudios de control de casos). Incluso encontraron un aumento en la probabilidad de aborto espontáneo en mujeres con autoanticuerpos tiroideos elevados, pero con función tiroidea conservada⁹.

Un estudio más reciente de casos y controles detectó autoanticuerpos tiroideos: ATPO y ATG o anticuerpos antirreceptor de TSH (TRAB) en el 28,75% de 160 mujeres con PRE y en el 13% de 100 mujeres del grupo de control.

Comentario

Debemos reconocer la presencia de ATPO o ATG positivos como marcador de un desbalance autoinmune sistémico y sabiendo que tanto la embriogénesis como la implantación son fenómenos inmunológicos es esperable que las mujeres con anticuerpos contra la tiroides tengan afectación en estos dos eventos fisiológicos, aunque lamentablemente nos queda mucho por recorrer en el aprendizaje de la inmunología para poder ofrecer a las pacientes un tratamiento adecuado.

La positividad de estos anticuerpos también nos marca una posible falla en el aumento fisiológico de la función tiroidea durante la gestación y la necesidad de realizar controles estrictos de TSH en estas mujeres.

En conclusión, se ha encontrado una clara asociación entre la autoinmunidad tiroidea y PRE. Por la alta prevalencia de hipotiroidismo subclínico y autoinmunidad tiroidea en mujeres con PRE y el potencial beneficio de las opciones terapéuticas.

Por otro lado, considero importante hacer aquí un comentario sobre la necesidad de aumentar la ingesta de yodo durante la gestación y la lactancia para poder sintetizar correctamente las hormonas tiroideas, aunque no se ha relacionado estrictamente su déficit con pérdidas reproductivas recurrentes.

Durante el embarazo se eleva la globulina ligadora de tiroxina (TBG), con aumento plasmático de T₃ y T₄ totales; aumenta la eliminación renal de yodo y se necesita proveer al feto de yodo para que produzca sus propias hormonas; es por ello que el requerimiento diario de este elemento se eleva a 250 µg/día. De ahí la importancia de no quitar la sal de la dieta como norma en todas las mujeres embarazadas. En la Argentina la misma está yodada por ley y es la fuente más importante de ingesta de yodo. Si fuera necesario retirarla por alguna patología, se deben indicar suplementos vitamínicos que contengan al menos 200 µg de yodo por comprimido.

Recomendación

Se recomienda realizar a estas pacientes pruebas de función tiroidea: TSH y anticuerpos: ATPO.

Hipertiroidismo

El hipertiroidismo, cuya etiología más frecuente es la enfermedad de Graves-Basedow, se puede hallar en 0,1-0,4% de las embarazadas¹⁰. Estas mujeres tienen un mayor riesgo de complicaciones durante el embarazo, incluyendo abortos esporádicos, preeclampsia, parto prematuro e insuficiencia cardíaca congestiva. Sin embargo, no hay estudios que describan la asociación entre hipertiroidismo y abortos recurrentes⁸.

Comentario

Recordemos que es necesario evaluar los anticuerpos antirreceptor de TSH (TRAB) porque definen la etiología del hipertiroidismo (enfermedad de Graves-Basedow) y atraviesan fácilmente la placenta pudiendo estimular la tiroides fetal.

Es muy importante tener en cuenta que una mujer que fue tratada por hipertiroidismo antes del embarazo con fármacos antitiroideos, yodo radiactivo o tiroidectomía y ha evolucionado al eutiroidismo o al hipotiroidismo puede seguir teniendo TRAB elevados y durante la gestación hay que evaluar el impacto de estos sobre la tiroides fetal.

Tratamiento de las distintas patologías tiroideas

Hipotiroidismo clínico

El hipotiroidismo en el embarazo se asocia con complicaciones como mayor riesgo de parto prematuro, bajo peso al nacer y aborto espontáneo, así como efectos perjudiciales sobre el desarrollo neurocognitivo del feto. El tratamiento

con hormona tiroidea está indicado para evitar el hipotiroidismo materno. Los niveles de TSH objetivo deben estar dentro de los rangos de referencia específicos locales y por trimestre, o si no los hubiera, al menos por debajo de los límites superiores de TSH recomendados a nivel mundial: primer trimestre 2,5 mU/L; segundo trimestre 3,0 mU/L; tercer trimestre 3,5 mU/L^{7,8}.

Comentario

Es importante en este punto tener estrategias anticipatorias, ya que durante el embarazo se producen una serie de cambios fisiológicos que aumentan los requerimientos de hormonas tiroideas; por lo tanto, la mayoría de las veces es necesario aumentar la dosis diaria de levotiroxina en aquellas mujeres que ya se encuentren bajo tratamiento sustitutivo.

En las pacientes con hipotiroidismo por tiroiditis de Hashimoto lo habitual es lograr el objetivo de TSH con un aumento del 30% de la dosis de levotiroxina que tomaba previa a la gestación, y en aquellas pacientes tratadas con yodo radiactivo o tiroidectomizadas, hasta un 50%.

Hipotiroidismo subclínico

Se han reportado opiniones contradictorias con respecto al tratamiento con levotiroxina en mujeres con PRE e hipotiroidismo subclínico.

Las Guías de la *European Thyroid Association* para el manejo del hipotiroidismo subclínico en el embarazo sugieren que debe tratarse con levotiroxina antes de la concepción o durante la gestación. Hay dos estudios que muestran que el tratamiento con levotiroxina disminuyó la aparición de eventos adversos en la madre y el feto y redujo las tasas de aborto^{8,11,12}

La *American Thyroid Association* avala el tratamiento con levotiroxina para mujeres embarazadas con hipotiroidismo subclínico: si la TSH es > 10 mU/L, independientemente de la presencia de anticuerpos, y si la TSH se encuentra por encima de rangos específicos del trimestre y ATPO+.

Bernardi, en el año 2013, realizó un estudio de cohortes observacional de mujeres con pérdida recurrente de embarazos tempranos (≥ 2 pérdidas de gestación < 10 semanas), pero puso como corte para definir hipotiroidismo subclínico una TSH > 2,5 mUI/L con tiroxina libre normal, por lo que fue ampliamente criticado⁵.

En el estudio, la tasa acumulada de nacidos vivos se comparó en pacientes atendidas antes

de 2008 (cuando no se trataba el hipotiroidismo subclínico) y después de 2008, cuando las pacientes con hipotiroidismo subclínico recibieron tratamiento con levotiroxina antes del embarazo para mantener la TSH $\leq 2,5$ mUI/L. El número de recién nacidos vivos por embarazo para mujeres tratadas ($n = 24$) versus no tratadas ($n = 15$) fue 22/46 (48%) versus 12/23 (52%), respectivamente. El número de recién nacidos vivos acumulativo fue del 71% (17/24) y del 67% (10/15), respectivamente.

Es necesario realizar más investigaciones sobre el posible efecto positivo del tratamiento con levotiroxina y los riesgos en grandes estudios controlados y aleatorizados.

Autoinmunidad tiroidea

No se han encontrado estudios prospectivos, aleatorizados, doble ciego, que evalúen el efecto de los distintos tratamientos en los resultados del embarazo en mujeres con PRE y autoinmunidad tiroidea.

La evidencia indirecta sobre los resultados del embarazo, incluida la tasa de aborto espontáneo después del tratamiento con levotiroxina en mujeres eutiroideas con autoinmunidad tiroidea, se ha resumido en dos metanálisis. Se informó una reducción en el riesgo de aborto espontáneo en mujeres tratadas con levotiroxina (RR 0,52; IC 95%: 0,22-1,15)^{9,13}.

En un estudio de casos y controles sobre autoinmunidad tiroidea, se evaluó la prevalencia de hipotiroidismo subclínico y complicaciones maternas y fetales en 100 mujeres embarazadas sanas y 100 mujeres embarazadas con antecedentes de PRE, de las cuales el 31% mostraron autoinmunidad tiroidea (ATPO+). Todas las mujeres con ATPO+ recibieron terapia con levotiroxina. Los autores no encontraron diferencias en la prevalencia de abortos espontáneos entre hipotiroideas y eutiroideas con ATPO+ tratadas con levotiroxina¹⁴.

Hasta el momento, los estudios publicados no nos permiten extraer conclusiones sólidas como para indicar tratamiento con levotiroxina en pacientes abortadoras eutiroideas con tiroiditis de Hashimoto.

Recomendación

El hipotiroidismo evidente que surge antes de la concepción o durante la gestación temprana debe tratarse con levotiroxina en mujeres con PRE. Tipo de recomendación: **Fuerte**.

Existe evidencia contradictoria con respecto al efecto del tratamiento con levotiroxina en muje-

res con hipotiroidismo subclínico y PRE. El tratamiento de mujeres con hipotiroidismo subclínico puede reducir el riesgo de aborto espontáneo, pero el beneficio potencial del tratamiento debe equilibrarse con los riesgos. Tipo de recomendación: **Condiciona**l.

Si las mujeres con hipotiroidismo subclínico y PRE están embarazadas de nuevo, el nivel de TSH debe controlarse al inicio de la gestación (7-9 semanas) y el hipotiroidismo debe tratarse con levotiroxina. **GPP** (recomendación de expertos).

No hay pruebas suficientes para apoyar el tratamiento con levotiroxina en mujeres eutiroides con tiroiditis de Hashimoto y PRE fuera de un ensayo clínico. Tipo de recomendación: **Condiciona**l.

