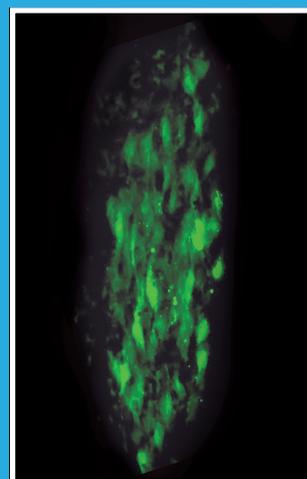
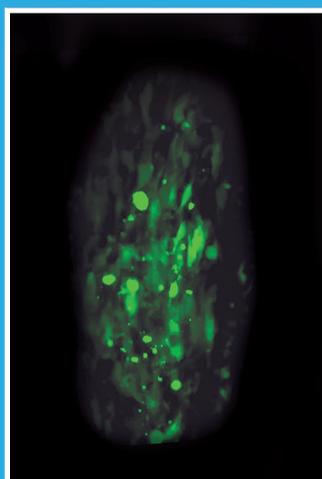
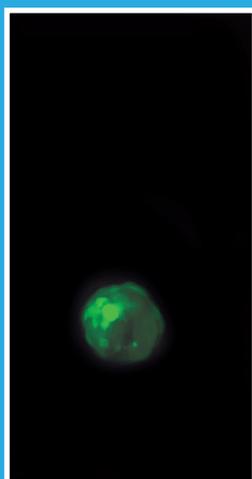


Revista de la Sociedad Argentina de Endocrinología Ginecológica y Reproductiva



Contenido de este número:

- Nuevos abordajes *in vitro* para el estudio del eje embrio-endometrial
- Nuevas perspectivas en el tratamiento de la osteoporosis
- Transmisión sexual del virus del Zika, un nuevo paradigma
- Glucemia materna durante el embarazo y adiposidad en la niñez en el estudio de seguimiento del HAPO estudio (HAPOFUS)
- Protégenos de la investigación médica de mala calidad
- Marcadores convencionales y modernos de receptividad endometrial. Revisión sistemática y metanálisis
- *Highlights* del Congreso IFPA 2019 – VIII SLIMP

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° 2 • Julio - diciembre 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**

Protesorera: **Dra. Laura Mittelberg**
Vocales Titulares: **Dra. Lorena Giannoni - Dra. Constanza Franco - Dra. Karina Sternberg - Dra. Alicia Jawerbaum**
Vocales Suplentes: **Dra. Marina Gelin**

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**

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.

Colaboradoras:

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 Favalaro, 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.

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), Magí-

ter en Psiconeuroinmunoendocrinología Universidad Favalaro, 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
Curpaligüe 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° 2 • Julio - diciembre de 2019

Imprenta: Sello Editorial Lugones® Editorial Biotecnológica S.R.L., Curpaligüe 202, 9° B (1406), CABA, Argentina
La presente edición está impresa en papel libre de cloro.

Tapa



Esféroides similares a blastocisto (ESB) creados a partir de la línea celular trofoblástica Swan-71, marcados fluorescentemente con CFSE. Panel izquierdo: ESB sobre placa no adherente previo a ser sembrado. Panel central: ESB invadiendo a monocapa de células HESC sin diferenciar luego de 48 horas. Panel derecho: ESB invadiendo a monocapa de células HESC decidualizadas luego de 48 horas. Todas las fotos fueron realizadas con el mismo aumento.

Autor: Dr. Esteban Grasso

Revista de la Sociedad Argentina de Endocrinología Ginecológica y Reproductiva



Año 26 • Volumen XXVI • N° 2 • Julio - diciembre de 2019 • ISSN 1515-8845 (impresa) ISSN 2469-0252 (en línea)

Comité Científico

Presidente

Dr. Gabriel Fisz bajn

Integrantes

Dr. Manuel Nölting
Dr. Sebastián Gogorza
Dra. Nora Moses
Dra. Alicia Jawerbaum
Dr. Domingo Mugnolo

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 Ñáñez
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. Viviana Mesch

Miembros

Dr. Manuel Nölting
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 Ostera

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°, ofic. 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**
- Nuevos abordajes *in vitro* para el estudio del eje embrio-endometrial 83
Laura Fernández, Elizabeth Soczewski, María Soledad Gori, Lucila Gallino, Gustavo Martínez, Marcela Irigoyen, Claudia Pérez Leirós, Rosanna Ramhorst, Esteban Grasso
 - Nuevas perspectivas en el tratamiento de la osteoporosis 91
Silvina Mastaglia
 - Transmisión sexual del virus del Zika, un nuevo paradigma 97
Ana Paletta, Augusto Varese, Facundo Di Diego García, Luciana Castillo, Gonzalo Cabrerizo, Federico Remes Lenicov, Ana Ceballos
 - Glucemia materna durante el embarazo y adiposidad en la niñez en el estudio de seguimiento del HAPO estudio (HAPOFUS) 101
Comentario: Dra. Gabriela Rovira
 - Protégenos de la investigación médica de mala calidad 104
Comentario: Dr. Claudio Bisioli
 - Marcadores convencionales y modernos de receptividad endometrial. Revisión sistemática y metanálisis 108
Comentario: Dra. Marcela Irigoyen
 - *Highlights* del Congreso IFPA 2019 - VIII SLIMP 113
 - Controversias en el cribado y los criterios de diagnóstico de la diabetes gestacional en el embarazo temprano y tardío 122

INDEX

- ORIGINAL ARTICLE**
- *New in vitro approaches to study embryo-endometrial dialogue* 83
Laura Fernández, Elizabeth Soczewski, María Soledad Gori, Lucila Gallino, Gustavo Martínez, Marcela Irigoyen, Claudia Pérez Leirós, Rosanna Ramhorst, Esteban Grasso
 - *New perspectives in the osteoporosis treatment* 91
Silvina Mastaglia
 - *Sexual transmission of Zika virus, a new paradigm* 97
Ana Paletta, Augusto Varese, Facundo Di Diego García, Luciana Castillo, Gonzalo Cabrerizo, Federico Remes Lenicov, Ana Ceballos
 - *Maternal glucose levels during pregnancy and childhood adiposity in the Hyperglycemia and Adverse Pregnancy Outcome Follow-up Study* 101
Comment: Dra. Gabriela Rovira
 - *Protect us from poor-quality medical research* 104
Comment: Dr. Claudio Bisioli
 - *Conventional and modern markers of endometrial receptivity. A systematic review and meta-analysis* 108
Comments: Dra. Marcela Irigoyen
 - *IFPA 2019 - VIII SLIMP Congress' Highlights* 113
 - *Controversies in screening and diagnostic criteria for gestational diabetes in early and late pregnancy* 122

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.

Nuevos abordajes *in vitro* para el estudio del eje embrio-endometrial

New *in vitro* approaches to study embryo-endometrial dialogue

Laura Fernández¹, Elizabeth Soczewski¹, María Soledad Gori¹, Lucila Gallino¹, Gustavo Martínez², Marcela Irigoyen², Claudia Pérez Leirós¹, Rosanna Ramhorst¹ y Esteban Grasso¹

¹Laboratorio de Inmunología Reproductiva y de la Fertilidad, CONICET, Universidad de Buenos Aires (UBA). Instituto de Química Biológica de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (IQUBICEN), Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

²FERTIUS Medicina Reproductiva, San Isidro, Provincia de Buenos Aires, Argentina

Contacto del autor: Esteban Grasso

E-mail: egrasso@qb.fcen.uba.ar

Correspondencia: Intendente Güiraldes 2160, Pabellón II, Ciudad Universitaria, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

Recibido: 2/6/2019 Aceptado: 30/6/2019

Conflicto de interés: los autores declaran no tener conflictos de interés

Resumen

El establecimiento del embarazo requiere un diálogo entre un embrión competente y un endometrio receptivo. Recientemente se ha propuesto que la decidua tiene la capacidad de sensar la calidad embrionaria limitando la invasión de blastocistos inviábiles. Los mecanismos involucrados no están dilucidados por completo, lo cual se debe parcialmente a la falta de modelos *in vivo* adecuados.

El objetivo de este trabajo fue estudiar el sensado de la calidad embrionaria por parte de las células decidualizadas utilizando distintos modelos *in vitro*: 1) de decidualización, usando la línea celular HESC; 2) de interacción embrio-endometrial, utilizando células HESC decidualizadas y medios condicionados de blastocistos (MCB), y 3) de invasión trofoblástica, mediante el cocultivo de células HESC con esferoides de células trofoblásticas (línea celular Swan 71). La decidualización *in vitro* indujo la expresión de marcadores característicos (IGFBP1, PRL, KLF13), así como la expresión de quimioquinas (SDF-1, MCP-1 e IL-8). Al evaluar el efecto de los MCB sobre las células decidualizadas, observamos un incremento de SDF-1 con los MCB provenientes de blastocistos de desarrollo competente (DC), mientras que los de desarrollo detenido (DD) indujeron MCP-1 y la actividad de MMP-9, ambos asociados a la remodelación endometrial y al inicio de la menstruación. Finalmente, el modelo de invasión *in vitro* mostró que las células decidualizadas permiten una mayor invasión (*vs.* no diferenciadas), lo cual se sostiene en el tratamiento con MCB de DC, mientras que se restringe con MCB de DD. Estos resultados sugieren que los MCB de DC favorecen la homeostasis inmune, mientras que los MCB de DD inducirían un microambiente hostil asociado a la menstruación.

Palabras clave: implantación, calidad embrionaria, decidualización, modelos *in vitro*.

Revista de la Sociedad Argentina de Endocrinología Ginecológica y Reproductiva 2019; Vol. XXVI N° 2 Julio - diciembre de 2019: 83-90

Abstract

*Early pregnancy establishment requires a successful interaction between a competent embryo and a receptive endometrium. Particularly, it has been recently proposed that the decidua is able to sense embryo quality allowing the implantation of competent embryos while limiting the invasion of impaired development ones. The mechanisms involved in this process are not completely elucidated, which is partially due to the lack of suitable *in vivo* models.*

*Here we will study the endometrial selection of human embryos using the following *in vitro* models: 1) a decidualization model using the HESC cell line, 2) an embryo endometrial interaction model using decidualized HESC cells and blastocyst conditioned media (BCM); and 3) a trophoblast invasion model, where HESC cells are co cultured with trophoblastic cells spheroids from Swan 71 cell line. We found that *in vitro* decidualization process induces the expression of specific markers (IGFBP-1, PRL and KLF13) and chemokines (SDF-1, MCP-1 and IL-8). When BCM effect on decidualized cells was evaluated, we observed increased levels of SDF-1 on normal development (ND) BCM stimulation, while impaired development (ID) BCM induced MCP-1 expression and MMP-9 activity, which are both associated to endometrial remodeling and menstruation induction. Finally, the invasion model showed that decidualized cells allow a higher invasion index compared to not decidualized ones. Invasion index remained elevated with ND BCM, while ID BMC reduced it. These results suggest that ND BCM promotes the immune homeostasis, while ID BCM would induce a hostile microenvironment associated to menstruation.*

Key words: implantation, embryo quality, decidualization, *in vitro* models.

Revista de la Sociedad Argentina de Endocrinología Ginecológica y Reproductiva 2019; Vol. XXVI N° 2 Julio - diciembre de 2019: 83-90

INTRODUCCIÓN

La reproducción humana es un proceso altamente complejo que presenta una eficiencia relativamente baja en comparación con otras especies¹. Para que el embarazo se produzca, debe ocurrir una serie de eventos temporalmente coordinados: la ovulación, la copulación, la

fecundación y, finalmente, la implantación e invasión trofoblástica. Para esto último no solo se requiere un embrión competente y un endometrio receptivo, sino también un “diálogo embrio-endometrial” exitoso. Ese diálogo está mediado por factores producidos localmente que inducen circuitos tanto autocrinos como paracrinos².

Durante la fase secretoria del ciclo menstrual las células endometriales se decidualizan, volviéndose receptivas a la implantación embrionaria. Desde una perspectiva fisiológica, la decidua presenta características y funciones esenciales para la implantación y placentación: la capacidad de regular la invasión trofoblástica, de controlar la calidad del embrión y de modular la respuesta inmune local³. Estos cambios se producen gracias a la modulación de la expresión de distintos genes, como citoquinas proinflamatorias y antiinflamatorias, factores de crecimiento, quimioquinas y sus receptores, entre otros⁴.

En los últimos años, se ha propuesto que entre los 2 y 4 días posteriores a la implantación embrionaria existe un período denominado “ventana de selección natural de embriones”. En esta etapa, las células decidualizadas actúan como biosensores de la calidad embrionaria y permiten solo la continuidad de la invasión de embriones viables. En este sentido, los ensayos *in vitro* muestran que las células decidualizadas responden a los embriones con desarrollo detenido inhibiendo la secreción de distintos inmunomoduladores y factores proimplantatorios^{4,5}. No obstante, aún se desconocen cuáles son los mediadores secretados por el blastocisto que modulan la respuesta de las células deciduales, así como los mecanismos involucrados.

El estudio de la implantación embrionaria y la formación de la interfase materno-fetal plantean un gran desafío desde el punto de vista ético y práctico debido, por un lado, a la falta de modelos *in vivo* que representen adecuadamente estos procesos en el ser humano y, por el otro, a que la posibilidad de utilizar blastocistos para investigación depende de la legislación de cada país. Particularmente en la Argentina, existen limitaciones legales para la obtención y el uso de muestras humanas como blastocistos o placentas del primer trimestre de embarazos normales. Asimismo, hay diferencias importantes entre la gestación en seres humanos y en otras especies, lo cual limita el uso de animales como modelos *in vivo*. Por ejemplo, en el ser humano la decidualización es cíclica e independiente de la fecundación del embrión, mientras que en los murinos solo ocurre en presencia del blastocisto. Si bien el modelo de animal más representativo lo constituyen los primates, su uso es dificultoso e, incluso, cuestionado desde el punto de vista ético^{6,7}. Estas limitaciones han llevado al desarrollo de múltiples modelos *in vitro* que, aunque no sean capaces de simular totalmente los procesos

de implantación y placentación, permiten estudiar ciertos aspectos de ellos^{8,9}. En nuestro laboratorio estudiamos la interfase materno-placentaria utilizando líneas celulares humanas de trofoblasto, tanto de primer como de tercer trimestre, y de estroma endometrial. Además, utilizamos un modelo *in vitro* de decidualización que nos permite evaluar los mecanismos celulares involucrados en este proceso. A su vez, estudiamos el diálogo embrio-endometrial estimulando las células decidualizadas con medios condicionados de blastocistos humanos obtenidos de tratamientos de fertilización *in vitro* (FIV/ICSI). Este modelo nos permite estudiar la respuesta de las células decidualizadas a los factores solubles secretados por el embrión. Por último, utilizamos un modelo *in vitro* de implantación embrionaria que simula la unión y la invasión del blastocisto a la decidua.

En el presente trabajo nos propusimos evaluar el eje embrio-endometrial enfocándonos particularmente en la capacidad de las células decidualizadas de sentir la calidad embrionaria y de contribuir a la adhesión e invasión de aquellos blastocistos con desarrollo competente. Para ello, utilizamos distintos abordajes experimentales como aproximación a los procesos que ocurren fisiológicamente en los seres humanos. Particularmente, utilizamos modelos *in vitro* de decidualización, de interacción embrio-endometrial y de implantación embrionaria. De este modo, evaluamos la expresión y la cinética de distintos marcadores característicos de decidualización, la capacidad de las células deciduales de responder diferencialmente a los medios condicionados de blastocistos de acuerdo con la calidad de estos y de modular la adhesión e invasión de células trofoblásticas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Líneas celulares

Se utilizaron líneas celulares de citotrofoblasto humano de primer trimestre (Swan 71) y de estroma endometrial humano (HESC). Las células fueron cultivadas en Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) suplementado con 10% de suero fetal bovino, penicilina (50 U/ml), estreptomycin (50 µg/ml) y glutamina (2 mM). Para los distintos ensayos, las células HESC fueron cultivadas en placas de 24 pocillos hasta alcanzar un 70% de confluencia, momento en el que se inician los distintos tratamientos. Las mencionadas líneas celulares fueron cedidas gentilmente por el Dr. Gil Mor (Universidad de Yale, Estados Unidos).

Modelo *in vitro* de decidualización

Las células HESC fueron cultivadas en placas de 24 pocillos en medio completo en presencia de medroxiprogesterona (MPA) 10^{-7} M y dibutilil AMPc $2,5 \cdot 10^{-3}$ M durante 8 días, renovando el estímulo cada 48 horas. El último día de tratamiento, los estímulos de decidualización fueron removidos (Figura 1).

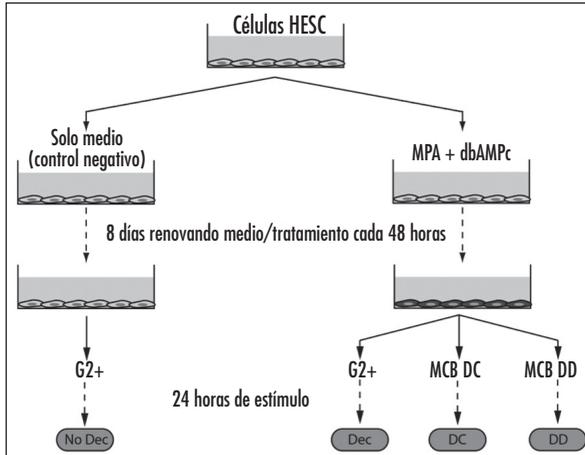


Figura 1. Esquema del protocolo para el modelo de interacción embrio-endometrial. HESC: *human endometrial stromal cells*; Dec: células decidualizadas; No Dec: sin decidualizar; DC: MCB con desarrollo competente; DD: MCB con desarrollo detenido.

Modelo *in vitro* de diálogo embrio-endometrial

Las células HESC decidualizadas fueron estimuladas durante 24 horas con 30 μ l de medios condicionados de blastocistos (MCB) humanos en un volumen final de 300 μ l. Por último, se recuperaron las células o su sobrenadante para posteriores análisis (véase Figura 1). Como control, las células decidualizadas no tratadas con MCB fueron estimuladas con el medio comercial en el cual se cultivan los blastocistos (G2 plus, Vitrolife).

Los MCB humanos fueron donados por FERTILIS Medicina Reproductiva (San Isidro, Buenos Aires). Los ovocitos fecundados se obtuvieron de pacientes que se realizaron fecundaciones *in vitro* como tratamiento terapéutico. Una vez constatada la fecundación, los ovocitos con dos pronúcleos fueron cultivados hasta el día 3 en grupos de 5 en gotas de 50 μ l de medio G1 plus (Vitrolife) bajo aceite Ovoil (Vitrolife), para luego pasarlos a cultivo individual en gotas de 35 μ l de medios G2 plus (Vitrolife) hasta el día 5. Las condiciones de cultivo fueron: 5% O_2 , 6% CO_2 , sin humidificación y a 37°C.

En el momento de la transferencia de los blastocistos, los medios se recolectaron y se congelaron a $-20^\circ C$. Antes de transferir los blastocistos se

evaluó su calidad según el consenso de Estambul¹⁰. Los medios condicionados derivados de blastocistos con posibilidades de implantar (que fueron transferidos o criopreservados para futuras transferencias) fueron clasificados como de desarrollo competente (DC), mientras que aquellos que se detuvieron en el estadio de embrión temprano se clasificaron como de desarrollo detenido (DD).

Modelo *in vitro* de implantación embrionaria

Células trofoblásticas humanas de la línea celular Swan71 fueron cultivadas en placas de baja adhesión durante 48 horas para permitir la formación de estructuras esféricas denominadas esferoides similares a blastocistos (ESB). Los ESB carecen de macizo celular interno; no obstante, su superficie remeda el trofoectodermo del blastocisto, la capa que interacciona con las células epiteliales y deciduales. La viabilidad de los ESB se evaluó por tinción con azul de tripano (viabilidad > 99%). Tras esto, los ESB fueron seleccionados morfológicamente bajo lupa y marcados con la sonda fluorescente CFSE. Luego, fueron transferidos a un pocillo de células HESC en monocapa (10-15 ESB por pocillo), las cuales a su vez fueron previamente tratadas con distintos estímulos, según se indica en cada caso. Los cocultivos fueron monitoreados mediante microscopía de fluorescencia (Olympus Lifesciences, EE. UU.) durante 48 horas. Finalmente, se trazó una elipse alrededor de cada ESB con el *software ImageJ* y se calculó el índice de invasión como “ $1 - (\text{eje menor}/\text{eje mayor})$ ” (Figura 2).

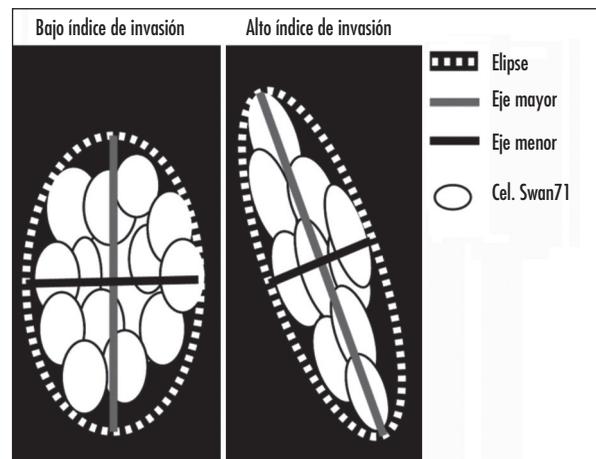


Figura 2: Esquema para la determinación del índice de invasión de un ESB.

Se traza una elipse sobre la imagen de cada esferoide, se determinan los ejes mayor y menor y se calcula el cociente entre ambos. Finalmente, se obtiene el índice de invasión como “ $1 - (\text{eje menor}/\text{eje mayor})$ ”.

PCR en tiempo final y en tiempo real

Las células recuperadas luego de los distintos tratamientos fueron resuspendidas en Trizol (Life Technologies), se extrajo el ARN total y se generó el ADN copia (ADNc) utilizando transcriptasa inversa MMLV, inhibidor de RNAsas y oligo dT (Promega, EE. UU.) como se describió previamente¹¹. La PCR en tiempo real se llevó a cabo en un termociclador BioRad MyiQ2 utilizando MasterMix (Roche) siguiendo las instrucciones del fabricante. Los resultados se muestran relativizados a la condición considerada de control en cada ensayo (células no decidualizadas o células decidualizadas estimuladas con G2 plus, según el ensayo) y fueron normalizados a la expresión del gen GAPDH. Para determinar la presencia o ausencia de expresión de marcadores de decidualización se utilizó PCR a tiempo final y el resultado se reveló mediante electroforesis en gel de agarosa. Las secuencias de *primers* se muestran en la Tabla 1.

Gen	Secuencia S	Secuencia AS
GAPDH	TGATGACATCAAGAAGGTGGTGAAG	TCCTTGGAGGCCATGTAGGCCAT
IGFBP1	GAGCACGGAGATAACTGAGGAG	TTGGCTAAACTCTCTACGACTCTG
IL-8	CCAACACAGAAATTATTGTAAGC	CACTGGCATCTTCACTGATTCT
KLF13	TTCGGTGGTCTCTGGTGACTGG	TGGACCTTGGATTCTGCCTTGG
MCP-1	CAGCAGCAAGTGTCCCAAG	GAGTGAGTGTTCAAGTCTTCGG
PRL	CCACTACATCCATAACCTCTCTC	GGCTTGCTCTTGTCTTCGG
SDF1	TGCCCTCAGATTGTAGC	CGTCTTGCCCTTTCATC
TIMP1	CTGCGGATACTTCCACCGGT	GCAGGATTGAGGCTATCTGG
TIMP2	GATGCACATCACCTCTGTG	TCCAGGAAGGGATGTCAGAG

Tabla 1: Secuencia de los cebadores utilizados para la detección de ARNm mediante PCR. Se indica la secuencia sentido (S) y antisentido (AS) desde el extremo 5' al 3'.

ELISA

Para la cuantificación de IL-8 en sobrenadantes de cultivo se utilizó la técnica de ELISA sándwich (BD Biosciences, EE. UU.) y se procedió de acuerdo con las recomendaciones del fabricante. Brevemente, el anticuerpo específico anti-IL-8 fue adsorbido a la placa y, tras el bloqueo con PBS 2% SFB, se incubaron las muestras y la curva estándar. Posteriormente, se incubó con el anticuerpo policlonal anti-IL-8 conjugado con biotina y luego con estreptavidina conjugada a HRP. Por último, se agregó el sustrato de reacción (OPD) y luego una solución de H₂SO₄ 4N para detener la reacción. El revelado se llevó a cabo determinando la densidad óptica a 450 nm mediante un lector de placas y los resultados se expresaron en ng/ml.

Zimografía

Para la cuantificación de la actividad de metaloproteinasas se utilizó la técnica de zimografía. Brevemente, se realizó una electroforesis de proteínas sembrando sobrenadantes de células decidualizadas estimuladas con MCB de DC o DD. Se utilizó un gel de poliacrilamida 10% con agregado de gelatina (1 mg/ml) y un gel concentrador de poliacrilamida 5%. Este procedimiento se realizó por duplicado y en condiciones desnaturalizantes. Luego de la corrida electroforética, ambos geles fueron lavados permitiendo la renaturalización de las MMP y uno de los geles se incubó con un *buffer* que contenía Ca²⁺ para permitir la actividad de metaloproteinasas, mientras que el otro se incubó con un *buffer* que contenía EDTA 0,5 M a fin de inhibir esa actividad. Posteriormente, se tiñeron los geles con una solución de azul de Coomassie 0,5% y se revelaron por colorimetría utilizando un transiluminador (Amersham Imager 600). La actividad de metaloproteinasas se determinó por la presencia de bandas de degradación de la gelatina contenida en el gel, considerando específicas aquellas bandas presentes en el gel incubado con Ca²⁺ y ausentes en el gel incubado con EDTA. La cuantificación se realizó utilizando el *software Image*.

RESULTADOS

El programa de decidualización *in vitro* induce la expresión de marcadores característicos

El programa de decidualización induce la expresión de múltiples genes; los marcadores característicos son la proteína de unión al factor de crecimiento insulínico 1 (IGFBP-1), la prolactina (PRL) y el factor de transcripción Kruppel-like factor 13 (KLF13). Por lo tanto, para validar el modelo de decidualización *in vitro* analizamos la expresión de estos genes a lo largo del proceso de decidualización. La cinética de expresión realizada a los 2, 4 y 8 días de tratamiento mostró que ambos marcadores inducen su expresión a los 8 días postratamiento (Figura 3). Seguidamente evaluamos la expresión de quimioquinas y receptores de quimioquinas asociadas a la decidualización. Particularmente evaluamos quimioquinas características del reclutamiento de linfocitos T reguladores (SDF-1 o CXCL-12), de neutrófilos (IL-8 o CXCL-8) y de monocitos y células dendríticas (MCP-1 o CCL-2). La expresión de estos tres genes aumenta en las células decidualizadas respecto de las no diferenciadas (Figura 4). Los presentes resultados sugieren que las células estromales, luego de su diferenciación *in vitro*, no solo adquieren la expresión

de marcadores característicos de la decidualización, sino que también participarían activamente en el reclutamiento selectivo de poblaciones leucocitarias contribuyendo en conjunto a la formación de la interfase materno-placentaria.

Las células decidualizadas *in vitro* modulan la expresión de quimioquinas y metaloproteinasas según la calidad del blastocisto

Con el objeto de estudiar la capacidad de las células decidualizadas de sensar la calidad embrionaria, utilizamos un modelo *in vitro* de diálogo embrio-endometrial que consiste en el tratamiento de las células decidualizadas con medios condicionados de blastocistos (MCB). Este modelo permite evaluar la respuesta de las células endometriales a los factores solubles secretados por los blastocistos según la calidad de estos.

En primer lugar, evaluamos si los factores secretados por los blastocistos de desarrollo competente (DC) y por blastocistos de desarrollo detenido (DD) modulan la producción de quimioquinas. Los MCB de DC indujeron la expresión de SDF-1, mientras que los MCB de DD incrementaron la expresión de MCP-1, lo que sugiere que pueden reclutarse distintas poblaciones leucocitarias de acuerdo con la calidad de los MCB (Figura 5).