Síndrome del ovario poliquístico y alteraciones del metabolismo de la insulina

El síndrome del ovario poliquístico (SOP) se asocia con varias complicaciones durante el embarazo: diabetes gestacional, preeclampsia, hipertensión inducida por el embarazo y probablemente pérdida del embarazo, obesidad, hiperinsulinemia, hipersecreción de LH, hiperandrogenismo y trombofilia^{15,16}.

Metabolismo de la insulina-SOP

Se han evaluado diferentes marcadores del metabolismo de los hidratos de carbono en mujeres con PRE y controles: insulina en ayunas (FI), glucosa en ayunas (FG), relación glucosa/insulina en ayunas (FG/FI) y resistencia a la insulina (IR).

Se define resistencia a la insulina como una condición en la que la eficacia de la insulina para promover la absorción y la utilización de glucosa por órganos, tejidos y células es menor de lo normal. Los estudios han utilizado diferentes maneras de evaluar la resistencia a la insulina: un nivel de insulina en ayunas > 20 µU/mL o una relación glucosa/insulina en ayunas > 4,5 (HOMA-IR).

Se evaluó la resistencia a la insulina, calculada a través de los índices HOMA-IR, FI y FG en 65 mujeres con PRE idiopática y 53 controles fértiles sin pérdidas durante el embarazo. Los índices HOMA-IR y FI fueron significativamente más altos en las pacientes con PRE, la FG fue significativamente más alta en el grupo de control¹⁷.

Por otra parte, en el estudio de Maryam, en el que se evaluaron 50 mujeres con PRE y se compararon con 50 controles, se detectó IR en el 24% de las mujeres con PRE en comparación con el 8% de los controles¹⁸.

Un estudio retrospectivo de casos y controles que comparó las características de mujeres con PRE y SOP ($n = 126$) y sin SOP ($n = 117$) describió un IMC significativamente más alto, relación LH/FSH, glucemia posprandial, HOMA-IR y niveles de homocisteína en mujeres con SOP en comparación con aquellas sin SOP¹⁹.

Otro estudio de casos y controles encontró niveles más altos de fructosamina sérica materna (marcador de control glucémico) en mujeres con PRE ($n = 117$) en comparación con los controles, lo que podría indicar una asociación entre intolerancia subclínica a la glucosa y PRE, aunque esto necesita confirmación²⁰.

Recomendación

Se ha demostrado que la resistencia a la insulina es más prevalente en mujeres con antecedentes de PRE que en mujeres sin PRE. El mecanismo por el cual la resistencia a la insulina puede llevar a la pérdida del embarazo es desconocido. La evaluación de SOP, insulina en ayunas y glucosa en ayunas no se recomienda en mujeres con PRE, dado que no mejora el pronóstico del próximo embarazo. Tipo de recomendación: **Fuerte**.

Comentario

Si bien la evaluación de glucemia e insulina en ayunas no se recomienda en mujeres con PRE, debemos siempre evaluar a la paciente en el consultorio: peso, talla, índice de masa corporal, perímetro de la cintura y la cadera, presencia de acantosis *nigricans*, acrocordomas, etc., y en aquellas con síndrome metabólico es óptimo realizar una curva de tolerancia oral a la glucosa (CTOG) para poder hacer un diagnóstico adecuado y tomar luego decisiones en cuanto al tratamiento por indicar, ya sea farmacológico o no.

Tratamiento con metformina

La metformina es un hipoglucemiante oral utilizado para la diabetes mellitus tipo 2 y actualmente se considera seguro y efectivo para la diabetes gestacional. Varios estudios sobre la metformina descubrieron que es eficaz para mejorar los resultados del embarazo en mujeres con poliquistosis ovárica (PCO) y resistencia a la insulina. En pacientes con PCO, se demostró que la metformina reduce significativamente la tasa de abortos²¹⁻²⁴.

Con base en estos resultados, podría pensarse que el tratamiento con metformina aumenta las posibilidades de un recién nacido vivo en mujeres con

SOP y antecedente de PRE. Sin embargo, no hay estudios que se enfoquen en mujeres con PRE y PCO.

Uno de los únicos estudios sobre el tratamiento con metformina para las mujeres con PRE y defectos del metabolismo de la glucosa es el pequeño estudio de Zolghadri et al. Se administró metformina o placebo a mujeres con PRE y prueba de tolerancia anormal a la glucosa. La tasa de aborto espontáneo se redujo significativamente después de la terapia con metformina en comparación con el placebo 15% frente a 55%²⁵.

Un metanálisis reciente sobre los riesgos de la metformina durante el embarazo concluyó que la exposición a la metformina durante el primer trimestre del embarazo no aumenta el riesgo de defectos congénitos²⁶.

Recomendación

No hay pruebas suficientes para recomendar la administración de metformina en el embarazo para prevenir abortos en mujeres con PRE. Tipo de recomendación: **Condiciona**l.

La evidencia indirecta podría respaldar el uso del tratamiento con metformina para aumentar la tasa de nacidos vivos en mujeres con PCO, pero a falta de estudios sustanciales en mujeres con PRE y PCO, el grupo de trabajo decidió que no se recomienda la metformina.

Prolactina

La prolactina es una hormona proteica esencial para la reproducción humana, desempeña un papel importante en el mantenimiento del cuerpo lúteo y la secreción de progesterona²⁷.

Un estudio de casos y controles demostró que los PRE se asocian con anomalías en la secreción de prolactina durante la fase folicular después de encontrar concentraciones medias más altas de prolactina en 42 mujeres no embarazadas con antecedentes de PRE en comparación con 42 mujeres nulíparas con infertilidad tubárica o factor masculino sin aborto espontáneo²⁸.

Por el contrario, un estudio reciente descriptivo transversal no encontró diferencias en los niveles de prolactina sérica en 69 mujeres con PRE en comparación con 31 mujeres con infertilidad primaria y 30 mujeres fértiles.

Recomendación

No se recomienda dosar prolactina en mujeres con PRE en ausencia de síntomas clínicos de hiperprolactinemia (oligo-amenorrea-galactorrea).

Comentario

La prolactina es necesaria para la reproducción humana, tanto su exceso como su déficit la afectan, pero no se la ha asociado con PRE. Solo es necesario evaluarla cuando las pacientes tienen síntomas sugestivos de su alteración como, por ejemplo, trastorno del ciclo menstrual o galactorrea y en condiciones óptimas de ayuno, sueño, durante la fase folicular temprana y sin la ingesta de fármacos que la afectan.

Tratamiento

Las pacientes con hiperprolactinemia que requieren terapia médica son tratadas con agonistas de la dopamina (bromocriptina o cabergolina).

En un estudio realizado por Hirahara, se confirmó que en mujeres con PRE la bromocriptina normaliza de manera efectiva los niveles séricos de prolactina. Las mujeres con PRE e hiperprolactinemia fueron asignadas a tratamiento con bromocriptina desde antes de la concepción hasta el final de la novena semana de gestación o sin tratamiento. Veintiuna de las 24 mujeres tratadas con bromocriptina concibieron: 18 tuvieron un nacimiento vivo (85,7%) y 3 abortaron (14,3%), mientras que en el grupo no tratado 21 de las 22 mujeres concibieron, 11 tuvieron un nacimiento vivo (52,4%) y 10 abortaron (47,6%). Además, los niveles séricos de prolactina durante el embarazo temprano (5-10 semanas de gestación) fueron significativamente más altos en las mujeres que abortaron que en las mujeres con embarazos exitosos²⁹.

Recomendación

El tratamiento con bromocriptina se puede considerar en mujeres con PRE e hiperprolactinemia para aumentar la tasa de nacidos vivos. Tipo de recomendación: **Condiciona**l.

En mujeres con PRE e hiperprolactinemia, el tratamiento con bromocriptina normaliza los niveles de prolactina sérica y podría ser efectivo para aumentar la posibilidad de un nacimiento vivo. Sin embargo, esta conclusión se basa en un único estudio pequeño y, por lo tanto, debe confirmarse.

Comentario

En la Argentina, en 2010, la Dra. Stalldecker coordinó un trabajo observacional retrospectivo y multicéntrico acerca de los efectos de la cabergolina sobre el embarazo y el desarrollo embrionario-fetal. Evaluaron 103 embarazos en 90 mujeres con hiperprolactinemia tratadas con cabergolina.

Concluyeron que no hubo una frecuencia significativamente mayor de complicaciones en los embarazos y/o en los niños expuestos a cabergolina que en la población normal. Este fármaco es mucho mejor tolerado que la bromocriptina para el tratamiento de la hiperprolactinemia, cualquiera que sea su etiología.

Evaluación de la reserva ovárica

A partir de la asociación entre la edad materna avanzada y la PRE, se sugiere que la disminución de la reserva ovárica podría ser un factor causante o pronóstico de PRE.

La reserva ovárica puede evaluarse con mediciones de FSH, estradiol (E2), inhibina B y hormona antimülleriana (HAM) o por ecografía para determinar el conteo de folículos antrales y el volumen ovárico.

En un estudio transversal se evaluó la reserva ovárica en 71 mujeres con antecedentes de PRE sin diagnóstico etiológico y se comparó con 70 controles fértiles de la misma edad. Los niveles de FSH fueron significativamente más altos en las mujeres con PRE en comparación con los controles. Los niveles de HAM fueron significativamente más bajos en el grupo PRE. El porcentaje de mujeres con reserva ovárica disminuida (definidas como niveles de FSH ≥ 11 U/L) fue significativamente más alto en el grupo PRE. Los niveles de LH, la relación FSH/LH y E2, el volumen medio de ovario y el conteo de folículos antrales fueron similares entre los grupos³⁰.