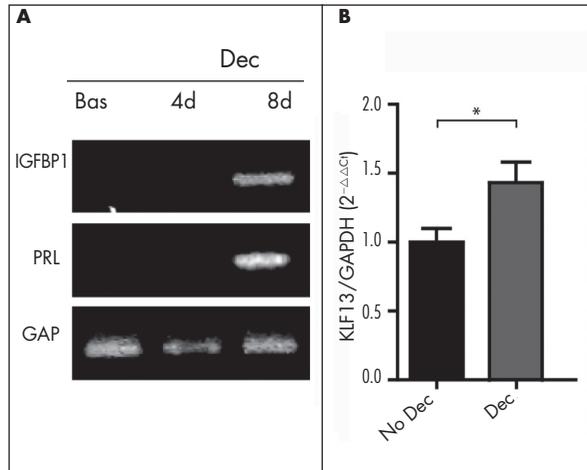


Figura 3. Inducción de la decidualización *in vitro*. Las células HESC decidualizadas (Dec) expresan IGFBP1, PRL (A) y KLF13 (B) a diferencia de las no decidualizadas (No Dec) luego de 8 días de tratamiento.

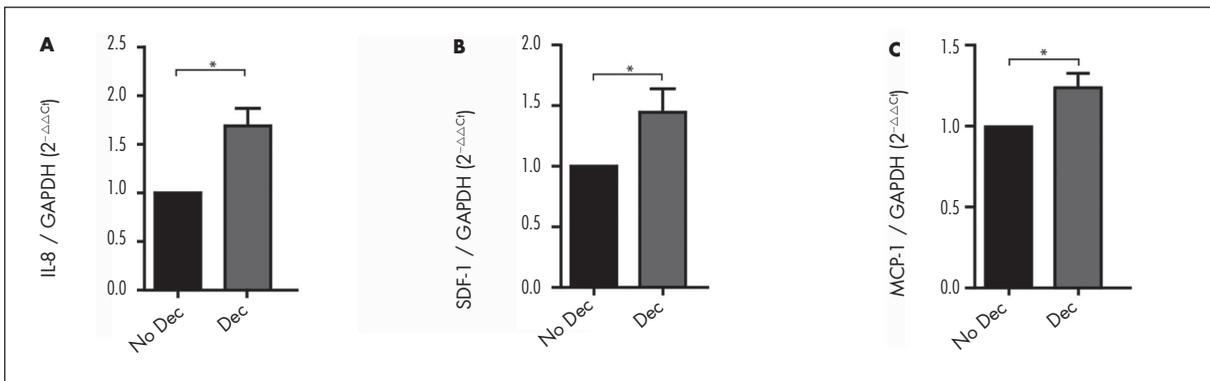


Figura 4: Inducción de quimioquinas en células decidualizadas. La decidualización aumentó la expresión de las quimioquinas IL-8, SDF-1 y MCP-1 (A-C) en células decidualizadas (Dec) en comparación con las no decidualizadas (No Dec).

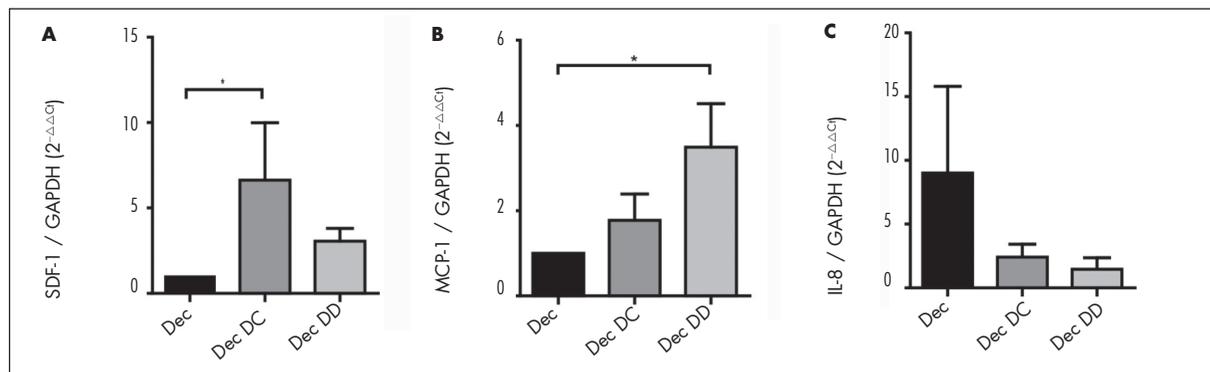


Figura 5: Inducción de quimioquinas en células decidualizadas según la calidad de los MCB. Los MCB de desarrollo competente (DC) incrementan la expresión de SDF-1 (A), mientras que los MCB de desarrollo detenido (DD) inducen un aumento de MCP-1 (B). No se observaron modulaciones para IL-8 en estas condiciones (C).

Dado que la remodelación endometrial está mediada por proteínas que degradan la matriz extracelular, evaluamos la actividad gelatinolítica de las células decidualizadas luego de ser estimuladas con MCB. Mediante la técnica de zimografía, detectamos un aumento de la actividad de MMP-9 en respuesta a los MCB de DD (Figura 6 A). Por otra parte, cuando evaluamos la expresión de los inhibidores de las MMP, familia TIMP, no se observaron diferencias en los niveles de TIMP1 y TIMP2 en presencia de los MCB (Figura 6 B, C).

Estos resultados indican que las células decidualizadas en presencia de MCB de DD aumentan la actividad de MMP-9, pero no de los inhibidores, lo que sugiere una potencial remodelación endometrial asociada a la menstruación.

Las células decidualizadas modulan la invasión de células trofoblásticas de acuerdo con la calidad del blastocisto

Con el objeto de profundizar aún más en la interacción física entre las células decidualizadas y las trofoblásticas, utilizamos un modelo *in vitro* de implantación embrionaria. En este modelo, esferoides de células Swan 71 (ESB) son cocultivados con células HESC en monocapa y se sigue la invasión mediante microscopia de fluorescencia (véase Materiales y métodos). Como se observa en la Figura 7 A-C, las células decidualizadas permiten una mayor invasión de los ESB que aquellas no diferenciadas. Esta respuesta se sostiene en el tratamiento con MCB de DC, mientras que el estímulo de las células decidualizadas con MCB de DD restringe la capacidad de invasión de los ESB (Figura 7 D). Los resultados

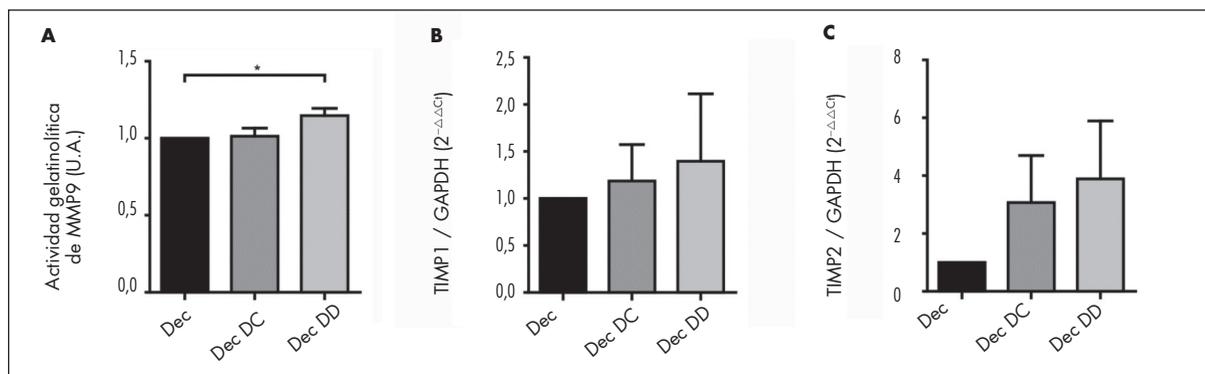


Figura 6: Modulación de metaloproteinasas y sus inhibidores por parte de las células decidualizadas según la calidad de los MCB. La zimografía reveló un aumento en la actividad de la MMP-9 en el sobrenadante de las células decidualizadas estimuladas con MCB de DD (A), mientras que la expresión de los inhibidores de metaloproteinasas TIMP1 y TIMP2 no se modularon (B-C).

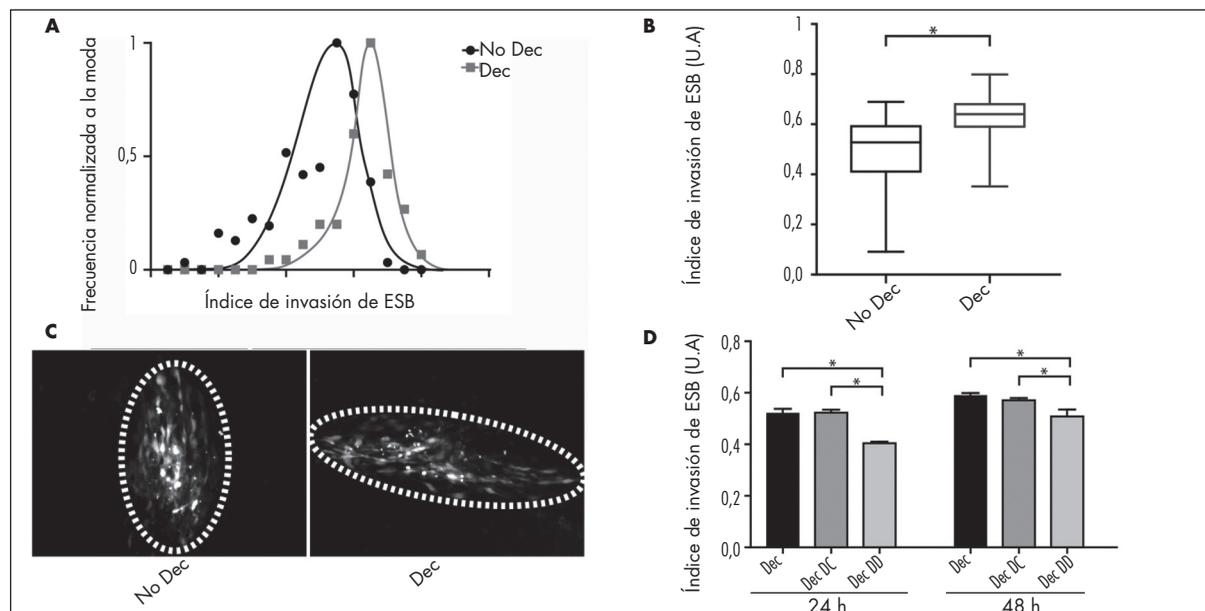


Figura 7: Invasión de ESB sobre las células decidualizadas. El modelo *in vitro* de invasión trofoblástica mostró que los esferoides cocultivados con células HESC decidualizadas alcanzan mayor invasión que los crecidos sobre HESC no diferenciadas (A-B). En (C) se muestra una ESB representativa de ambos tratamientos tras 48 horas de cocultivo. Asimismo, las células HESC decidualizadas estimuladas con MCB de DC son más permisivas a la invasión de ESB en comparación con aquellas tratadas con MCB de DD.

obtenidos en este modelo son similares a los eventos que se propone que ocurren fisiológicamente en la ventana de selección embrionaria.

DISCUSIÓN

El proceso de decidualización es crítico para que el endometrio sea receptivo a la invasión del blastocisto y, por lo tanto, para la formación de la interfase materno-placentaria. La formación de esta interfase es un proceso altamente complejo donde intervienen tanto células de origen materno (estroma y epitelio endometrial y células inmunes) como embrionario (citotrofoblasto y sincitiotrofoblasto). En este trabajo abordamos el estudio del eje embrio-endometrial a través del desarrollo y de la utilización de modelos *in vitro*, logrando estudiar distintos aspectos de este.

En primer lugar, utilizamos un modelo de decidualización *in vitro* mediante el cual pudimos observar la expresión de marcadores característicos (IGFBP1, PRL y KLF13). En trabajos ya publicados, este modelo nos permitió estudiar la generación de un microambiente proinflamatorio asociado a la implantación embrionaria exitosa⁹. En este sentido, se ha propuesto que la generación de un microambiente proinflamatorio controlado es necesaria para que las células trofoblásticas puedan invadir la decidua¹². Si bien los mecanismos responsables de iniciar esta respuesta inmunitaria aún no están totalmente dilucidados^{12,13}, nuestro laboratorio ha informado, mediante el uso de este modelo, que el estrés del retículo endoplasmático y la respuesta a proteínas mal plegadas contribuyen, al menos parcialmente, a la generación de esta respuesta inflamatoria a través de la producción de IL-1 β ¹¹.

Un paso más en la complejización del modelo de decidualización fue el uso de medios condicionados de blastocisto (MCB) de distinta calidad según su desarrollo. La estimulación de las células decidualizadas con MCB permite simular ciertos aspectos de la interacción embrio-endometrial a fin de estudiar los mecanismos por los cuales esas células son capaces de sensar la calidad embrionaria. Al respecto, se ha propuesto que los factores liberados por blastocistos de baja calidad alteran el transcriptoma de las células deciduales y modifican la expresión de cientos de genes^{5,14}. En línea con esto, en el presente trabajo observamos que las células HESC decidualizadas son capaces de responder diferencialmente a los factores secretados por los blastocistos según la calidad de estos, modulando la expresión de quimioquinas y la producción de metaloproteinasas. Los MCB de

desarrollo detenido producen un incremento de MCP-1, una quimioquina que clásicamente recluta monocitos¹⁵, al mismo tiempo que incrementa la actividad de MMP-9. Ambos procesos se asocian a la remodelación del endometrio y al inicio de la menstruación^{16,17}. En contraste, los MCB de alta calidad aumentan la expresión de SDF-1, una quimioquina asociada al reclutamiento y retención en la mucosa de linfocitos T reguladores (Treg), los cuales contribuyen al control de la homeostasis inmune¹⁸⁻²⁰.

Por último, utilizando la línea celular trofoblástica Swan 71, desarrollamos un modelo *in vitro* que nos permite simular los momentos iniciales de la implantación embrionaria. Específicamente, podemos evaluar las interacciones celulares entre las células trofoblásticas y las deciduales y cómo distintos tratamientos regulan la capacidad invasora de las primeras sobre las segundas¹¹. Este modelo es capaz de responder a situaciones experimentales de forma análoga a lo que sucede fisiológicamente, ya que las células decidualizadas se mostraron más permisivas a la invasión que las no diferenciadas; este comportamiento se revirtió parcialmente al estimular con MCB de DD, mientras que se mantuvo en el tratamiento con MCB de DC. Este modelo puede complejizarse aún más con el agregado de Matrigel, permitiendo simular no solo la interacción entre células trofoblásticas y endometriales, sino también con la matriz extracelular²¹, lo que nos abre a futuro la posibilidad de profundizar en el estudio de los mecanismos por los cuales las células deciduales son capaces de sensar la calidad embrionaria.

La reproducibilidad e integridad de un modelo es un factor esencial para su aplicación como herramienta de detección. Un punto importante que contribuye a la reproducibilidad es la utilización de líneas celulares, lo que permite la estandarización del modelo para comparar diferentes condiciones, algo que no es aplicable usando cultivos primarios frescos obtenidos a partir de biopsias^{11,22,23}.

El desarrollo de nuevos modelos *in vitro* para el estudio de la generación de la interfase materno-fetal nos ha permitido ahondar en los procesos tempranos de la implantación que condicionan el futuro desarrollo del embarazo. Esperamos que estos y futuros avances en modelos de investigación permitan dilucidar los mecanismos moleculares de patologías asociadas a la implantación y placentación y, de este modo, obtener nuevos biomarcadores, así como desarrollar nuevas estrategias terapéuticas para patologías de la reproducción.

Agradecimientos

El presente trabajo se desarrolló dentro del marco del proyecto financiado por la Agencia Nacional de Ciencia y Tecnología (PICT 2016-0464 a RR, 2017-2427 a EG, 2014-0657 y 2017-1536 a CPL) y por la Universidad de Buenos Aires (UBACyT 20020090200034 a RR y UBACyT 20020130100040BA a CPL). Las líneas celulares utilizadas fueron gentilmente cedidas por el Dr. Gil Mor (Universidad de Yale, Estados Unidos).

REFERENCIAS

- Evers J LH. Female subfertility. *Lancet* 2002;51-9.
- Sharkey AM, Macklon NS. The science of implantation emerges blinking into the light. *Reproductive BioMedicine Online* 2013;27:453-60.
- Teklenburg G, Salker M, Heijnen C, Macklon NS, Brosens JJ. The molecular basis of recurrent pregnancy loss: Impaired natural embryo selection. *Mol Hum Reprod* 2010;16:886-95.
- Altmäe S, Reimand J, Hovatta O, Zhang P, Kere J, Laik T, et al. Research Resource: Interactome of Human Embryo Implantation: Identification of Gene Expression Pathways, Regulation, and Integrated Regulatory Networks. *Mol Endocrinol* [Internet]. 2012;26(1):203-17. Disponible en: <https://academic.oup.com/mend/article-lookup/doi/10.1210/me.2011-1196>
- Teklenburg G, Salker M, Molokhia M, Lavery S, Trew G, Aojanepong T, et al. Natural selection of human embryos: Decidualizing endometrial stromal cells serve as sensors of embryo quality upon implantation. *PLoS One* 2010;5(4).
- Nyachio A, Chai DC, Deprest J, Mwenda JM, D'Hooghe TM. The baboon as a research model for the study of endometrial biology, uterine receptivity and embryo implantation. *Gynecol Obstet Invest* 2007;64(3):149-55.
- Teklenburg G, Macklon NS. Review: In Vitro Models for the Study of Early Human Embryo-Endometrium Interactions. *Reprod Sci* 2009.
- Weimar CHE, Uiterweer EDP, Teklenburg G, Heijnen CJ, Macklon NS. In-vitro model systems for the study of human embryo-endometrium interactions TL - 27. *Reprod Biomed Online* [Internet]. 2013;27 VN-r(5):461-76. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rbmo.2013.08.002>
- Grasso E, Gori S, Papparini D, Soczewski E, Fernández L, Gallino L, et al. VIP induces the decidualization program and conditions the immunoregulation of the implantation process. *Mol Cell Endocrinol* [Internet]. 2017. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mce.2017.07.006>
- Balaban B, Brison D, Calderón G, Catt J, Conaghan J, Cowan L, et al. Istanbul consensus workshop on embryo assessment: Proceedings of an expert meeting. *Reprod Biomed Online* 2011.
- Grasso E, Gori S, Soczewski E, Fernández L, Gallino L, Vota D, et al. Impact of the Reticular Stress and Unfolded Protein Response on the inflammatory response in endometrial stromal cells. 2018;(July):1-12.
- Dekel N, Gnainsky Y, Granot I, Mor G. Inflammation and implantation. *Am J Reprod Immunol* 2010;63:17-21.
- Ramhorst R, Calo G, Papparini D, Vota D, Hauk V, Gallino L, et al. Control of the inflammatory response during pregnancy: potential role of VIP as a regulatory peptide. *Ann N Y Acad Sci* [Internet]. 2019 Feb;1437(1):15-21. Disponible en: <http://doi.wiley.com/10.1111/nyas.13632>
- Brosens JJ, Salker MS, Teklenburg G, Nautiyal J, Salter S, Lucas ES, et al. Uterine Selection of Human Embryos at Implantation. *Sci Rep* [Internet]. 2015;4(1):3894. Disponible en: <http://www.nature.com/articles/srep03894>
- Yoshimura T. The production of monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1)/CCL2 in tumor microenvironments. *Cytokine*. 2017.
- Evans J, Salamonsen LA. Inflammation, leukocytes and menstruation. *Rev Endocr Metab Disord* 2012.
- Salamonsen LA, Woolley DE. Menstruation: Induction by matrix metalloproteinases and inflammatory cells. *J Reprod Immunol* 1999.
- Kotsiou E, Gribben JG, Davies JK. Allospecific Tregs Expanded after Anergization Remain Suppressive in Inflammatory Conditions but Lack Expression of Gut-homing Molecules. *Mol Ther* 2016.
- Nti BK, Markman JL, Bertera S, Styche AJ, Lakomy RJ, Subbotin VM, et al. Treg cells in pancreatic lymph nodes: The possible role in diabetogenesis and β cell regeneration in a T1D model. *Cell Mol Immunol* 2012.
- Fernández L, Soczewski E, Gori MS, Sabbione F, Papparini D, Vota D, et al. Decidualized cells respond differentially contributing to a tolerogenic microenvironment accordingly blastocyst quality. *Med Buenos Aires* 2018;78.
- You Y, Stelzl P, Zhang Y, Porter J, Liu H, Liao A, et al. Novel 3D in vitro models to evaluate trophoblast migration and invasion. *Am J Reprod Immunol* [Internet]. 2019 Mar 30;81(3):e13076. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/aji.13076>
- Racicot KE, Wünsche V, Auerbach B, Aldo P, Silasi M, Mor G. Human chorionic gonadotropin enhances trophoblast-epithelial interaction in an in vitro model of human implantation. *Reprod Sci* 2014.
- Holmberg JC, Haddad S, Wünsche V, Yang Y, Aldo PB, Gnainsky Y, et al. An in vitro model for the study of human implantation. *Am J Reprod Immunol* [Internet]. 2012;67(2):169-78. Disponible en: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3703643&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>

Nuevas perspectivas en el tratamiento de la osteoporosis

New perspectives in the osteoporosis treatment

Silvina Mastaglia, MD, PhD*

Investigadora Adjunta del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET)

*Laboratorio de Osteoporosis y Enfermedades Metabólicas Óseas, Hospital de Clínicas, Universidad de Buenos Aires. Instituto de Inmunología, Genética y Metabolismo (INIGEM) CONICET-UBA

Contacto de la autora: Silvina Mastaglia

E-mail: silvinamastaglia@hotmail.com

Correspondencia: Av. Córdoba 2351 (1120), Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

Recibido: 3/4/2019 Aceptado: 10/5/2019

Conflicto de interés: la autora declara no tener conflicto de interés.

Resumen

La osteoporosis es una enfermedad crónica cuya consecuencia más importante son las fracturas por fragilidad ósea. En las últimas décadas, los avances en el conocimiento de los eventos celulares y vías de señalización que contribuyen a la diferenciación del linaje de los osteoblastos han permitido desarrollar nuevos agentes terapéuticos anabólicos. De estos, la Dirección Federal de Fármacos y Alimentos de Estados Unidos (*Food and Drug Administration*, FDA) aprobó recientemente la abaloparatida, un agonista del receptor de la hormona paratiroides, y el romosozumab, un inhibidor de la esclerotina, ambos indicados para el tratamiento de la osteoporosis en mujeres posmenopáusicas con alto riesgo de fracturas. Estos medicamentos demostraron ser efectivos para reducir el riesgo de fracturas vertebrales. Debido a sus características farmacocinéticas, la discontinuación de su administración debe ser seguida por un agente antiresortivo. La secuenciación de la administración de un medicamento anabólico seguido por un antiresortivo permitiría continuar incrementando la densidad mineral ósea, aunque aún no está establecido su efecto sobre la reducción de las fracturas por fragilidad ósea.

Palabras clave: medicamentos anabólicos, osteoporosis, tratamientos secuenciales.

Revista de la Sociedad Argentina de Endocrinología Ginecológica y Reproductiva 2019; Vol. XXVI N° 2 Julio - diciembre de 2019: 91-96

Abstract

Osteoporosis is a chronic disease whose most important consequence is brittle bone fracture. In recent decades, progress in the study of cellular events and signaling pathways that contribute to the differentiation of the osteoblast lineage has led to the development of new anabolic therapeutic agents. Among them, the U.S. Food and Drug Administration (FDA) has recently approved abaloparatide, a parathyroid hormone receptor agonist, and romosozumab, a sclerostin inhibitor; both prescribed for the treatment of osteoporosis in postmenopausal women at high risk for fractures. Both drugs have proved effective in reducing the risk of vertebral fractures. Due to their pharmacokinetic characteristics, discontinuation of their administration must be followed by an anti-resorptive agent, enabling this sequential scheme. The sequencing of the administration of an anabolic drug followed by an anti-resorptive would allow to continue increasing mineral density although its effect on the reduction of fractures due to bone fragility has not yet been established.

Key words: anabolic medication, osteoporosis, sequential treatment.

Revista de la Sociedad Argentina de Endocrinología Ginecológica y Reproductiva 2019; Vol. XXVI N° 2 Julio - diciembre de 2019: 91-96

INTRODUCCIÓN

La osteoporosis es una enfermedad metabólica ósea caracterizada por baja masa ósea y deterioro de la microarquitectura, cuya consecuencia es una mayor fragilidad ósea y un aumento del riesgo de fractura¹. Constituye un importante problema de salud pública a nivel global, estimándose que 200 millones de individuos la padecen y que ocurren 9 millones de nuevas fracturas por año².

En la actualidad, los medicamentos aprobados para el tratamiento de la osteoporosis pueden agruparse en dos categorías: los anticatabólicos (antiresortivos) y los anabólicos. Los primeros son definidos como aquellos que aumentan la resistencia ósea por disminución de la remodelación ósea preservando así la microarquitectura del esqueleto debido a que previenen el daño estructural del hueso trabecular y reducen la porosidad cortical. En cambio, los tratamientos anabólicos son aquellos que incrementan la re-

sistencia ósea por el incremento de la masa ósea como resultado de un aumento total de la remodelación ósea, siendo de mayor magnitud la fase de formación que la de resorción³.

La efectividad de los tratamientos contra la osteoporosis se evalúa por su capacidad para reducir la incidencia de nuevas fracturas. En la menopausia, la remodelación ósea está incrementada y la resorción ósea excede la capacidad del esqueleto para formar hueso nuevo, con la consiguiente pérdida de masa ósea.

En las últimas décadas, ha habido un creciente interés en el desarrollo de agentes terapéuticos anabólicos óseos capaces de incrementar la masa ósea y restituir la arquitectura esquelética. El objetivo de la presente revisión fue examinar el proceso de remodelación ósea, las vías de señalización de formación ósea y los nuevos agentes terapéuticos anabólicos recientemente aprobados para el tratamiento de la osteoporosis.

REMODELACIÓN ÓSEA

El esqueleto se encuentra en un permanente estado de remodelación ósea, que se define como el proceso mediante el cual el organismo mantiene la homeostasis del calcio, permite la reparación de microtraumas óseos y constituye una respuesta de adaptación del hueso al estrés mecánico. Frost, en 1969, acuñó por primera vez el término “unidad básica multicelular” (BUN), también conocida como “unidad metabólica ósea”, para definir la estructura histológica temporal compuesta por el osteoclasto (OC) en el frente de la laguna de Howship y los osteoblastos (OB) por detrás de esta⁴.

Los OC son células multinucleadas derivadas de las células pluripotenciales hematopoyéticas (monocitos/macrófagos) responsables de la resorción ósea, mientras que los OB son células mononucleadas derivadas de las células mesenquimáticas. El linaje osteoblástico presenta como estadio final de su diferenciación las *lining cell* y los osteocitos que, por sus características histológicas, permiten establecer una comunicación entre los OB y los OC.

El osteocito tendría un papel relevante en el proceso de remodelación ósea, ya que secreta el receptor activador del factor nuclear kappa B (RANKL), controlando por este mecanismo la osteoclastogénesis y, por ende, la resorción ósea. Por otro lado, los osteocitos son una fuente de escleratina (Scl), un antagonista de la vía Wnt/ β -catenina, regulando el proceso de osteoblastogénesis y formación ósea. Así, las señales que determinan la replicación, diferenciación, función y muerte celular de los OB y OC dictarán la tasa de remodelación ósea⁵.

Por lo tanto, el proceso de remodelación ósea consiste en ciclos focales de resorción seguidos por los de formación, de manera que la tasa de remodelación depende del número de ciclos, mientras que el efecto final sobre la masa ósea depende del balance focal en cada ciclo.