La reserva ovárica en mujeres con PRE inexplicable también se ha comparado con los marcadores de reserva ovárica en mujeres con PRE explicada. El porcentaje de mujeres con niveles elevados de FSH y/o estradiol fue significativamente mayor en la PRE inexplicable en comparación con la PRE explicada^{31,32}.

Recomendación

La evaluación de la reserva ovárica no se recomienda de forma rutinaria en mujeres con PRE. En caso de sospecha de insuficiencia ovárica, la evaluación de la reserva ovárica se puede utilizar para el diagnóstico y para estimar las posibilidades futuras de un nacido vivo para estas parejas.

Comentario

Sabemos que las mujeres disminuyen su reserva ovárica a medida que envejecen; por lo tanto, la edad materna es el principal indicador de la

reserva ovárica. Si la mujer tiene un trastorno del ciclo menstrual debe ser evaluada clínica y bioquímicamente para conocer su etiología y descartar el comienzo de una insuficiencia ovárica prematura. También recordemos que en las mujeres con patología hipotálamo-hipofisaria pierden valor diagnóstico las gonadotropinas y debemos dar importancia a la HAM y a la evaluación ovárica por ecografía.

Fase lútea inadecuada

La progesterona es esencial para la transformación secretora del endometrio que permite la implantación y el mantenimiento del embarazo temprano. Se define la insuficiencia de fase lútea como un déficit de progesterona que no logra mantener un endometrio secretor. La insuficiencia de fase lútea puede ser causada por varias endocrinopatías, que incluyen estrés, PCO y trastornos de la prolactina^{33,34}.

La evaluación de una posible asociación entre la insuficiencia de la fase luteínica y la PRE se ve obstaculizada por los diferentes criterios de diagnóstico para la insuficiencia de fase lútea.

Se compararon la sensibilidad y la especificidad de las pruebas clínicas comúnmente utilizadas para el diagnóstico de insuficiencia de fase lútea en 19 mujeres con infertilidad o PRE y 15 controles normales. La prueba recomendada es una concentración sérica media de progesterona (P) en fase lútea < 10 ng/mL o la suma de tres niveles séricos de P < 30 ng/mL. Se encontró que la biopsia endometrial programada (realizada en la fase lútea tardía) tiene sensibilidad y especificidad aceptables. Se demostró baja sensibilidad o especificidad para los gráficos de temperatura corporal basal, longitud de fase lútea ≤ 11 días y diámetro del folículo preovulatorio³⁵.

Dos de cada tres estudios controlados de calidad aceptable no confirmaron una asociación entre la insuficiencia de fase lútea y la PRE.

Li y sus colegas encontraron defecto en la fase lútea en 27% de 122 mujeres con PRE y en 11% en 18 controles fértiles. Balasch et al. encontraron insuficiencia de fase lútea, diagnosticada mediante biopsia endometrial en 28,3% de 60 mujeres con PRE, que fue significativamente más que en los controles, 4% en 25 mujeres fértiles y 12,9% en 355 pacientes infértiles^{36,37}.

Basado en la evidencia inconsistente de asociación y sin un valor claro para el pronóstico y el tratamiento el grupo de trabajo decidió no recomendar la prueba de insuficiencia de fase lútea.

Tratamiento con progesterona o gonadotropina coriónica humana

El efecto de la progesterona, tanto por vía vaginal como oral, se ha estudiado en mujeres con PRE inexplicable y aunque las conclusiones de los estudios varían significativamente, el grupo de desarrollo de recomendaciones sugiere no prescribir progesterona a las mujeres con PRE inexplicada.

Los estudios sobre gonadotropina coriónica humana (hCG) para mejorar la posibilidad de gestación evolutiva en mujeres con PRE se han resumido recientemente en una revisión Cochrane. Los resultados demostraron un beneficio significativo en el uso de hCG para prevenir PRE, pero el poder del metanálisis fue limitado debido al pequeño número de estudios y la heterogeneidad metodológica y clínica. Ninguno de los estudios informó efectos adversos con el uso de hCG³⁸.

Recomendación

No hay pruebas suficientes para recomendar el uso de hCG para mejorar la tasa de nacidos vivos en mujeres con PRE e insuficiencia de fase lútea. El grupo de trabajo no recomienda el uso de progesterona en mujeres con insuficiencia de fase lútea y PRE inexplicable.

Tratamiento con hiperestimulación ovárica controlada (HOC)

La eficacia de la estimulación ovárica controlada para aumentar la posibilidad de un nacimiento vivo en mujeres con PRE (tres o más pérdidas consecutivas en el primer trimestre del embarazo) y defecto en la fase lútea se mostró en un pequeño estudio de Li et al. Estudiaron 21 mujeres con PRE inexplicada y desarrollo endometrial retrasado (> 2 días después de la fecha cronológica). Las mujeres se sometieron al menos a un ciclo de estimulación ovárica controlada con gonadotropina menopáusica humana (hMG). De los 36 ciclos de tratamiento analizados, 13 (33%) ciclos de 12 sujetos resultaron en un embarazo, de los cuales 2 resultaron en un aborto espontáneo. En comparación, 7 de 12 embarazos en ciclos sin tratamiento dieron como resultado un aborto espontáneo³⁹.

Otros dos estudios sobre la inducción de la ovulación como tratamiento para PRE seleccionaron mujeres con PCO y PRE. En el estudio de Clifford y sus colegas, 106 mujeres ovuladoras con antecedente de aborto espontáneo recurrente, ovarios poliquísticos e hipersecreción de LH fueron asignadas aleatoriamente a la supresión pitui-

taria con un análogo de GnRH seguido de dosis baja de fármacos para inducción de la ovulación y progesterona en fase lútea o se les permitió ovular espontáneamente y luego se les administró progesterona en fase lútea sola o placebo en fase lútea. No hubo diferencia en la tasa de concepción (80% vs. 82%) o tasa de nacidos vivos (65% vs. 76%) entre los grupos, ni hubo diferencia entre las mujeres que recibieron progesterona y las que recibieron un placebo⁴⁰.

Andrógenos

Los niveles elevados de andrógenos están asociados con el retraso del desarrollo endometrial en la fase lútea y se han evaluado como una posible causa de la PRE.

Tres estudios de casos y controles de calidad aceptable muestran resultados inconsistentes para una asociación entre aumento de testosterona y PRE. Los niveles de testosterona y androstenediona fueron significativamente más altos en 42 mujeres con PRE en comparación con 18 controles fértiles sin antecedentes de PRE. Del mismo modo, los niveles de testosterona fueron significativamente más altos en 21 mujeres con PRE inexplicable en comparación con 10 mujeres multíparas. Sin embargo, en el estudio de Kazerooni, los niveles de testosterona no fueron significativamente diferentes en 60 mujeres con PRE y 60 controles sanos sin antecedentes de pérdida del embarazo^{16,41,42}.

Ante la disparidad de los resultados, la evaluación bioquímica de andrógenos no se recomienda en mujeres con PRE si no tienen manifestaciones clínicas de hiperandrogenismo.

Vitamina D

La deficiencia de vitamina D se describió como un factor de riesgo para diabetes gestacional, bajo peso para la edad gestacional y preeclampsia en las revisiones sistemáticas. Muy pocos estudios han evaluado la vitamina D en mujeres con PRE y los resultados son menos consistentes⁴³.

En un estudio de casos y controles se detectó deficiencia de vitamina D (< 30 ng/mL) en el 47,4% de 133 mujeres con PRE. Además, la disminución del nivel de vitamina D se asoció con una mayor prevalencia de anticuerpos antifosfolipídicos, antígeno antinuclear, anti-ssDNA y ATPO⁴⁴.

Un estudio reciente del mismo equipo de investigación sugiere que la vitamina D tiene efectos reguladores sobre la citotoxicidad de las células NK y la secreción de citoquinas⁴⁵.

En un intento por aclarar el papel de la vitamina D en la inmunorregulación de la interfaz fetomaterna y el beneficio potencial de la suplementación de vitamina D en PRE, estudios recientes han explorado las diferencias en la expresión del receptor de vitamina D y 25-hidroxivitamina D3-1 α -hidroxilasa (CYP27B1) en vellosidades coriónicas y decidua de mujeres con PRE. Reportaron una menor expresión de receptor de vitamina D y 25-hidroxivitamina D3-1 α -hidroxilasa en mujeres con PRE en comparación con las mujeres embarazadas normales^{46,47}.

No hay informes certeros de la existencia de una asociación entre el nivel plasmático de la vitamina D y abortos; por lo tanto, el dosaje de vitamina D no se recomienda en mujeres con PRE. Independientemente de la PRE, la administración de suplementos de vitamina D se prescribe frecuentemente en la actualidad en mujeres embarazadas.

Tratamiento

El nivel plasmático de la vitamina D se ve afectado por factores que regulan su producción en la piel, la latitud, la estación del año, el envejecimiento, el uso de protectores solares y la contaminación del aire⁴⁸.

La deficiencia de vitamina D durante el embarazo afecta negativamente la salud, el crecimiento y el desarrollo del niño⁴⁹.

Aunque la deficiencia de vitamina D es prevalente en mujeres con PRE (47,4%, < 30 ng/mL), no se recomienda realizar pruebas de niveles de vitamina D con el objetivo de identificar causas u ofrecer opciones de tratamiento a estas mujeres⁴⁴.

No hay estudios que evalúen el efecto de la administración de suplementos de vitamina D sobre la posibilidad de un nacimiento vivo en el próximo embarazo en mujeres con PRE. Un estudio reciente concluyó que la suplementación de vitamina D en mujeres con PRE y deficiencia o insuficiencia de vitamina D ($n = 64$) podría reducir las anormalidades de las respuestas inmunes celulares observadas en mujeres con bajos niveles de vitamina D⁵⁰.

Una revisión reciente que combinó ensayos sobre suplementos de vitamina D en el embarazo, que involucraron acumulativamente a más de 2000 mujeres embarazadas, informó que no se observaron eventos adversos atribuibles a la administración de suplementos de vitamina D^{48,51}.

Recomendación

El asesoramiento previo a la concepción en mujeres con PRE podría considerar la administra-

ción profiláctica de suplementos de vitamina D.

Basados en la prevalencia elevada de deficiencia de vitamina D en mujeres con PRE y las complicaciones obstétricas y fetales posiblemente asociadas, se puede considerar la prescripción de suplementos de vitamina D, aunque no se cuenta con evidencia de la efectividad terapéutica sobre las pérdidas gestacionales. La mayoría de los expertos coinciden en que la vitamina D es segura en dosis de hasta 4000 UI por día durante el embarazo o la lactancia, aunque faltan datos sobre la seguridad de dosis más altas⁵².

Conclusión final

Hasta que haya más trabajos prospectivos, aleatorizados y a doble ciego que nos definan las conductas por tomar, cada uno de nosotros debe, en la práctica diaria, realizar un interrogatorio y examen físico exhaustivo y pedir los estudios que considere necesarios a las pacientes luego de realizar una completa historia clínica individualizando cada caso.

REFERENCIAS

1. Guideline of the European Society of Human Reproduction and Embryology. ESHRE Early Pregnancy Guideline Development Group. Nov 2017.
2. Vissenberg R, Manders VD, Mastenbroek S, Fliers E, Afink GB, Ris-Stalpers C, et al. Pathophysiological aspects of thyroid hormone disorders/thyroid peroxidase autoantibodies and reproduction. *Hum Reprod Update* 2015;21:378-87.
3. Rao VR, Lakshmi A, Sadhni MD. Prevalence of hypothyroidism in recurrent pregnancy loss in first trimester. *Indian J Med Sci* 2008;62:357-61.
4. Van den Boogaard E, Vissenberg R, Land JA, Van Wely M, Van der Post JA, Goddijn M, et al. Significance of (sub)clinical thyroid dysfunction and thyroid autoimmunity before conception and in early pregnancy: a systematic review. *Hum Reprod Update* 2011;17:605-19.
5. Bernardi LA, Cohen RN, Stephenson MD. Impact of subclinical hypothyroidism in women with recurrent early pregnancy loss. *Fertil Steril* 2013;100:1326-31.
6. Van Dijk MM, Vissenberg R, Bisschop PH, Dawood F, Van Wely M, Goddijn M, et al. Is subclinical hypothyroidism associated with lower live birth rates in women who have experienced unexplained recurrent miscarriage? *Reprod Biomed Online* 2016;33:745-51.
7. Stagnaro-Green A, Abalovich M, Alexander E, Azizi F, Mestman J, Negro R, et al. Guidelines of the American Thyroid Association for the diagnosis and management of thyroid disease during pregnancy and postpartum. *Thyroid* 2011;21:1081-125.
8. Lazarus J, Brown RS, Daumerie C, Hubalewska-Dydejczyk A, Negro R, Vaidya B. 2014 European thyroid association guidelines for the management of subclinical hypothyroidism in pregnancy and in children. *Eur Thyroid J* 2014;3:76-94.
9. Thangaratinam S, Tan A, Knox E, Kilby MD, Franklyn J, Coomarasamy A. Association between thyroid autoantibodies and miscarriage and preterm birth: meta-analysis of evidence. *BMJ* 2011;342:d2616.
10. Bahn RS, Burch HB, Cooper DS, Garber JR, Greenlee MC, Klein

- I, et al. Hyperthyroidism and other causes of thyrotoxicosis: management guidelines of the American Thyroid Association and American Association of Clinical Endocrinologists. *Endocr Pract* 2011;17:456-520.
11. Database Syst Rev 2013;1: Cd008611. Negro R, Formoso G, Mangieri T, Pezzarossa A, Dazzi D, Hassan H. Levothyroxine treatment in euthyroid pregnant women with autoimmune thyroid disease: effects on obstetrical complications. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:2587-91.
 12. Lepoutre T, Debieve F, Gruson D, Daumerie C. Reduction of miscarriages through universal screening and treatment of thyroid autoimmune diseases. *Gynecol Obstet Invest* 2012;74:265-73.
 13. Vissenberg R, van den Boogaard E, van Wely M, van der Post JA, Fliers E, Bisschop PH, Goddijn M. Treatment of thyroid disorders before conception and in early pregnancy: a systematic review. *Hum Reprod Update* 2012;18: 360-73.
 14. Lata K, Dutta P, Sridhar S, Rohilla M, Srinivasan A, Prashad GR, et al. Thyroid autoimmunity and obstetric outcomes in women with recurrent miscarriage: a case-control study. *Endocr Connect* 2013;2:118-24.
 15. Homburg R. Pregnancy complications in PCOS. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2006;20:281-92.
 16. Kazerooni T, Ghaffarpasand F, Asadi N, Dehkhoda Z, Dehghankhalili M, Kazerooni Y. Correlation between thrombophilia and recurrent pregnancy loss in patients with polycystic ovary syndrome: a comparative study. *J Chin Med Assoc* 2013;76:282-88.
 17. Ispasoiu CA, Chicea R, Stamatian FV, Ispasoiu F. High fasting insulin levels and insulin resistance may be linked to idiopathic recurrent pregnancy loss: a case-control study. *Int J Endocrinol* 2013;2013:576926.
 18. Maryam K, Bou zari Z, Basirat Z, Kashifard M, Zadeh MZ. The comparison of insulin resistance frequency in patients with recurrent early pregnancy loss to normal individuals. *BMC Res Notes* 2012;5:133.
 19. Chakraborty P, Goswami SK, Rajani S, Sharma S, Kabir SN, Chakravarty B, et al. Recurrent pregnancy loss in polycystic ovary syndrome: role of hyperhomocysteinemia and insulin resistance. *PLoS One* 2013;8:e64446.
 20. Romero ST, Sharshiner R, Stoddard GJ, Ware Branch D, Silver RM. Correlation of serum fructosamine and recurrent pregnancy loss: case-control study. *J Obstet Gynaecol Res* 2016;42:763-8.
 21. Jakubowicz DJ, Iuorno MJ, Jakubowicz S, Roberts KA, Nestler JE. Effects of metformin on early pregnancy loss in the polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87: 524-9.
 22. Khattab S, Mohsen IA, Foutouh IA, Ramadan A, Moaz M, Al-Inany H. Metformin reduces abortion in pregnant women with polycystic ovary syndrome. *Gynecol Endocrinol* 2006;22:680-4.
 23. Wang Y, Zhao H, Li Y, Zhang J, Tan J, Liu Y. Relationship between recurrent miscarriage and insulin resistance. *Gynecol Obstet Invest* 2011;72:245-51.
 24. Al-Biate MA. Effect of metformin on early pregnancy loss in women with polycystic ovary syndrome. *Taiwan J Obstet Gynecol* 2015;54:266-9.
 25. Zolghadri J, Tavana Z, Kazerooni T, Soveid M, Taghieh M. Relationship between abnormal glucose to clearance test and history of previous recurrent miscarriages, and beneficial effect of metformin in these patients: a prospective clinical study. *Fertil Steril* 2008;90:727-30.
 26. Andrade C. Major malformation risk, pregnancy outcomes, and neurodevelopmental outcomes associated with metformin use during pregnancy. *J Clin Psychiatry* 2016;77: e411-414.
 27. Li W, Ma N, Laird SM, Ledger WL, Li TC. The relationship between serum prolactin concentration and pregnancy outcome in women with unexplained recurrent miscarriage. *J Obstet Gynaecol* 2013;33:285-8.
 28. Bussen S, Sutterlin M, Steck T. Endocrine abnormalities during the follicular phase in women with recurrent spontaneous abortion. *Hum Reprod* 1999;14:18-20.
 29. Hirahara F, Andoh N, Sawai K, Hirabuki T, Uemura T, Minaguchi H. Hyperprolactinemic recurrent miscarriage and results of randomized bromocriptine treatment trials. *Fertil Steril* 1998;70: 246-52.
 30. Atasever M, Soyman Z, Demirel E, Gencdal S, Kelekci S. Diminished ovarian reserve: is it a neglected cause in the assessment of recurrent miscarriage? A cohort study. *Fertil Steril* 2016;105:1236-40.
 31. Trout SW, Seifer DB. Do women with unexplained recurrent pregnancy loss have higher day 3 serum FSH and estradiol values? *Fertil Steril* 2000;74:335-7.
 32. Gurbuz B, Yalti S, Ozden S, Ficioglu C. High basal estradiol level and FSH/LLH ratio in unexplained recurrent pregnancy loss. *Arch Gynecol Obstet* 2004;270:37-9.
 33. Palomba S, Santagni S, La Sala GB. Progesterone administration for luteal phase deficiency in human reproduction: an old or new issue? *J Ovarian Res* 2015;8:77.
 34. Ke RW. Endocrine basis for recurrent pregnancy loss. *Obstet Gynecol Clin North Am* 2014;41:103-12.
 35. Jordan J, Craig K, Clifton DK, Soules MR. Luteal phase defect: the sensitivity and specificity of diagnostic methods in common clinical use. *Fertil Steril* 1994;62:54-62.
 36. Li TC, Spuijbroek MD, Tuckerman E, Anstie B, Loxley M, Laird S. Endocrinological and endometrial factors in recurrent miscarriage. *Bjog* 2000;107:1471-9.
 37. Balasch J, Creus M, Marquez M, Burzaco I, Vanrell JA. The significance of luteal phase deficiency on fertility: a diagnostic and therapeutic approach. *Hum Reprod* 1986;1:145-7.
 38. Morley LC, Simpson N, Tang T. Human chorionic gonadotrophin (hCG) for preventing miscarriage. *Cochrane Database Syst Rev* 2013;1: Cd008611.
 39. Li TC, Ding SH, Anstie B, Tuckerman E, Wood K, Laird S. Use of human menopausal gonadotropins in the treatment of endometrial defects associated with recurrent miscarriage: preliminary report. *Fertil Steril* 2001;75: 434-7.
 40. Clifford K, Rai R, Watson H, Franks S, Regan L. Does suppressing luteinising hormone secretion reduce the miscarriage rate? Results of a randomised controlled trial. *Bmj* 1996;312:1508-11.
 41. Okon MA, Laird SM, Tuckerman EM, Li TC. Serum androgen levels in women who have recurrent miscarriages and their correlation with markers of endometrial function. *Fertil Steril* 1998;69:682-90.
 42. Watson H, Kiddy DS, Hamilton-Fairley D, Scanlon MJ, Barnard C, Collins WP, et al. Hypersecretion of luteinizing hormone and ovarian steroids in women with recurrent early miscarriage. *Hum Reprod* 1993;8:829-33.
 43. Aghajafari F, Nagulesapillai T, Ronksley PE, Tough SC, O'Beirne M, Rabi DM. Association between maternal serum 25-hydroxyvitamin D level and pregnancy and neonatal outcomes: systematic review and meta-analysis of observational studies. *Bmj* 2013;346:f1169.
 44. Ota K, Dambaeva S, Han AR, Beaman K, Gilman-Sachs A, Kwak - Kim J. Vitamin D deficiency may be a risk factor for recurrent pregnancy losses by increasing cellular immunity and autoimmunity. *Hum Reprod* 2014;29:208-19.
 45. Ota K, Dambaeva S, Kim MW, Han AR, Fukui A, Gilman-Sachs A, et al. 1,25-Dihydroxy-vitamin D3 regulates NK-cell cytotoxicity, cytokine secretion, and degranulation in women with recurrent pregnancy losses. *Eur J Immunol* 2015;45:3188-99.