VÍA WNT/ β -CATENINA

La vía Wnt/ β -catenina está involucrada en el proceso de formación ósea, que controla el desarrollo y también la homeostasis normal del esqueleto adulto.

Las Wnt constituyen una familia de glucoproteínas secretoras que traducen su señal a través de siete receptores de membrana correspondientes a la familia frizzled (Fzd) y dos correceptores constituidos por proteínas de baja densidad (LRP) 5 y 6 (Figura 1).

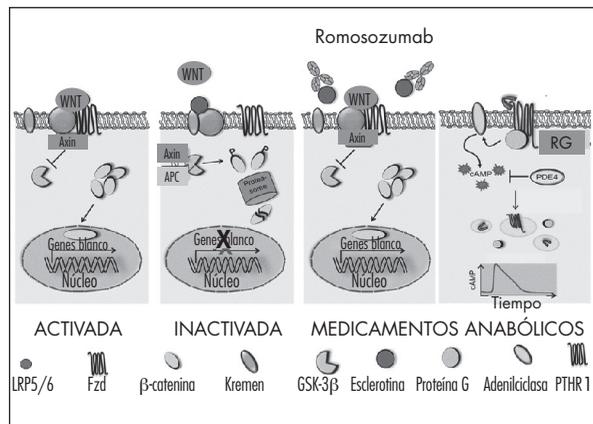


Figura 1: Representación de la vía Wnt/ β -catenina en estado activo e inactivo y la acción sobre ella del romosozumab y la abaloparatida. La activación se produce por la unión del ligando Wnt con LRP5/6 y Fzd. Este último recluta a Axin inhibiendo la fosforilación de β -catenina, aumentando su concentración en el citoplasma celular y favoreciendo la translocación al núcleo y la transcripción de genes promotores de la formación ósea. La inactivación de la vía se produce cuando Scl (inhibidor de Wnt) recluta a kremen e impide la unión de Fzd a LRP5/6. La fosforilación de β -catenina, ubiquitinación y posterior degradación por los proteosomas conduce a la interrupción de las expresiones de los genes diana del ligando Wnt. El romosozumab neutraliza la acción de Scl restituyendo la señal de Wnt. La abaloparatida, un análogo sintético de PTHrP que se une al receptor PTH-1 (PTHrP 1), induce segundos mensajes generando la respuesta anabólica en el hueso (modificada de la referencia 23).

En ausencia del ligando Wnt/ β -catenina forma un complejo constituido por APC (del inglés *adenomatous polyposis coli*), Axin, GSK3 (glucosintetasa quinasa 3) y CK1 (*casein kinasa-1*). Este complejo facilita la fosforilación y degradación por ubiquitinación de la β -catenina. En presencia del ligando Wnt, este complejo se disocia conduciendo a una acumulación de β -catenina en el citoplasma celular y posterior translocación dentro del núcleo, donde se inicia la transcripción de genes diana (p. ej., Runx-2 y osterix) requeridos para la osteoblastogénesis⁶.

La actividad de Wnt es modulada por proteínas que interactúan con Wnt o con sus receptores. Entre las primeras se encuentra el factor inhibidor de Wnt (WIF-1), secretado por proteínas relacionadas Fzd, mientras que los antagonistas de LRP5/6 son Scl y Dickkopf1 (DKK-1), entre otros⁷. Scl es el producto del gen SOST, preferencialmente expresado por los osteocitos, en respuesta al estrés mecánico, que se une al correceptor LRP5/6 e inhibe la osteoblastogénesis, activa la osteoclastogénesis y favorece la pérdida de masa ósea. Por el contrario, la inactivación de SOST causa un incremento del número de OB y favorece la formación ósea y las propiedades biomecánicas del hueso.

Por último, la hormona paratiroides (PTH) estimula la formación ósea a través de factores de crecimiento, como el factor similar a la insulina y

el factor de crecimiento transformante β (TGF- β), incrementando la síntesis de colágeno a través de la estimulación de la replicación de los OB y la síntesis de ARNm del procolágeno de tipo 1⁸.

NUEVOS AGENTES ANABÓLICOS PARA EL TRATAMIENTO DE LA OSTEOPOROSIS

Péptidos de PTH

Abaloparatida

La abaloparatida (ABL) es un agonista del péptido relacionado con PTH (PTHrP) que ejerce su efecto sobre el receptor PTH-1 (PTHr1), produciendo una respuesta anabólica sobre el hueso y un modesto efecto estimulador de la resorción ósea en comparación con la teriparatida (PTH [1-34] recombinante humana, TTPD), primer agente anabólico aprobado para el tratamiento de la osteoporosis que presenta un mayor efecto sobre la resorción ósea. ABL es una molécula constituida por 34 aminoácidos, la cual comparte un 76% y un 41% de similitud con PTHrP 1-34 y PTH1-34, respectivamente⁹.

Se especula que los mecanismos involucrados en la respuesta anabólica observada con ABL son: la interacción con el PTHR1, en el que se distinguen dos configuraciones conformacionales (R0 y RG). La afinidad por la conformación R0 determina una respuesta catabólica, mientras que la interacción con RG produce una respuesta anabólica. Tanto TTPD como ABL exhiben mayor afinidad por RG que por R0, pero la diferencia entre ambas moléculas reside en la afinidad relativa que muestran por RG: ABL es 1600 veces más afín a PTHR-1-RG y TTPD es tres veces más afín¹⁰. Otro mecanismo propuesto es la tasa de producción de AMPc. Una persistencia en la producción de AMPc tiene como respuesta una mayor respuesta catabólica¹¹. Contrariamente, un aumento transitorio sobre la producción de AMPc, como el producido por ABL, se asocia con menor efecto catabólico. Estos son dos mecanismos propuestos para explicar el mayor efecto anabólico de ABL en comparación con TTPD; sin embargo, se requieren futuros estudios que respalden ambas hipótesis.

Por último, una de las características que presentan los medicamentos anabólicos es que en los primeros meses de tratamiento se observa un incremento de los marcadores de formación seguido por un incremento de los marcadores de resorción. Esta secuencia establecida en el tiempo

se denomina ventana anabólica, que es el período de mayor respuesta anabólica alcanzada por un agente anabólico. A la luz de los conocimientos actuales, la ventana anabólica de ABL sería comparativamente mayor que la de TTPD¹².

Efecto de ABL sobre el hueso: ABL fue aprobado por la FDA en abril de 2017 para el tratamiento de la osteoporosis en mujeres con alto riesgo de fracturas. La aprobación se basó en los resultados del estudio ACTIVE (*Abaloparatide Comparator Trial in Vertebral Endpoints*), internacional, aleatorizado, controlado con placebo y grupo de control activo que incluyó a mujeres posmenopáusicas ($n = 2463$; edad promedio 69 años; rango: 49 a 86), asignadas para recibir diariamente por vía subcutánea ABL 80 μg , TTPD 20 μg y placebo administrado por 18 meses. El 24% de las participantes tenían al menos una fractura vertebral, mientras que el 48% presentaban al menos una fractura no vertebral en el momento del ingreso en el estudio¹³.

La reducción del riesgo relativo (RR) para el desarrollo de nuevas fracturas vertebrales y no vertebrales fue de 86% y 43% respectivamente para ABL en comparación con el placebo ($p < 0,001$), mientras que con TTPD fue de 80% y 28% respectivamente, sin observar diferencias estadísticamente significativas entre ABL y TTPD.

El efecto de ABL sobre la densidad mineral ósea (DMO) fue evaluado en un estudio multicéntrico, multinacional, doble ciego, controlado con placebo, que incluyó a 22 mujeres posmenopáusicas libres de tratamiento, aleatorizadas para recibir ABL 20 μg , 40 μg y 80 μg , TTPD 20 μg o placebo por 24 semanas. Al final del estudio se observó que el incremento de la DMO de la columna lumbar fue dependiente de la dosis ($2,9 \pm 2,6\%$; $5,2 \pm 4,5\%$ y $6,7 \pm 4,2\%$ con 20 μg , 40 μg y 80 μg respectivamente; $p < 0,001$ vs. placebo), sin presentar diferencias estadísticamente significativas entre ABL y TTPD. Por el contrario, la DMO del fémur total mostró un incremento significativo con ABL 40 μg y 80 μg comparado con TTPD ($p < 0,047$ y $p < 0,006$ respectivamente), mientras que 80 μg de ABL fue más eficaz en aumentar la DMO del fémur total que el placebo ($p < 0,007$). Este estudio demostró que ABL presenta mayor efecto anabólico sobre el hueso cortical (fémur total) en comparación con TTPD¹⁴.

Aunque ABL se considera un agente anabólico, las biopsias óseas obtenidas a los 12 y 18 meses de

la administración de ABL 80 µg/día no exhibieron por histomorfometría ningún aumento en los parámetros de formación ósea, a diferencia de TTPD¹⁵. La causa de estos hallazgos aún no está clara.

La discontinuación de ABL conduce a la pérdida de masa ósea, por lo que debe continuarse con un agente antirresortivo. El estudio ACTIVE evaluó la eficacia y seguridad de ABL o del placebo administrado por 18 meses y luego continuado con alendronato (ALN) 70 mg/semanal por 24 meses. La reducción del RR se mantuvo para fracturas vertebrales (-87%) y para fracturas no vertebrales (-52%) en el grupo ABL/ALN, acompañado por un incremento de la DMO de la columna lumbar (+12,8%) y del fémur total (+5-5%)¹⁶.

Los efectos adversos observados con mayor frecuencia con ABL son náuseas (8%), taquicardia (5%) e hipercalcemia (11%). Como se desconoce si la administración de ABL incrementa el riesgo de osteosarcoma en los seres humanos, su uso está limitado a 2 años por razones de seguridad.

Por último, ABL fue aprobado por la FDA para el tratamiento de la osteoporosis en mujeres posmenopáusicas con alto riesgo de fractura estimado por antecedentes personales de fracturas previas, múltiples factores de riesgo de fractura, pacientes que no fueron respondedoras o intolerancia a otros tratamientos contra la osteoporosis. Se contraindica el uso de ABL en aquellos individuos con un riesgo aumentado de desarrollar osteosarcoma, enfermedad de Paget, aumento de la fosfatasa alcalina, esqueleto en crecimiento, metástasis óseas y antecedente de haber recibido radiación como tratamiento de patologías específicas. Además, el uso de ABL no se recomienda en los pacientes que hayan sido previamente usuarios de otros análogos de PTH por 2 años.

INHIBIDOR DE LA ESCLEROTINA: ROMOSUZUMAB

La identificación de Scl como factor inhibidor de la formación ósea se atribuye al estudio de dos enfermedades autosómicas recesivas cuyo denominador común es el incremento de la masa ósea. La esclerostosis es una enfermedad producida por una mutación inactivante del gen SOST responsable de codificar Scl, produciendo un importante incremento de la masa ósea. Clínicamente se manifiesta con un crecimiento óseo exagerado durante la infancia, prominencia frontal, compresión de los pares craneales e

hipertrofia mandibular. En cambio, la enfermedad de Van Buchem se produce por delección de un gen requerido para la normal transcripción del gen SOST, que se manifiesta clínicamente como una hiperostosis craneotubular¹⁷.

El romosozumab es un anticuerpo monoclonal humanizado inhibidor de Scl. En la actualidad, se lo considera un agente terapéutico con efecto dual: por un lado, favorece la formación ósea por inhibición de Scl y, por otro, promueve la inhibición de la resorción ósea por incremento de los niveles de osteoprotegerina (OPG)¹⁸.

Efecto del romosozumab sobre el hueso

El romosozumab fue aprobado hace poco por la FDA para el tratamiento de la osteoporosis en mujeres posmenopáusicas con alto riesgo de fracturas. Entre los estudios que contribuyeron a su aprobación se encuentra el FRAME (*Fracture Study in Postmenopausal Women with Osteoporosis*), un estudio internacional aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo, de grupos paralelos. Las pacientes fueron asignadas para recibir romosozumab 210 mg por vía subcutánea mensual por 12 meses y grupo placebo (doble ciego) seguido por denosumab 60 mg por la misma vía cada 6 meses por 12 meses¹⁹.

Se incluyeron 7180 mujeres posmenopáusicas con una edad promedio de 70,9 años (rango: 50 a 90 años), de las cuales el 18,3% tenían antecedentes de fracturas vertebrales y el 21,7% de fracturas no vertebrales. Se observó una reducción del 73% de nuevas fracturas vertebrales y 36% de fracturas clínicas a los 12 meses de recibir romosozumab. Sin embargo, no se observó una reducción de la incidencia de nuevas fracturas no vertebrales. A los 24 meses aquellas que recibieron romosozumab-denosumab mostraron una reducción del 75% en la incidencia de nuevas fracturas vertebrales, sin reducción significativa de las fracturas no vertebrales.

El fármaco también mejoró significativamente la DMO de la columna lumbar, con un incremento del 13,3% a los 12 meses y del 17,6% a los 24 meses, mientras que en el fémur total se observó un aumento del 6,8% a los 12 meses y del 8,8% a los 24 meses.

En cuanto a los marcadores de remodelación, se observó con el romosozumab un incremento del P1NP (propéptido aminoterminal del colágeno de tipo 1), marcador de formación, en el día 14, que retornó a sus niveles basales al noveno mes

de su aplicación. En oposición, los niveles séricos de crosslaps (CTX), marcador de resorción ósea, disminuyeron el día 14, manteniéndose en valores por debajo de los basales hasta 12 meses después de su aplicación. Por ello, el romosozumab se considera un agente terapéutico con efecto dual, ya que promueve la formación ósea e inhibe la resorción ósea.

Está indicado en el tratamiento de la osteoporosis en mujeres posmenopáusicas con alto riesgo de fracturas, definida como antecedentes de fractura por osteoporosis, con diversos factores de riesgo de fracturas o en pacientes que no obtuvieron buenos resultados clínicos con otros tratamientos contra la osteoporosis. El efecto anabólico del romosozumab se reduce después de 12 dosis, cada una de ellas administrada mensualmente, por lo que su uso debe limitarse a ese tiempo. Después de su discontinuación, el tratamiento debe seguirse con un agente antirresortivo.