46. Wang LQ, Yan XT, Yan CF, Zhang XW, Hui LY, Xue M, et al. Women with recurrent miscarriage have decreased expression of 25-hydroxyvitamin D3-1 α -hydroxylase by the fetal-maternal interface. *PLoS One* 2016;11:e0165589.
47. Yan X, Wang L, Yan C, Zhang X, Hui L, Sheng Q, et al. Decreased expression of the vitamin D receptor in women with recurrent pregnancy loss. *Arch Biochem Biophys* 2016;606:128-33.
48. De-Regil LM, Palacios C, Lombardo LK, Pena-Rosas JP. Vitamin D supplementation for women during pregnancy. *Cochrane Database Syst Rev* 2016:CD008873.
49. McAree T, Jacobs B, Manickavasagar T, Sivalokanathan S, Brennan L, Bassett P, Rainbow S, Blair M. Vitamin D deficiency in pregnancy - still a public health issue. *Matern Child Nutr* 2013;9:23-30.
50. Chen X, Yin B, Lian RC, Zhang T, Zhang HZ, Diao LH, Li YY, Huang CY, Liang DS, Zeng Y. Modulatory effects of vitamin D on peripheral cellular immunity in patients with recurrent miscarriage. *Am J Reprod Immunol* 2016;76:432-8.
51. Wagner CL, Hollis BW, Kotsa K, Fakhoury H, Karras SN. Vitamin D administration during pregnancy as prevention for pregnancy, neonatal and postnatal complications. *Rev Endocr Metab Disord* 2017.
52. Del Valle HB, Yaktine AL, Taylor CL, Ross AC. Dietary reference intakes for calcium and vitamin D, 2011. National Academies Press.



B) Comentario bibliográfico del capítulo Evaluación inmunológica/endocrina/metabólica

E. Grasso, S. Gori, E. Soczewski, L. Fernández, C. Pérez Leirós y R. Ramhorst
 Laboratorio de Inmunología Reproductiva y Fertilidad (IIRyF)
 Instituto de Química Biológica de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales IQUIBICEN, CONICET, UBA, CABA, Argentina

¿Cuál es el valor de la evaluación inmunológica en el diagnóstico de PRE?

1. Sistema HLA (*Human Leukocyte Antigen*)

Los estudios de alelos HLA propuestos para pacientes con PRE se pueden dividir en tres categorías principales:

A) Estudios de compatibilidad de alelos HLA en parejas con PRE: originalmente se pensaba que el aumento de la compatibilidad de HLA entre parejas disminuía la probabilidad de que la madre produjera los llamados anticuerpos bloqueantes, protectores contra el rechazo fetal. No obstante, distintos metanálisis mostraron que la distribución de alelos en los loci HLA-A, B y C no presentan frecuencias diferentes en las parejas con PRE respecto del grupo de control, mientras que los resultados fueron controvertidos al evaluar la distribución de alelos para el locus HLA-DR^{1,2}.

B) Prevalencia de alelos HLA en mujeres con PRE: se han realizado varios estudios sobre los genes HLA de clase II (HLA-DRB1 o DQB1), pero algunos de ellos incluyeron un número in-

suficiente de pacientes y controles para tener suficiente poder estadístico. Un estudio en mujeres caucásicas demostró que la frecuencia del alelo HLA-DRB1*03 fue significativamente más alta en mujeres con PRE respecto del grupo de control³. Sin embargo, no hay estudios prospectivos que investiguen el factor pronóstico que podría tener el expresar HLA-DRB1*03 u otros loci HLA.

Por otra parte, un estudio prospectivo en mujeres escandinavas proporcionó pruebas de que las mujeres con PRE secundario, después del nacimiento de un niño varón, tienen una tasa de nacido vivo que es significativamente más baja (22%) cuando expresaban uno de los siguientes tres alelos HLA: DRB1*15:01; DQB1*05:01/05:02 y DRB3*03:01. Esto se podría deber, probablemente, a que esos alelos predisponen a reacciones inmunes clínicamente relevantes a partir de la generación de anticuerpos anti-HY dirigidos contra antígenos menores de histocompatibilidad masculinos (HY) expresados en la mayoría de las células nucleadas de los varones^{4,5}.

C) Estudios de alelos HLA-C y G en parejas con PRE: se ha sugerido que las funciones de las células NK (citotoxicidad y producción de citoquinas) en mujeres embarazadas se encuentran alteradas por las interacciones entre los receptores KIR (receptores similares a inmunoglobulina *killer*) presentes en las células NK y HLA-C o HLA-G, expresadas por las células trofoblásticas. Sin embargo, hasta el momento los estudios disponibles sobre el genotipado de KIR y HLA-C son contradictorios y por ello aún no presentan valor diagnóstico ni terapéutico⁶⁻⁸.

Otro conjunto de estudios ha investigado los polimorfismos de HLA-G en mujeres con PRE. Como se mencionó, se ha sugerido que el HLA-G soluble puede modular la función de la célula NK en la interfaz materno-fetal. En relación con esto, niveles bajos de HLA-G en plasma pueden estar asociados con homocigosis para inserción de HLA-G14 bp en el gen HLA-G. Dos metanálisis informaron que la frecuencia de esta inserción está aumentada significativamente en mujeres con PRE^{9,10}. Debido a que la inserción de HLA-G14 bp presenta un fuerte desequilibrio de ligamiento con el alelo HLA-DRB1*03¹¹, la pregunta sigue siendo si la asociación de la inserción de HLA-G14 bp con el PRE es secundaria a la asociación de este último con el alelo HLA-DRB1*03.

Recomendación y justificación

La determinación de HLA en mujeres con PRE no se recomienda en la práctica clínica. Solo podría

*considerarse la determinación de HLA clase II (HLA-DRB1*15:01 y HLA-DQB1*05:01/05:02) en mujeres escandinavas con PRE secundario después del nacimiento de un varón, y no la medición de anticuerpos anti-HY, únicamente con fines pronósticos.*

Esto se debe a que la evidencia de una asociación de alelos HLA en parejas con PRE es inconsistente. La investigación de HLA-DR (u otros genes HLA clásicos) en mujeres con PRE no se recomienda en la práctica clínica, pero podría realizarse en el marco de proyectos de investigación.

2. Citoquinas

En general, la cuantificación de los niveles de citoquinas en sangre periférica no es informativa, excepto para el TNF- α , un marcador de inflamación sistémica. Originalmente, Mueller-Eckhardt y colaboradores reportaron que la presencia de altos niveles séricos de TNF- α aumentaba el riesgo de aborto espontáneo en mujeres con PRE¹². Estudios posteriores mostraron una mayor proporción de TNF- α /IL-0 en linfocitos T *helper* de pacientes con PRE en comparación con los controles¹³. Los niveles plasmáticos, así como la producción *in vitro* de muchas citoquinas, se ven influenciados por los polimorfismos en sus genes. Dos estudios reportaron una asociación entre ciertos polimorfismos de los genes de TGF β 1 o TNF- α y PRE^{14,15}; sin embargo, los metanálisis hasta el momento no han podido encontrar polimorfismos en genes de citoquinas asociados con PRE, a excepción de una asociación débil con un genotipo IL-10-1082^{16,17}.