El estudio ARCH (*Active-Controlled Fracture Study in Postmenopausal Women with Osteoporosis at High Risk*) evaluó la eficacia para reducir la tasa de fracturas en mujeres posmenopáusicas con osteoporosis o fracturas previas, de un esquema de tratamiento secuencial que se inicia con romosozumab por 12 meses y posteriormente seguido con alendronato 70 mg/semanal por 24 meses *vs.* alendronato solo por 36 meses. En la rama de romosozumab-alendronato se observó una reducción del riesgo de nuevas fracturas vertebrales (-48%) y no vertebrales (-19%) estadísticamente significativa en comparación con la rama de alendronato solo ($p < 0,001$)²⁰.

El uso de romosozumab puede aumentar el riesgo de infarto de miocardio (IM) y accidente cerebrovascular (ACV), por lo cual se recomienda no administrarlo en los pacientes que hayan tenido estos antecedentes cardiovasculares el año anterior de iniciar el tratamiento, además de considerar si los beneficios superan los riesgos en los pacientes con otros factores de riesgo cardiovascular. Si el paciente sufre un IM o un ACV durante el tratamiento, se debe suspender la administración de romosozumab.

TRATAMIENTO SECUENCIAL

El tratamiento de la osteoporosis presenta una serie de desafíos en el momento de elegir un esquema terapéutico. Tal vez el más importante es establecer el tiempo de administración de una medicación activa para el hueso. Una serie

de preguntas deberían ser formuladas en el momento de selección de la medicación: ¿cuál es el medicamento que mantiene a largo plazo su eficacia para prevenir fracturas por fragilidad ósea?, ¿cómo se alcanza la persistencia de su eficacia anti-fractura una vez suspendido? y ¿cómo influye el tiempo de su administración en la aparición de reacciones secundarias infrecuentes (p. ej., fracturas atípicas)?

El uso de esquemas secuenciales cada vez es más frecuente debido al aumento de la expectativa de vida de la población, a que la osteoporosis es una enfermedad crónica y a las características farmacocinéticas de los nuevos agentes terapéuticos para el tratamiento de la osteoporosis. Dada la reversibilidad de los efectos sobre el hueso que presentan los anabólicos, está indicada la administración de un antirresortivo después de su discontinuación. Recientemente, el estudio DATA-Switch mostró que la administración de TTPD por 2 años seguida por denosumab por otros 2 años presentó un incremento adicional de la DMO de la columna lumbar del 9,4% (un total de +18,3% en 4 años) y un aumento adicional en la DMO del fémur total de 4,8% (un total de +6,6% en 4 años)²¹. De igual manera, la discontinuación de romosozumab seguido con alendronato y denosumab conserva la capacidad de incrementar la DMO y mantener el efecto anti-fractura^{16,21}.

En la práctica clínica es frecuente observar a pacientes usuarias de bisfosfonatos por un tiempo prolongado. Debido a la prolongada vida media que tienen los bisfosfonatos sobre el hueso, la respuesta a un anabólico podría estar condicionada por la exposición a este, en especial los análogos de PTH, cuyo mecanismo de acción es parcialmente dependiente de la estimulación de la resorción ósea. Por último, hay evidencia de que la transición de denosumab a análogos de PTH debería evitarse porque acelera la remodelación ósea y favorece la pérdida de masa ósea, en especial en el fémur total²².

CONCLUSIONES

Los avances en el conocimiento de los eventos celulares y las vías de señalización que contribuyen a la diferenciación del linaje de los OB han permitido desarrollar nuevos agentes terapéuticos anabólicos, eficaces y seguros para prevenir las fracturas por fragilidad ósea (Tabla 1). Por las características farmacocinéticas de estos, cuando se interrumpe su administración el paciente debe seguir con un tratamiento antirresortivo para mantener la masa ósea alcanzada. A la luz de los conocimientos actuales, en los esquemas

	Abaloparatida	Romosozumab
Efecto sobre el hueso	Anabólico	Dual: anabólico/anti-resorptivo
Mecanismo de acción	Agonista PTHR1 (RG)	Inhibidor de la esclerotina
Dosis y vía de administración	80 µg/día s.c.	210 mg/mensual s.c.
Duración del tratamiento	24 meses	12 meses
Efecto sobre DMO de columna	+11,2 %*	+13,3%# / +15,2 % [£]
Fracturas vertebrales	-86%* (RR: 0,14; IC 95%: 0,05 a 0,39)	-73% (RR: 0,27; IC 95%: 0,16 a 0,47)# -48% (RR: 0,52; IC 95%: 0,40 a 0,66) [£]

Tabla 1: Características farmacológicas de la abaloparatida y el romosozumab: efectos sobre la densidad mineral ósea (DMO) e incidencia de nuevas fracturas vertebrales. Estudio ACTIVE* (ref. 13); estudio FRAME# (ref. 19); estudio ARCH[£] (ref. 20).

secuenciales para el tratamiento de la osteoporosis parecería que el orden de la administración de un anabólico seguido por un anticatabólico permitiría seguir incrementado la DMO, siendo aún controvertida su eficacia antifractura.

*Ambos medicamentos no se comercializan aún en nuestro medio. Tampoco han sido aprobados todavía para su uso por la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT).

REFERENCIAS

- Anonymous 1993 Consensus development conference: Diagnosis, prophylaxis and treatment of osteoporosis. *Am J Med* 1993;94:646-50.
- Riggs BL, Parfitt AM. Drugs used to treat osteoporosis: The critical need for a uniform nomenclature based on their action on bone remodeling. *J Bone Min Reser* 2004;20:177-84.
- Johnell O, Kanis JA. An estimate of the worldwide prevalence and disability associated with osteoporotic fractures. *Osteoporosis Int* 2006;17:1726-33.
- Frost HM. Dynamics of bone remodeling. En: *Bone Biodynamics*. Boston: Little and Brown; 1964.
- Dallas SI, Prideaux M, Bonewald LE. The osteocyte: An endocrine cell... and more. *Endocr Rev* 2013;34:658-90.
- Canalis E. Novel anabolic treatments for osteoporosis. *Eur J Endocrinol* 2018;178:R33-R44.
- Gorter DJJ, Dijke PT. Signal transduction cascades controlling osteoblast differentiation. En: Rosen CJ, ed. *Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism*. 8th ed.; 2013, pp. 15-24.
- Dempster DW, Cosman F, Parisien M, Shen V. Anabolic actions of parathyroid hormone on bone. *Endocrine Reviews* 1993;14:690-9.
- Tella SH, Kommalapati A, Correa R. Profile of abaloparatide and its potential in the treatment of postmenopausal osteoporosis. *Cureus* 2017;9:e1300.
- Hattersley G, Dean T, Corbin BA, Bahar H, Gardella TJ. Binding selectivity of abaloparatide for PTH-type-1-receptor conformations and effects on downstream signaling. *Endocrinology* 2016;157:141-9.
- Ferrandon S, Feinstein TN, Castro M, Wang B, Bouley R, Potts JT, et al. Sustained cyclic AMP production by parathyroid hormone receptor endocytosis. *Nat Chem Biol* 2009;5:734-42.
- Tabacco G, Bilezikian JP. Osteoanabolic and dual action drugs. *Br J Clin Pharmacol* 2018. doi: 10.1111/bcp.13766.
- Miller PD, Hattersley G, Riis BJ, Williams GC, Lau E, Russo LA, et al. Effect of abaloparatide vs placebo on new vertebral fractures in postmenopausal women with osteoporosis: A randomized clinical trial. *JAMA* 2016;16:722-33.
- Leder BZ, O'Dea LS, Zanchetta JR, Kumar P, Banks K, McKay K, et al. Effects of abaloparatide, a human parathyroid hormone-related peptide analog on bone mineral density in postmenopausal women with osteoporosis. *J Clin Endocrinol Metab* 2015;100:697-706.
- Moreira CA, Fitzpatrick LA, Wang Y, Recker RR. Effects of abaloparatide-SC (BA058) on bone histology and histomorphometry: the ACTIVE phase 3 trial. *Bone* 2017;97:314-9.
- Cosman F, Miller PD, Williams GC, Hattersley G, Hu M, Valter I, et al. Eighteen months of treatment with subcutaneous abaloparatide followed by 6 months of treatment with alendronate in postmenopausal women with osteoporosis: results of the ACTIVEExtend trial. *Mayo Clin Proc* 2017;92:200-10.
- McClung MR. Romosozumab for treatment of osteoporosis. *Osteoporos Sarcopenia* 2018;4:11-5.
- Sølling ASK, Harsløf T, Langdahl B. The clinical potential of romosozumab for the prevention of fractures in postmenopausal women with osteoporosis. *The Adv Musculoskelet Dis* 2018;10:105-15.
- Cosman F, Crittenden DB, Adachi JD, Binkley N, Czerwinski E, Ferrari S, et al. Romosozumab treatment in postmenopausal women with osteoporosis. *N Engl J Med* 2016;375:1532-43.
- Saag KG, Petersen J, Brandi ML, Karaplis AC, Lorentzon M, Thomas T, et al. Romosozumab or alendronate for fracture prevention in women with osteoporosis. *N. Engl J Med* 2017;377:1417-27.
- Leder BZ, Tsai JN, Uihlein AV, Waillace PM, Lee Hang, Neer RM, Burnett-Bowie SAM. Denosumab and teriparatide transitions in postmenopausal osteoporosis (the DATA-Switch study): extension of a randomized controlled trial. *Lancet* 2015;384:1147-55.
- Leder B. Optimizing sequential and combined anabolic and antiresorptive osteoporosis therapy. *JBMR Plus* 2018;2:62-8.
- Rachner TD, Hofbauer LC, Gobel A, Tsourdi E. Novel therapies in osteoporosis: PTH-related peptide analogs and inhibitors of sclerostin. *J Mol Endocr* 2019;62:R145-R154.

Transmisión sexual del virus del Zika, un nuevo paradigma

Sexual transmission of Zika virus, a new paradigm

Ana Paletta*, Augusto Varese*, Facundo Di Diego García, Luciana Castillo, Gonzalo Cabrerizo, Federico Remes Lenicov y Ana Ceballos

Instituto de Investigaciones Biomédicas en Retrovirus y Sida, UBA-CONICET

*Contribuciones equivalentes.

Contacto de la autora: Ana Ceballos

E-mail: aceballo@fmed.uba.ar

Correspondencia: Paraguay 2155, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

Recibido: 1/6/2019 Aceptado: 19/7/2019

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

Resumen

La epidemia actual del virus del Zika (ZIKV) impone un notable desafío a la salud de la población y al mundo médico y científico. En primer lugar, por las graves manifestaciones clínicas que induce en el feto y el neonato y también por las complicaciones neurológicas que promueve en los individuos adultos. En segundo lugar, el virus ha demostrado transmitirse por vía sexual desafiando el paradigma de las interacciones arbovirus-huésped. El semen es el principal vector de la transmisión sexual del ZIKV; sin embargo, es mucho más que un mero reservorio y vehículo del virus. Este puede modular las etapas tempranas de la infección viral y podría, además, impactar en la respuesta inmune específica contra el ZIKV. En la presente revisión describiremos los hallazgos que sustentan y explican esta vía de transmisión, así como las recomendaciones para prevenirla. El conocimiento sobre los mecanismos de la infección por el ZIKV y su impacto en el aparato reproductor tanto femenino como masculino es de gran utilidad para la implementación de políticas de salud pública que contribuyan a una mayor eficacia diagnóstica y a limitar la transmisión sexual del ZIKV, como también al desarrollo de vacunas que provean inmunidad al aparato reproductor femenino.

Palabras clave: Infección viral, semen, aparato reproductor femenino, complicaciones fetales/neonatales

Revista de la Sociedad Argentina de Endocrinología Ginecológica y Reproductiva 2019; Vol. XXVI N° 2 Julio - diciembre de 2019: 97-101

Abstract

The current Zika virus (ZIKV) epidemic is a major challenge for the medical and scientific communities for at least two reasons: the severe clinical situation associated with Zika virus infection (neurological complications and adverse fetal outcomes) and the unexpected sexual viral transmission from men to women. These recent findings have shifted the paradigm of arbovirus-host interactions. Semen is the main vector of sexual transmission of ZIKV, however it is much more than a mere reservoir and vehicle of the virus. Semen can modulate the early stages of viral infection and could also impact on the specific immune response against ZIKV. In this review, we will describe the findings that support and explain sexual transmission of ZIKV, as well as the recommendations to prevent it. Knowledge about the mechanisms of ZIKV infection and its impact on the reproductive tract, both female and male, is very useful for the implementation of public health policies that contribute to diagnostic efficiency and limit the sexual transmission of ZIKV, as well as the development of vaccines that provide immunity in the female reproductive tract.

Key words: Viral infection, semen, female reproductive tract, fetal/neonatal complications

Revista de la Sociedad Argentina de Endocrinología Ginecológica y Reproductiva 2019; Vol. XXVI N° 2 Julio - diciembre de 2019: 97-101

INTRODUCCIÓN

La epidemia actual del virus del Zika (ZIKV) impone un notable desafío a la salud de la población y al mundo médico y científico. En primer lugar, por las graves manifestaciones clínicas que induce en el feto y el neonato (microcefalia, restricción del crecimiento intrauterino y otras malformaciones congénitas) y, también, por las complicaciones neurológicas que promueve en los individuos adultos¹⁻⁸. El ZIKV es un flavivirus emergente que en los últimos años se ha manifestado en las Islas del Pacífico (2007), en Oceanía (2013) y, recientemente, en las Américas (2015). Se transmite a través de mosquitos del género *Aedes*, pero a diferencia de otros flavivirus, también se transmite por vía sexual⁹⁻¹⁷, observación que ha desafiado el paradigma de las interacciones arbovirus-huésped.

Mientras que la transmisión del ZIKV a través del mosquito *Aedes aegypti* representa un fenómeno que ha sido analizado con rigurosidad, es muy poco lo que conocemos en relación con los mecanismos responsables de la transmisión sexual del virus. Hasta el momento, se describieron múltiples casos de transmisión sexual en seres humanos. La mayoría de los informes publicados involucran la transmisión de hombres a mujeres⁹⁻¹⁵; sin embargo, también se han informado casos de transmisión sexual de hombre a hombre¹⁶ y, más recientemente, de mujer a hombre¹⁷.