Recomendación y justificación

En la práctica clínica, no se recomienda la cuantificación de citoquinas y el análisis de polimorfismos en mujeres con PRE.

La investigación sobre el papel de las citoquinas en la PRE es compleja, ya que los niveles de citoquinas pueden variar según el momento de la gestación en el cual se obtienen las muestras y según la población linfocitaria estudiada (de sangre periférica o infiltrante decidual). Las concentraciones de citoquinas plasmáticas pueden ser completamente diferentes de las presentes en el útero y, además, su cuantificación varía dependiendo del tipo de muestra biológica. Es por ello que la cuantificación de citoquinas y la evaluación de polimorfismos de sus genes en mujeres con PRE son útiles, por el momento, solo en el contexto de proyectos de investigación.

3. Anticuerpos antinucleares (ANA)

Los anticuerpos antinucleares (ANA) son anticuerpos dirigidos contra varios componentes del núcleo celular, a menudo detectados en pacientes con enfermedades autoinmunes. Hasta el momento, la mayoría de los estudios más relevantes publicados encontraron una prevalencia significativamente mayor de ANA en mujeres con PRE en comparación con los controles¹⁸⁻²². Un factor predisponente genético es el alelo HLA-DRB1*03, que está asociado tanto con la producción de varios autoanticuerpos incluidos los ANA, así como con el riesgo de PRE²³.

Recomendación y justificación

Las pruebas de ANA podrían considerarse con fines descriptivos.

La medición de ANA en mujeres con PRE podría considerarse, ya que la mayoría de los estudios de casos y controles documentan una asociación con PRE y existen pruebas (de estudios prospectivos más pequeños) de que la presencia de ANA tiene un efecto pronóstico negativo^{24,25}.

4. Células natural killer (NK)

Las investigaciones de células NK en PRE comprenden estudios fenotípicos y funcionales de células NK obtenidas a partir de: a) sangre periférica antes o durante el embarazo y b) biopsias endometriales preembarazo o tejido decidual de abortos espontáneos y electivos.

a) Células NK en sangre periférica: los trabajos presentes hasta el momento indican resultados contradictorios. Por un lado, varios estudios muestran que el porcentaje de células NK CD56+ en sangre periférica previo al embarazo es significativamente mayor en las mujeres con PRE que en los controles^{13,26-32} y presentan valor predictivo para los siguientes embarazos^{33,34}. Por el contrario, otros estudios no evidenciaron aumentos ni asociación con PRE³⁵⁻³⁷. Los mismos resultados controvertidos se obtienen cuando se estudia su capacidad citotóxica. Estas diferencias podrían explicarse considerando que la mayoría de las mujeres con PRE estudiadas en estos trabajos eran nulíparas, mientras que la mayoría de las mujeres del grupo de control eran multíparas y que se ha reportado que un embarazo exitoso previo puede inducir cambios permanentes en las subpoblaciones de células NK²⁷.

b) Células NK en biopsias endometriales y en tejido decidual: aunque algunos estudios mostraron un aumento de la frecuencia de células

CD56+ en pacientes con PRE, dos estudios de casos y controles no encontraron diferencias en las subpoblaciones de células NK en endometrios de mujeres con PRE comparado con endometrios de mujeres controles³⁸⁻⁴⁰. Más aún, tampoco se encontró ninguna relación entre el recuento de células NK CD56+ endometriales y el resultado de un embarazo posterior en un estudio retrospectivo⁴¹.

Por otra parte, se encontraron diferencias en las subpoblaciones de células NK en tejido decidual tomado posteriormente a un aborto espontáneo en mujeres con PRE con respecto al tejido tomado *a posteriori* de un aborto electivo en mujeres control⁴²⁻⁴⁴. Sin embargo, dado que el tejido en los primeros casos es necrótico y se acompaña de una respuesta inflamatoria y, en el último, es fresco y vital, este tipo de estudios proporciona una información limitada.

Recomendación y justificación

No hay suficientes evidencias para recomendar el estudio de células NK de sangre periférica ni de tejido endometrial en mujeres con PRE.

Los estudios disponibles realizados antes o durante el embarazo sugieren que las células NK de sangre periférica presentan una asociación débil con PRE. Además, hay importantes desafíos técnicos; las frecuencias de las subpoblaciones de células NK en el endometrio y en sangre periférica son extremadamente diferentes. Las células NK pueden evaluarse en biopsias de endometrio tomadas en un ciclo libre de embarazo mediante inmunohistoquímica o citometría de flujo de tejido homogeneizado; sin embargo, el resultado podría variar dependiendo de la técnica elegida por las particularidades de cada una de ellas (subjetividad en el primer caso y alteraciones posprocesamiento de la muestra en el segundo). Además, el número de células NK endometriales y de sangre periférica fluctúa enormemente en el ciclo menstrual, por lo que el momento exacto de la toma de la muestra es crucial.

Aunque la medición de las células NK uterinas en lugar de las periféricas sería, en teoría, más representativa, tampoco se sugiere para la práctica clínica debido a la falta de consenso sobre los rangos de valores normales y la falta de estandarización en su medición.

5. Otras pruebas inmunológicas

Anticuerpos anti-HLA: en un gran estudio retrospectivo de cohorte, los anticuerpos anti-HLA de clase I o II se detectaron con una frecuencia significativamente mayor en las mujeres controles múltiparas en comparación con las mujeres con

PRE, lo que podría explicarse por el mayor número de partos anteriores en el primer grupo⁴⁵. Sin embargo, las mujeres con *PRE inexplicable* o *sin causa aparente* tuvieron la misma prevalencia de estos anticuerpos que las mujeres en las que se consideró conocida la causa de PRE. Finalmente, un metanálisis no encontró efectos significativos de la presencia de anticuerpos anti-HLA (clase I y II) sobre PRE a pesar de que los estudios incluidos mostraron una gran heterogeneidad⁴⁶.

Marcadores séricos de la enfermedad celíaca: un estudio reciente mostró que, si bien las mujeres con PRE presentaron niveles séricos significativamente más altos de anticuerpos IgG tTG (antitransglutaminasa) en comparación con el grupo de control, la proporción de mujeres con anticuerpos indicativos de enfermedad celíaca fue muy baja y similar en ambos grupos⁴⁷. Por lo tanto, la prueba de los marcadores séricos de la enfermedad celíaca no está indicada en mujeres con PRE en ausencia de síntomas de la enfermedad celíaca.

Anticuerpos antiesperma: los anticuerpos antiesperma también se han descrito en mujeres con PRE, aunque los resultados son inconsistentes y la relevancia de los mismos aún no es clara. Ya sea utilizando la técnica de citometría de flujo o de ELISA para su detección, los resultados son contradictorios^{48,49}.

Recomendación y justificación

La medición de los anticuerpos anti-HLA en mujeres con PRE no se recomienda.

No hay documentación suficiente que avale el uso de los anticuerpos anti-HLA en PRE. Otras pruebas inmunológicas que presentan poco estudio no se recomiendan en la práctica clínica hasta no obtener más datos.

Comentario general: perspectiva al futuro

La valoración de los distintos parámetros inmunológicos, ya sea a nivel local como sistémico, continúa siendo un gran desafío. Si bien se ha avanzado muchísimo en los últimos años en el entendimiento de los mecanismos inmunológicos, aún faltan más evidencias para su ponderación en la clínica. La identificación de nuevos mecanismos e interacciones que operan en la interfaz maternoplacentaria abre nuevas perspectivas de trabajo. Esta interfaz presenta un gran dinamismo; los cambios en el microambiente implican mecanismos regulatorios

involucrados en los procesos de decidualización, implantación y placentación.

En ese sentido, en esta misma guía se hace hincapié al valor del estudio de la decidualización endometrial. Las células endometriales no tienen un rol pasivo durante la implantación embrionaria, sino que tendrían la capacidad de sentir la calidad de los embriones y de esta forma contribuir a la implantación de aquellos que fueran competentes así como de condicionar la respuesta inmune materna, a través de la producción de inmunomoduladores^{50,51}.

Las observaciones recientes han sugerido que, en las mujeres con PRE, la decidualización anormal podría precondicionar el éxito de la implantación embrionaria⁵²⁻⁵⁵. Sin embargo, se necesitan más estudios para esclarecer tanto los mecanismos involucrados como los efectos de un fenotipo decidual alterado sobre la tolerancia materno-fetal y poder así generar recomendaciones clínicas.

Las células inmunes participan en la inducción y mantenimiento de la tolerancia local y también se encuentran involucradas en los procesos de decidualización, implantación y placentación. Desde la ciencia básica, las células T regulatorias (Treg) han sido ampliamente descritas en el embarazo y algunos trabajos han evaluado su rol en pacientes con PRE. Un estudio realizado en mujeres que cursaban el primer trimestre de embarazo mostró que las mujeres con PRE presentan un menor porcentaje de Tregs circulantes en comparación con los controles⁵⁶. Otros autores han estudiado la relevancia de las células Th17 y del balance Th17/Treg en pacientes con PRE con resultados interesantes: un estudio mostró un aumento de la relación Th17/Treg en pacientes en comparación con controles fértiles⁵⁷.

A pesar de los avances de los últimos años, debido a las dificultades para estudiar la interfaz materno-placentaria, aún existen varios aspectos desconocidos de los mecanismos moleculares que llevan a la tolerancia inmunológica y, particularmente, la contribución de las distintas poblaciones de células regulatorias en ella. Más estudios son necesarios a fin de evaluar su valor diagnóstico y su potencial terapéutico.