En el presente trabajo revisaremos los hallazgos que fundamentan la transmisión sexual del ZIKV y las recomendaciones para prevenirla. Asimismo, describiremos el impacto en la transmisión viral de la madre al hijo.

El semen, mucho más que un vehículo del virus

Una observación particularmente relevante respecto de la transmisión sexual del ZIKV guarda relación con las altas cargas virales que se encuentran en el semen (sustancialmente mayores respecto de las encontradas en el plasma y la orina) y su persistencia en el tiempo, con valores detectables hasta después de 6 meses de contraída la infección^{18,19}. Asimismo, el virus aislado del semen ha mostrado ser infectivo²⁰. El semen contiene dos potenciales fuentes de virus infeccioso: viriones libres y viriones asociados a células, particularmente se ha detectado el virus en la cabeza de los espermatozoides¹³. Sin embargo, el papel de cada uno de ellos en la transmisión sexual del ZIKV no ha sido aún analizado con rigurosidad. En el modelo murino se observó que las células de Leydig, las células de Sertoli y las células germinales de los testículos son el blanco del ZIKV. El virus causa daño en los testículos y conduce a la infertilidad en los ratones infectados²¹. En los seres humanos, Matusali et al. infectaron explantes de tejido testicular de donantes sanos y mostraron que el ZIKV se replica y produce infecciones en los testículos. Encontraron evidencia de infección en una amplia gama de tipos de células testiculares, incluidos los macrófagos residentes y las células germinales²².

Actualmente, continúa siendo escaso el conocimiento sobre cómo la infección por ZIKV afecta la fertilidad de los varones que han estado expuestos al virus. En un estudio observacional prospectivo, Joguet et al.²³ estudiaron a 15 voluntarios varones (media de edad 35 años) con infección aguda por ZIKV y detección positiva de ARN de ZIKV en la sangre o la orina. Se recogieron sangre, orina y semen los días 7, 11, 20, 30, 60, 90 y 120 después del inicio de los síntomas y se evaluaron las características del semen (recuento total de espermatozoides, motilidad de los espermatozoides, vitalidad y morfología) y las concentraciones de hormonas reproductivas (testosterona, inhibina, hormona foliculoestimulante y hormona luteinizante). Los autores demostraron que el recuento total de espermatozoides disminuyó de una mediana de 119×10^6 espermatozoides en el día 7 a $45,2 \times 10^6$ en el día 30 y 86×10^6 en el día 120 después de la infección por el ZIKV. Los valores de inhibina aumentaron de 93,5 pg/ml (55-162) el día 7 a 150 pg/ml (78-209) el día 120 cuando se recuperó el recuento total de espermatozoides²³. Tomados en conjunto, estos hallazgos demuestran

efectos nocivos del ZIKV en la producción de espermatozoides humanos. Los autores concluyeron que las alteraciones del semen que ocurren temprano después de la infección aguda por ZIKV afectarían la fertilidad y podría explicarse por los efectos del virus en los testículos y el epidídimo²³.

Si bien se ha demostrado que el semen puede transmitir la infección por ZIKV, los mecanismos involucrados no han sido aún caracterizados. Al respecto, es importante destacar que el semen no actúa solo como vehículo de la infección. Por el contrario, tiene la capacidad de mediar importantes acciones capaces de afectar en alto grado las etapas tempranas de la infección viral. Recientemente, se ha demostrado que el plasma seminal puede inhibir la infección por ZIKV en células del aparato genital femenino²⁴. Las observaciones previas realizadas por nuestro grupo de trabajo en relación con la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (HIV) mostraron que los espermatozoides unen partículas virales y transmiten la infección a células dendríticas con notable eficacia²⁵. Este mecanismo podría ser de relevancia en la transmisión del ZIKV, dado que se describió la presencia del virus en la cabeza de los espermatozoides y las células dendríticas son blanco de la infección.

¿Es posible que el virus presente en el semen luego de ser depositado en el aparato genital femenino pueda conducir a la infección fetal y al síndrome congénito?

Los estudios en animales sugieren que la transmisión sexual del ZIKV durante el embarazo podría presentar un mayor riesgo de adquirir la infección por el feto que la transmitida por los mosquitos. Tanto en hembras Rhesus macacos como en ratones, la inoculación vaginal del ZIKV incrementó la diseminación viral en el aparato reproductor femenino, en comparación con la inoculación subcutánea^{26,27}. En modelos murinos, el grupo de Iwasaki demostró que el ZIKV puede infectar productivamente la mucosa vaginal en el ratón inmunocompetente²⁸. Por otro lado, en ratones que muestran compromiso en su respuesta a IFN-I (ifnar1-/-) se observó una alta frecuencia en la transmisión de macho a hembra, con una marcada persistencia de la carga viral en el semen²⁹. El mismo grupo demostró que la transmisión sexual de la infección conduce a la infección fetal y al desarrollo de microcefalia²⁸. En los seres humanos, se describió el caso de una mujer sin antecedentes de viaje a

un área con transmisión local de Zika que quedó embarazada por transferencia de embriones congelados. Su esposo viajó a Haití varias veces antes de la transferencia de embriones y durante el embarazo. En el momento del parto, la circunferencia de la cabeza del bebé medía menos que el primer percentil. Las muestras placentarias se enviaron a los CDC y todas fueron positivas para el ARN de ZIKV por RT-PCR. La evaluación de otras causas de microcefalia fue negativa. De acuerdo con los parámetros de diagnóstico más actualizados para el Zika congénito, incluida la infección viral de la placenta, el bebé fue diagnosticado con síndrome de Zika congénito³⁰.

Estas observaciones sugieren fuertemente que la prevención de la transmisión sexual del ZIKV durante el embarazo puede reducir el riesgo de infección materna y la posibilidad del síndrome de Zika congénito.

Actualmente, el riesgo de síndrome de Zika congénito asociado con la infección materna por el ZIKV durante el período cercano a la concepción se desconoce. La infección materna con otros virus (p. ej., rubéola) durante este período se ha asociado con infección en el feto y alteraciones en su morfología y desarrollo^{31,32}. Sin embargo, hasta la fecha no hay datos publicados que asocien la infección por ZIKV en el momento de la concepción con los resultados adversos observados durante el embarazo.

Persistencia del ZIKV en el semen

Es importante destacar que el aparato genital masculino podría albergar reservorios persistentes de ZIKV que facilitarían la transmisión viral durante períodos prolongados a huéspedes no infectados. Entre los informes actuales de transmisión sexual del ZIKV, el período más largo desde el inicio de los síntomas en el caso índice hasta la posible transmisión sexual a una pareja fue de entre 32 y 41 días³³. La mayoría de los informes indican intervalos mucho más cortos³⁴. El período más largo después del inicio de los síntomas en el que se detectó el virus en semen potencialmente infeccioso (mediante cultivo) fue de 69 días³⁵.

En el estudio de cohorte más grande publicado hasta la fecha, en el que participaron 184 hombres con infección sintomática confirmada por ZIKV, de quienes se recolectó una muestra de referencia y muestras de semen en serie de intervalos de 2 semanas, la detección de ARN viral en el semen disminuyó durante los 3 meses posteriores al ini-

cio de los síntomas³⁶. En general, se detectó ARN de ZIKV en el semen en el 61% (22 de 36), 43% (48 de 112) y 21% (28 de 131) de los participantes de quienes se recolectaron muestras dentro de los 30, 31-60 y 61-90 días de inicio de la enfermedad, respectivamente. A más de 90 días después del inicio de la enfermedad, menos del 7% de los participantes tenían ARN viral detectable. El tiempo medio estimado para la eliminación del ARN del ZIKV del semen fue de 54 días³⁶. Otro gran estudio de cohorte realizado en Puerto Rico estudió a 117 hombres, 89 de los cuales proporcionaron muestras de semen e informaron resultados similares, el 11% (8 de 74) de los hombres tenían ARN viral detectable en el semen a los 90 días o más después del inicio de la enfermedad³⁷. Se observaron hallazgos similares en estudios de cohortes más pequeños^{23,37-39}, ARN de ZIKV se detectó en el semen durante 370 días después del inicio de los síntomas³⁸; sin embargo, la detección por largos períodos es rara. Cabe destacar, aunque los datos son limitados, que la incidencia de ARN viral en el semen y su persistencia después de la infección son similares tanto en individuos sintomáticos como asintomáticos⁴⁰⁻⁴².

Prevención de la transmisión sexual del ZIKV

Los CDC, en su guía publicada en octubre de 2016, recomiendan que los hombres con posible exposición al ZIKV esperen al menos 6 meses después del inicio de los síntomas (si son sintomáticos) o su última posible exposición al virus (si son asintomáticos) antes de intentar concebir con su pareja³, apoyándose en la máxima persistencia del virus en el semen⁴³. Sin embargo, los nuevos datos publicados respaldan una actualización de esa guía provisional⁴⁴. Los CDC actualmente recomiendan que los hombres con posible exposición al ZIKV que planean concebir con su pareja esperen al menos 3 meses después del inicio de los síntomas (si son sintomáticos) o de su última posible exposición al virus (si son asintomáticos) antes de tener relaciones sexuales sin protección. Además, recomiendan que para las parejas que no están tratando de concebir, los hombres puedan considerar el uso de condones o abstenerse de tener relaciones sexuales durante al menos 3 meses después del inicio de los síntomas (si son sintomáticos) o de su última posible exposición al virus (si son asintomáticos) para reducir el riesgo de la transmisión sexual del ZIKV⁴⁴. Las recomen-

daciones para hombres con posible exposición al virus cuya pareja está embarazada permanecen sin cambios; se debe aconsejar a estas parejas que usen condones de manera constante y correcta durante las relaciones sexuales o que se abstengan de tenerlas durante el embarazo⁴⁴.

Asimismo, los CDC recomiendan que la decisión sobre los plazos de espera después de una posible exposición al ZIKV se tome de manera compartida entre la pareja y los médicos antes de intentar concebir. Estos plazos podrían variar teniendo en cuenta la edad, la fertilidad o los detalles de la posible exposición⁴⁴.

CONCLUSIONES

Tomadas en conjunto, las observaciones descriptas en este trabajo muestran la importancia de la prevención de la transmisión sexual del ZIKV y del asesoramiento previo a la concepción.

El semen no actúa solo como vehículo de la infección; por el contrario, puede mediar importantes acciones inmunorreguladoras capaces de afectar en alto grado las etapas tempranas de la infección viral. El semen podría, además, afectar el curso de la respuesta inmune anti-ZIKV, como también las respuestas obtenidas a partir de la vacunación, extendiendo de esta manera el interés de la temática al campo de la inmunoprofilaxis, en especial el desarrollo de vacunas que provean inmunidad al aparato reproductor femenino.

Si bien el conocimiento sobre los mecanismos de la infección por el ZIKV y su impacto en el aparato reproductor tanto femenino como masculino es aún incompleto, estos hallazgos tienen implicaciones en la planificación de las políticas de salud pública que contribuyan a una mayor eficacia diagnóstica y a limitar la transmisión sexual del ZIKV, así como a la orientación de los pacientes y parejas infectados por el virus que desean concebir.

REFERENCIAS

1. Rasmussen SA, et al. Zika Virus and Birth Defects—Reviewing the Evidence for Causality. *N Engl J Med* 2016;374(20):1981-7.
2. Brasil P, et al. Exanthema associated with Zika virus infection. *Lancet Infect Dis* 2016;16(7):866.
3. Brasil P, et al. Guillain-Barre syndrome associated with Zika virus infection. *Lancet* 2016;387(10026):1482.
4. Honein MA, et al. Birth Defects Among Fetuses and Infants of US Women With Evidence of Possible Zika Virus Infection During Pregnancy. *JAMA* 2017;317(1):59-68.
5. Johansson MA, et al. Zika and the Risk of Microcephaly. *N Engl J Med* 2016;375(1):1-4.

6. Parra B, et al. Guillain-Barre Syndrome Associated with Zika Virus Infection in Colombia. *N Engl J Med* 2016;375(16):1513-23.
7. Soares CN, et al. Fatal encephalitis associated with Zika virus infection in an adult. *Journal of clinical virology: the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology* 2016;83:63-5.
8. Mlakar J, et al. Zika Virus Associated with Microcephaly. *N Engl J Med* 2016;374(10):951-8.
9. Petersen LR, Jamieson DJ, Honein MA. Zika Virus. *N Engl J Med* 2016;375:294-5.
10. Foy BD, Kobylinski KC, Chilson Foy JL, Blitvich BJ, Traversos da Rosa A, Haddock AD, et al. Probable non-vector-borne transmission of Zika virus, Colorado, USA. *Emerg Infect Dis* 2011;17(5):880-2.
11. Hills SL, Russell K, Hennessey M, Williams C, Oster AM, Fischer M, et al. Transmission of Zika Virus Through Sexual Contact with Travelers to Areas of Ongoing Transmission - Continental United States, 2016. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2016;65(8):215-6.
12. Stower H. Zika virus shedding in semen. *Nat Med* 2018;24(6):702.
13. Mansuy JM, Suberbielle E, Chapuy-Regaud S, Mengelle C, Bujan L, Marchou B, et al. Zika virus in semen and spermatozoa. *Lancet Infect Dis* 2016;16(10):1106-7.
14. Rowland A, Washington CI, Sheffield JS, Pardo-Villamizar CA, Segars JH. Zika virus infection in semen: a call to action and research. *J Assist Reprod Genet* 2016;33(4):435-7.
15. Venturi G, Zammarchi L, Fortuna C, Remoli ME, Benedetti E, Fiorentini C, et al. An autochthonous case of Zika due to possible sexual transmission, Florence, Italy, 2014. *Euro Surveill* 2016;21(8):30148.
16. Deckard DT, Chung WM, Brooks JT, Smith JC, Woldai S, Hennessey M, et al. Male-to-Male Sexual Transmission of Zika Virus-Texas, January 2016. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2016;65(14):372-4.
17. Davidson A, Slavinski S, Komoto K, Rakeman J, Weiss D. Suspected Female-to-Male Sexual Transmission of Zika Virus - New York City, 2016. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2016;65(28):716-7.
18. Paz-Bailey G, Rosenberg ES, Doyle K, Munoz-Jordan J, Santiago GA, Klein L, et al. Persistence of Zika Virus in Body Fluids - Preliminary Report. *N Engl J Med* 2017.
19. Mansuy JM, Pasquier C, Daudin M, Chapuy-Regaud S, Moinard N, Chevreau C, et al. Zika virus in semen of a patient returning from a non-epidemic area. *Lancet Infect Dis* 2016;16(8):894-5.
20. Mansuy JM, Dutertre M, Mengelle C, Fourcade C, Marchou B, Delobel P, et al. Zika virus: high infectious viral load in semen, a new sexually transmitted pathogen? *Lancet Infect Dis* 2016;16(4):405.
21. Ma W, Li S, Ma S, Jia L, Zhang F, Zhang Y, et al. Zika Virus Causes Testis Damage and Leads to Male Infertility in Mice. *Cell* 2017;168(3):542.
22. Matusali G, Houzet L, Satie AP, Mahé D, Aubry F, Couderc T, et al. Zika virus infects human testicular tissue and germ cells. *J Clin Invest* 2018;128(10):4697-710.
23. Joguet G, Mansuy JM, Matusali G, Hamdi S, Walschaerts M, Pavili L, et al. Effect of acute Zika virus infection on sperm and virus clearance in body fluids: a prospective observational study. *Lancet Infect Dis* 2017;17(11):1200-8.
24. Müller JA, Harms M, Krüger F, Groß R, Joas S, Hayn M. Semen inhibits Zika virus infection of cells and tissues from the anogenital region. *Nat Commun* 2018 Jun 7;9(1):2207.
25. Ceballos A, Remes Lenicov F, Sabatte J, Rodriguez Rodriguez C, Cabrini M, Jancic C, et al. Spermatozoa capture HIV-1 through