Si bien como conclusión general podemos decir que aún se requiere una investigación más profunda en muchos de los biomarcadores inmunológicos tratados aquí, el abordaje del programa de decidualización del endometrio y su efecto sobre el condicionamiento de células inmunes presentes en la interfaz materno-placentaria abre nuevas perspectivas de análisis con gran potencial para el entendimiento de las pérdidas recurrentes del embarazo. Considera-

mos que el desarrollo de nuevas tecnologías, como el *single cell microarray*, que durante 2018 permitió la descripción de nuevas subpoblaciones inmunes en la placenta⁵⁸, así también el mayor acceso a las llamadas “-ómicas”, sin duda nos brindará, en un futuro cercano, nuevos marcadores para el diagnóstico de patologías reproductivas y posibles terapéuticas.

REFERENCIAS

1. Beydoun H, Safflas AF. Association of human leucocyte antigen sharing with recurrent spontaneous abortions. *Tissue Antigens* 2005;65:123-35.
2. Aruna M, Nagaraja T, Andal Bhaskar S, Tarakeswari S, Reddy AG, Thangaraj K, Singh L, Reddy BM. Novel alleles of HLA-DQ and -DR loci show association with recurrent miscarriages among South Indian women. *Hum Reprod* 2011;26:765-74.
3. Kruse C, Steffensen R, Varming K, Christiansen OB. A study of HLA-DR and -DQ alleles in 588 patients and 562 controls confirms that HLA-DRB1*03 is associated with recurrent miscarriage. *Hum Reprod* 2004;19:1215-21.
4. Nielsen HS, Steffensen R, Varming K, Van Halteren AG, Spierings E, Ryder LP, Goulmy E, Christiansen OB. Association of HY-restricting HLA class II alleles with pregnancy outcome in patients with recurrent miscarriage subsequent to a firstborn boy. *Hum Mol Genet* 2009;18:1684-91.
5. Kolte AM, Steffensen R, Christiansen OB, Nielsen HS. Maternal HY-restricting HLA class II alleles are associated with poor long-term outcome in recurrent pregnancy loss after a boy. *Am J Reprod Immunol* 2016;76:400-5.
6. Hilby SE, Regan L, Lo W, Farrell L, Carrington M, Moffett A. Association of maternal killer-cell immunoglobulin-like receptors and parental HLA-C genotypes with recurrent miscarriage. *Hum Reprod* 2008;23:972-6.
7. Varla-Leftherioti M, Spyropoulou-Vlachou M, Niokou D, Keramitsoglou T, Darlamitsou A, Tsekoura C, Papadimitropoulos M, Lepage V, Balafoutas C, Stavropoulos-Giokas C. Natural killer (NK) cell receptors' repertoire in couples with recurrent spontaneous abortions. *Am J Reprod Immunol* 2003;49:183-91.
8. Vargas RG, Bompeixe EP, Franca PP, Marques de Moraes M, da Graca Bicalho M. Activating killer cell immunoglobulin-like receptor genes' association with recurrent miscarriage. *Am J Reprod Immunol* 2009;62:34-43.
9. Wang X, Jiang W, Zhang D. Association of 14-bp insertion/deletion polymorphism of HLA-G gene with unexplained recurrent spontaneous abortion: A meta-analysis. *Tissue Antigens* 2013;81(2):108-15.
10. Fan W, Li S, Huang Z, Chen Q. Relationship between HLA-G polymorphism and susceptibility to recurrent miscarriage: a meta-analysis of non-family-based studies. *J Assist Reprod Genet* 2014;31:173-84.
11. Hviid TV, Christiansen OB. Linkage disequilibrium between human leukocyte antigen (HLA) class II and HLA-G- possible implications for human reproduction and autoimmune disease. *Hum Immunol* 2005;66:688-99.
12. Mueller-Eckhardt G, Mallmann P, Neppert J, Lattermann A, Melk A, Heine O, Pfeiffer R, Zingssem J, Domke N, Mohr-Pennert A. Immunogenetic and serological investigations in nonpregnant and in pregnant women with a history of recurrent spontaneous abortions. German RSA/IVIG Study Group. *J Reprod Immunol* 1994;27:95-109.
13. Lee SK, Na BJ, Kim JY, Hur SE, Lee M, Gilman-Sachs A, Kwak-Kim J. Determination of clinical cellular immune markers in

- women with recurrent pregnancy loss. *Am J Reprod Immunol* 2013;70:398-411.
14. Amani D, Dehaghani AS, Zolghadri J, Ravangard F, Niikawa N, Yoshiura K, Ghaderi A. Lack of association between the TGF-beta1 gene polymorphisms and recurrent spontaneous abortion. *J Reprod Immunol* 2005;68:91-103.
 15. Zhang L, Wang L, Zhang X, Xu G, Zhang W, Wang K, Wang Q, Qiu Y, Li J, Gai L. Sperm chromatin integrity may predict future fertility for unexplained recurrent spontaneous abortion patients. *Int J Androl* 2012;35:752-7.
 16. Choi YK, Kwak-Kim J. Cytokine gene polymorphisms in recurrent spontaneous abortions: a comprehensive review. *Am J Reprod Immunol* 2008;60:91-110.
 17. Medica I, Ostojic S, Perezza N, Kastrin A, Peterlin B. Association between genetic polymorphisms in cytokine genes and recurrent miscarriage-a meta-analysis. *Reprod Biomed Online* 2009;19:406-14.
 18. Stern C, Chamley L, Hale L, Kloss M, Speirs A, Baker HW. Antibodies to beta2 glycoprotein I are associated with in vitro fertilization implantation failure as well as recurrent miscarriage: results of a prevalence study. *Fertil Steril* 1998;70:938-44.
 19. Kaider AS, Kaider BD, Janowicz PB, Roussev RG. Immunodiagnostic evaluation in women with reproductive failure. *Am J Reprod Immunol* 1999;42:335-46.
 20. Matsubayashi H, Sugi T, Arai T, Kondo A, Suzuki T, Izumi S, McIntyre JA, Makino T. Different antiphospholipid antibody specificities are found in association with early repeated pregnancy loss versus recurrent IVF-failure patients. *Am J Reprod Immunol* 2001;46:323-9.
 21. Ticconi C, Rotondi F, Veglia M, Pietropolli A, Bernardini S, Ria F, Caruso A, Di Simone N. Antinuclear autoantibodies in women with recurrent pregnancy loss. *Am J Reprod Immunol* 2010;64:384-92.
 22. Molazadeh M, Karimzadeh H, Azizi MR. Prevalence and clinical significance of antinuclear antibodies in Iranian women with unexplained recurrent miscarriage. *Iran J Reprod Med* 2014;12:221-6.
 23. Christiansen OB. A fresh look at the causes and treatments of recurrent miscarriage, especially its immunological aspects. *Hum Reprod Update* 1996;2:271-93.
 24. Harger JH, Archer DF, Marchese SG, Muracca-Clemens M, Garver KL. Etiology of recurrent pregnancy losses and outcome of subsequent pregnancies. *Obstet Gynecol* 1983;62:574-81.
 25. Cavalcante MB, Costa FD, Araujo Junior E, Barini R. Risk factors associated with a new pregnancy loss and perinatal outcomes in cases of recurrent miscarriage treated with lymphocyte immunotherapy. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2015;28(9):1082-6.
 26. Kwak JY, Beaman KD, Gilman-Sachs A, Ruiz JE, Schewitz D, Beer AE. Up-regulated expression of CD56+, CD56+/CD16+, and CD19+ cells in peripheral blood lymphocytes in pregnant women with recurrent pregnancy losses. *Am J Reprod Immunol* 1995;34:93-9.
 27. Shakhar K, Ben-Eliyahu S, Loewenthal R, Rosenne E, Carp H. Differences in number and activity of peripheral natural killer cells in primary versus secondary recurrent miscarriage. *Fertil Steril* 2003;80:368-75.
 28. Perricone C, De Carolis C, Giacomelli R, Zaccari G, Cipriani P, Bizzi E, Perricone R. High levels of NK cells in the peripheral blood of patients affected with anti-phospholipid syndrome and recurrent spontaneous abortion: a potential new hypothesis. *Rheumatology (Oxford)* 2007;46:1574-8.
 29. Prado-Drayer A, Teppa J, Sanchez P, Camejo MI. Immunophenotype of peripheral T lymphocytes, NK cells and expression of CD69 activation marker in patients with recurrent spontaneous abortions, during the mid-luteal phase. *Am J Reprod Immunol* 2008;60:66-74.
 30. King K, Smith S, Chapman M, Sacks G. Detailed analysis of peripheral blood natural killer (NK) cells in women with recurrent miscarriage. *Hum Reprod* 2010;25:52-8.
 31. Karami N, Boroujerdnia MG, Nikbakht R, Khodadadi A. Enhancement of peripheral blood CD56(dim) cell and NK cell cytotoxicity in women with recurrent spontaneous abortion or in vitro fertilization failure. *J Reprod Immunol* 2012;95:87-92.
 32. Yoo JH, Kwak-Kim J, Han AR, Ahn H, Cha SH, Koong MK, Kang IS, Yang KM. Peripheral blood NK cell cytotoxicities are negatively correlated with CD8(+) T cells in fertile women but not in women with a history of recurrent pregnancy loss. *Am J Reprod Immunol* 2012;68:38-46.
 33. Emmer PM, Veerhoek M, Nelen WL, Steegers EA, Joosten I. Natural killer cell reactivity and HLA-G in recurrent spontaneous abortion. *Transplant Proc* 1999;31:1838-40.
 34. Emmer PM, Nelen WL, Steegers EA, Hendriks JC, Veerhoek M, Joosten I. Peripheral natural killer cytotoxicity and CD56(pos) CD16(pos) cells increase during early pregnancy in women with a history of recurrent spontaneous abortion. *Hum Reprod* 2000;15:1163-9.
 35. Chao KH, Yang YS, Ho HN, Chen SU, Chen HF, Dai HJ, Huang SC, Gill TJ, 3rd. Decidual natural killer cytotoxicity decreased in normal pregnancy but not in anembryonic pregnancy and recurrent spontaneous abortion. *Am J Reprod Immunol* 1995;34:274-80.
 36. Wang Q, Li TC, Wu YP, Cocksedge KA, Fu YS, Kong QY, Yao SZ. Reappraisal of peripheral NK cells in women with recurrent miscarriage. *Reprod Biomed Online* 2008;17:814-9.
 37. Carbone J, Gallego A, Lanio N, Navarro J, Orera M, Aguaron A, Fernandez-Cruz E, Sarmiento E. Quantitative abnormalities of peripheral blood distinct T, B, and natural killer cell subsets and clinical findings in obstetric antiphospholipid syndrome. *J Rheumatol* 2009;36:1217-25.
 38. Lachapelle MH, Miron P, Hemmings R, Roy DC. Endometrial T, B, and NK cells in patients with recurrent spontaneous abortion. Altered profile and pregnancy outcome. *J Immunol* 1996;156:4027-34.
 39. Michimata T, Ogasawara MS, Tsuda H, Suzumori K, Aoki K, Sakai M, Fujimura M, Nagata K, Nakamura M, Saito S. Distributions of endometrial NK cells, B cells, T cells, and Th2/Tc2 cells fail to predict pregnancy outcome following recurrent abortion. *Am J Reprod Immunol* 2002;47:196-202.
 40. Shimada S, Kato EH, Morikawa M, Iwabuchi K, Nishida R, Kishi R, Onoe K, Minakami H, Yamada H. No difference in natural killer or natural killer T-cell population, but aberrant T-helper cell population in the endometrium of women with repeated miscarriage. *Hum Reprod* 2004;19:1018-24.
 41. Tuckerman E, Laird SM, Prakash A, Li TC. Prognostic value of the measurement of uterine natural killer cells in the endometrium of women with recurrent miscarriage. *Hum Reprod* 2007;22:2208-13.
 42. Vassiliadou N, Bulmer JN. Immunohistochemical evidence for increased numbers of 'classic' CD57+ natural killer cells in the endometrium of women suffering spontaneous early pregnancy loss. *Hum Reprod* 1996;11:1569-74.
 43. Ozcimen EE, Kiyici H, Uckuyu A, Yanik FF. Are CD56+ natural killer cells really important in early pregnancy failure? *Arch Gynecol Obstet* 2009;279:493-7.
 44. Bao SH, Shuai W, Tong J, Wang L, Chen P, Sun J. Increased expression of Toll-like receptor 3 in decidual natural killer cells of patients with unexplained recurrent spontaneous miscarriage. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2012;165:326-30.

45. Bartel G, Walch K, Wahrmann M, Pils S, Kussel L, Polterauer S, Tempfer C, Bohmig GA. Prevalence and qualitative properties of circulating anti-human leukocyte antigen alloantibodies after pregnancy: no association with unexplained recurrent miscarriage. *Hum Immunol* 2011;72:187-92.
46. Lashley EE, Meuleman T, Claas FH. Beneficial or harmful effect of antipaternal human leukocyte antibodies on pregnancy outcome? A systematic review and meta-analysis. *Am J Reprod Immunol* 2013;70:87-103.
47. Sharshiner R, Romero ST, Bardsley TR, Branch DW, Silver RM. Celiac disease serum markers and recurrent pregnancy loss. *J Reprod Immunol* 2013;100:104-8.
48. Motak-Pochrzest H, Malinowski A. The occurrence of immunological disturbances in patients with recurrent miscarriage (RM) of unknown etiology. *Neuro Endocrinol Lett* 2013;34:701-7.
49. Christiansen OB, Ulcova-Galova Z, Mohapeloa H, Krauz V. Studies on associations between human leukocyte antigen (HLA) class II alleles and antiphospholipid antibodies in Danish and Czech women with recurrent miscarriages. *Hum Reprod* 1998;13:3326-31.
50. Lucas ES, Dyer NP, Murakami K, Lee YH, Chan YW, Grimaldi G, Muter J, Brighton PJ, Moore JD, Patel G, et al. Loss of Endometrial Plasticity in Recurrent Pregnancy Loss. *Stem Cells* 2016;34:346-56.
51. Teklenburg G, Salker M, Molokhia M, Lavery S, Trew G, Aojanepong T, Mardon HJ, Lokugamage AU, Rai R, Landles C, Roelen BA, Quenby S, Kuijk EW, Kavelaars A, Heijnen CJ, Regan L, Brosens JJ, Macklon NS. Natural selection of human embryos: decidualizing endometrial stromal cells serve as sensors of embryo quality upon implantation. *PLoS One* 2010;5(4):e10258.
52. Salker M, Teklenburg G, Molokhia M, Lavery S, Trew G, Aojanepong T, Mardon HJ, Lokugamage AU, Rai R, Landles C, Roelen BA, Quenby S, Kuijk EW, Kavelaars A, Heijnen CJ, Regan L, Macklon NS, Brosens JJ. Natural selection of human embryos: impaired decidualization of endometrium disables embryo-maternal interactions and causes recurrent pregnancy loss. *PLoS One* 2010;5(4):e10287.
53. Grasso E, Gori S, Soczewski E, Fernández L, Gallino L, Vota D, Martínez G, Irigoyen M, Ruhlmann C, Lobo TF, Salamone G, Mattar R, Daher S, Leirós CP, Ramhorst R. Impact of the Reticular Stress and Unfolded Protein Response on the inflammatory response in endometrial stromal cells. *Sci Rep* 2018;8(1):12274.
54. Galgani M, Insabato L, Cali G, Della Gatta AN, Mirra P, Pappaccio F, Santopaolo M, Alviggi C, Mollo A, Strina I, Matarese G, Beguinot F, De Placido G, Ulianich L. Regulatory T cells, inflammation, and endoplasmic reticulum stress in women with defective endometrial receptivity. *Fertil Steril* 2015;103(6):1579-86.e1.
55. D'Ippolito S, Tersigni C, Marana R, Di Nicuolo F, Gaglione R, Rossi ED, Castellani R, Scambia G, Di Simone N. Inflammation in the human endometrium: further step in the evaluation of the "maternal side". *Fertil Steril* 2016;105(1):111-8.e1-4.
56. Kwiatek M, Gęca T, Krzyżanowski A, Malec A, Kwaśniewska A. Peripheral Dendritic Cells and CD4+CD25+Foxp3+ Regulatory T Cells in the First Trimester of Normal Pregnancy and in Women with Recurrent Miscarriage. *PLoS One* 2015;10(5):e0124747.
57. Liu YS, Wu L, Tong XH, Wu LM, He GP, Zhou GX, Luo LH, Luan HB. Study on the relationship between Th17 cells and unexplained recurrent spontaneous abortion. *Am J Reprod Immunol* 2011;65(5):503-11.
58. Vento-Tormo R, Efremova M, Botting RA, Turco MY, Vento-Tormo M, Meyer KB, Park JE, Stephenson E, Polanski K, Gonçalves A, Gardner L, Holmqvist S, Henriksson J, Zou A, Sharkey AM, Millar B, Innes B, Wood L, Wilbrey-Clark A, Payne RP, Ivarsson MA, Ligo S, Filby A, Rowitch DH, Bulmer JN, Wright GJ, Stubbington MJT, Haniffa M, Moffett A, Teichmann SA. Single-cell reconstruction of the early maternal-fetal interface in humans. *Nature* 2018;563(7731):347-53.

NOVEDAD BIBLIOGRÁFICA

Herencia biparental del ADN mitocondrial en seres humanos

Biparental inheritance of mitochondrial DNA in humans

Luo S, Valencia CA, Zhang J, Lee NC, Slone J, Gui B, Wang X, Li Z, Dell S, Brown J, Chen SM, Chien YH, Hwu WL, Fan PC, Wong IJ, Atwal PS, Huang T

Proc Natl Acad Sci USA 115:13039-13044. 2018

Resumen

Aunque ha habido un debate considerable acerca de si la transmisión del ADN mitocondrial (ADNmt) paterno puede coexistir con la transmisión del ADNmt materno, generalmente se cree que las mitocondrias y el ADNmt son heredados exclusivamente de la madre en los seres humanos. Aquí, nosotros identificamos tres familias multigeneracionales no relacionadas con un nivel alto de heteroplasmia del ADNmt (en un rango de 24-76%) en un total de 17 individuos. La heteroplasmia del ADNmt fue examinada independientemente por análisis de secuenciación del ADNmt completo (*whole mtDNA sequencing analysis*) en nuestro laboratorio y en dos laboratorios independientes acreditados usan-

do múltiples estrategias. Una exploración comprensiva de la segregación del ADNmt en estas familias muestra una transmisión biparental del ADNmt con un modo de herencia similar al autosómico dominante. Nuestros resultados sugieren que, aunque el dogma central de la herencia materna sigue siendo válido, existen algunos casos excepcionales donde el ADNmt paterno podría ser pasado a la descendencia. Dilucidar los mecanismos moleculares para este modo inusual de herencia proporcionará nuevos conocimientos sobre cómo el ADNmt es pasado desde los padres hacia la descendencia e incluso puede conducir al desarrollo de nuevas vías para el tratamiento terapéutico de la transmisión patogénica del ADNmt.