- heparan sulfate and efficiently transmit the virus to dendritic cells. *J Exp Med* 2009;206(12):2717-33.
26. Carroll T, Lo M, Lanteri M, Dutra J, Zarbock K, Silveira P, et al. Zika virus preferentially replicates in the female reproductive tract after vaginal inoculation of rhesus macaques. *PLoS Pathog* 2017;13(7):e1006537.
 27. Tang WW, Young MP, Mamidi A, Regla-Nava JA, Kim K, Shrestha S. A mouse model of Zika virus sexual transmission and vaginal viral replication. *Cell Rep* 2016;17(12):3091-8.
 28. Yockey LJ, et al. Vaginal Exposure to Zika Virus during Pregnancy Leads to Fetal Brain Infection. *Cell*. 2016;166(5):1247-56 e4.
 29. Duggal NK, et al. Frequent Zika Virus Sexual Transmission and Prolonged Viral RNA Shedding in an Immunodeficient Mouse Model. *Cell Rep* 2017;18(7):1751-60.
 30. Yarrington CD, Hamer DH, Kuohung W, Lee-Parriz A. Congenital Zika syndrome arising from sexual transmission of Zika virus, a case report. *Fertil Res Pract* 2019 Jan 3;5:1.
 31. Enders G, Nickerl-Pacher U, Miller E, Cradock-Watson JE. Outcome of confirmed periconceptional maternal rubella. *Lancet* 1988;331:1445-7.
 32. Picone O, Vauloup-Fellous C, Cordier AG, et al. A series of 238 cytomegalovirus primary infections during pregnancy: description and outcome. *Prenat Diagn* 2013;33:751-8.
 33. Turmel JM, Abgueuen P, Hubert B, et al. Late sexual transmission of Zika virus related to persistence in the semen. *Lancet* 2016;387:2501.
 34. Moreira J, Peixoto TM, Siqueira AM, Lamas CC. Sexually acquired Zika virus: a systematic review. *Clin Microbiol Infect* 2017;23:296-305.
 35. Arsuaga M, Bujalance SG, Díaz-Menéndez M, Vázquez A, Arribas JR. Probable sexual transmission of Zika virus from a vasectomized man. *Lancet Infect Dis* 2016;16:1107.
 36. Mead PS, Duggal NK, Hook SA, et al. Zika virus shedding in semen of symptomatic infected men. *N Engl J Med* 2018;378:1377-85.
 37. Paz-Bailey G, Rosenberg ES, Doyle K, et al. Persistence of Zika virus in body fluids—preliminary report. *N Engl J Med* 2017.
 38. Barzon L, Percivalle E, Pacenti M, et al. Virus and antibody dynamics in travelers with acute Zika virus infection. *Clin Infect Dis* 2018;66:1173-80.
 39. Medina FA, Torres G, Acevedo J, et al. Duration of infectious Zika virus in semen and serum. *J Infect Dis* 2018;10:1093.
 40. Fréour T, Mirallié S, Hubert B, et al. Sexual transmission of Zika virus in an entirely asymptomatic couple returning from a Zika epidemic area, France, April 2016. *Euro Surveill* 2016;21:30254.
 41. Musso D, Richard V, Teissier A, et al. Recipient Epidemiology and Donor Evaluation Study (REDS-III) ZIKV Study Group. Detection of Zika virus RNA in semen of asymptomatic blood donors. *Clin Microbiol Infect* 2017;23:1001.
 42. Brooks RB, Carlos MP, Myers RA, et al. Likely sexual transmission of Zika virus from a man with no symptoms of infection—Maryland, 2016. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2016;65:915-6.
 43. Petersen EE, Meaney-Delman D, Neblett-Fanfair R, Havers F, Oduyebo T, Hills SL, et al. Update: Interim Guidance for Preconception Counseling and Prevention of Sexual Transmission of Zika Virus for Persons with Possible Zika Virus Exposure – United States, September 2016. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2016 Oct 7;65(39):1077-81.
 44. Polen KD, Gilboa SM, Hills S, Oduyebo T, Kohl KS, Brooks JT, et al. Update: Interim Guidance for Preconception Counseling and Prevention of Sexual Transmission of Zika Virus for Men with Possible Zika Virus Exposure – United States, August 2018. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2018 Aug 10;67(31):868-871.

ANÁLISIS CRÍTICO

Glucemia materna durante el embarazo y adiposidad en la niñez en el estudio de seguimiento del HAPO estudio (HAPOFUS)

Maternal glucose levels during pregnancy and childhood adiposity in the Hyperglycemia and Adverse Pregnancy Outcome Follow-up Study

William L. Lowe Jr, Lynn P. Lowe, Allan Kuang, et al., en nombre de *HAPO Follow-up Study*
Diabetologia 2019;62(4):598-610

Resumen

Objetivos: durante la gestación, la diabetes tipo 2 y la diabetes gestacional están asociadas a la adiposidad en la infancia; sin embargo, a menores niveles de glucemia materna durante el embarazo, estas asociaciones, independientes del índice de masa corporal (IMC) materno, son menos claras. El objetivo fue examinar las asociaciones de los niveles de glucosa materna durante el embarazo con la adiposidad infantil en la cohorte

de HAPO (Hiperglucemia y resultados adversos perinatales).

Métodos: el estudio HAPO fue un estudio epidemiológico observacional, internacional y multiétnico, que estableció una fuerte asociación entre los niveles de glucosa durante el embarazo con múltiples resultados perinatales. El estudio HAPO FUS (*HAPO Follow-up Study*) incluyó a 4832 niños provenientes de 10 centros HAPO cuyas madres realizaron una curva P75 hacia la semana 28 de

embarazo -10 a 14 años antes- con los valores de glucosa ciegos a los participantes y a los médicos. El resultado primario fue la adiposidad del niño, incluidos: 1) sobrepeso-obesidad de acuerdo con el sexo y la edad basado en el criterio IOFT (*International Obesity Task Force*), 2) obesidad definida por IOFT (2) medidas superiores al percentil 85 para la suma de pliegues cutáneos, circunferencia de la cintura y porcentaje de grasa corporal. Los predictores primarios fueron los valores de la curva de tolerancia oral a la glucosa (OGTT) maternos y los valores de HBA1c durante la gestación.

Resultados: los modelos ajustados que incluyeron IMC materno y OGTT indicaron una asociación positiva entre los predictores de glucosa materna y la adiposidad en los niños. Las asociaciones fueron significativas y consistentes en niños y niñas.

Conclusiones e interpretación: la exposición a alta glucosa en el útero se asocia en forma independiente con la adiposidad fetal, incluidos el sobrepeso/obesidad, la obesidad, el grosor de los pliegues cutáneos, el porcentaje de grasa corporal y la circunferencia de la cintura. Los niveles de glucosa menores que aquellos que diagnostican diabetes fueron asociados con la adiposidad fetal, lo cual podría tener implicaciones para la salud metabólica a largo plazo.

COMENTARIO

Dra. Gabriela Rovira

Hospital Británico, Ciudad Autónoma de Buenos Aires

Las diabetes tipo 2 y la diabetes gestacional (DG) se asocian en la madre con sobrepeso y obesidad y en el recién nacido con adiposidad en la niñez.

Sin embargo, los niveles glucémicos menores que los recomendados hasta el advenimiento de los criterios diagnósticos recomendados por IADPSG y su asociación con la adiposidad en los niños requieren aún ser aclarados.

El HAPO¹ fue un estudio en el que se evaluaron 23.316 mujeres gestantes en 15 centros y tuvo su continuidad al evaluar en el estudio HAPO-FUS la descendencia de estas mujeres, niños de entre 10 y 14 años. En el HAPOFUS participaron solo 10 de los centros originales. Si bien las pacientes elegibles para el HAPOFUS fueron 15.812 (por presentar resultados de P75 ciegos durante el HAPO, edad gestacional en el

momento del parto mayor de 37 semanas y ausencia de malformaciones y de muerte fetoneonatal, como también por contar con la presencia del par madre-hijo), no se pudo contactar a una gran parte de ellas (6490 mujeres), 4488 mujeres rechazaron participar y, finalmente, un total de 4775 pacientes fueron las que participaron con todas las mediciones, incluido el IMC. Por ello, solo el 20% de la población estudiada en el HAPO fue evaluada, lo que limitó la posibilidad de estudiar un número representativo de la población del estudio original.

Los resultados refieren una asociación positiva entre los predictores maternos y la adiposidad en los niños. La asociación fue significativa entre las variables evaluadas en los niños (sobrepeso/obesidad según el sexo y la edad basados en los criterios del Grupo de Trabajo Internacional de Obesidad [IOTF], obesidad definida por IOTF, percentil mayor de 85 para la sumatoria de pliegues cutáneos, circunferencia de la cintura y porcentaje de grasa) y cada punto de la curva de glucosa (glucemia en ayunas, a la hora y a las 2 horas), excepto para la glucemia en ayunas y el sobrepeso/obesidad del recién nacido ($p = 0,9$), y la glucemia en ayunas y la circunferencia de la cintura mayor del percentil 85 ($p = 0,067$).

Los principales hallazgos del estudio identifican que la glucemia es una variable que se asocia en forma lineal con la adiposidad en los hijos de estas mujeres. Esta asociación entre la glucemia en ayunas y el riesgo perinatal de adiposidad se evidencia, incluso, al estudiar a las mujeres que tuvieron glucemias en ayunas menores que las que tienen diagnóstico de diabetes gestacional según los criterios IADPSG y SAD-ALAD. Cabe destacar que en el análisis estadístico los riesgos relativos fueron atenuados luego de ajustar por el IMC materno.

Langer et al. publicaron que el riesgo de tener a un recién nacido macrosómico en las mujeres con DG bien controlada se asoció con el IMC pregestacional².

El HAPO y, en consecuencia, el HAPOFUS utilizaron el IMC del momento de la P75 (28 semanas de embarazo) y no el IMC pregestacional.

Es interesante considerar que las mujeres del estudio HAPOFUS no recibieron tratamiento, ya que no tenían diagnóstico de diabetes gestacional. Cabe destacar que en el estudio HAPO, las pacientes con niveles glucémicos que excedían el ciego (glucemias en ayunas > 105 mg/dl o a

las 2 horas de la P75 > 200 mg/dl o alguna medición < 45 mg/dl) fueron tratadas de acuerdo con la práctica local y excluidas. Hubiera sido interesante comparar los resultados perinatales de esas pacientes con diabetes gestacional y la adiposidad de sus niños en relación con aquellas que presentan rangos de glucemia menores en el momento del diagnóstico de diabetes gestacional.

Si bien el presente estudio muestra la importancia de la glucemia como metabolito materno vinculado a la adiposidad en la niñez de la descendencia, poco se conoce acerca de los posibles beneficios que podría brindar un tratamiento que controle los niveles glucémicos en las mujeres que no tienen diabetes gestacional.

Los estudios de Crowther et al. y de Landon et al.^{3,4} evidenciaron una mejoría de los resultados perinatales luego de tratar a mujeres con diabetes gestacional cuando los valores de glucemia en la curva P75 a las 2 horas fueron mayores de 140 mg/dl. El análisis fue costo-efectivo⁵. Este valor de corte es considerado en el criterio diagnóstico SAD-ALAD y no en el criterio diagnóstico IADPSG (que sugiere el diagnóstico con glucemia a las 2 horas mayor de 152 mg/dl).

En el estudio de prevalencia de DG según el método ALAD *vs.* IADPSG, realizado por el Comité de Diabetes y Embarazo de la Sociedad Argentina de Diabetes en 14 centros de la Argentina, encontramos que luego de tratar a las pacientes con diabetes gestacional según los criterios ALAD-SAD (glucemia basal mayor o igual a 100 y a las 2 horas posingesta de 75 g de glucosa, mayor o igual a 140 mg/dl), las mujeres que tenían diagnóstico por IADPSG no presentaron diferencias significativas en los resultados maternos y neonatales al comparar los grupos ALAD-SAD (tratadas) e IADPSG (sin tratamiento). El valor más discutido de los criterios diagnósticos por IADPSG y el que más eleva la prevalencia de DG fue la glucemia en ayunas. En nuestro estudio, utilizando criterios IADPSG, la prevalencia de DG por el método ALAD-SAD fue de 9% y utilizando IADPSG, de 25%. Al evaluar la frecuencia de diagnóstico según cada punto de la curva de glucosa, encontramos que el diagnóstico era positivo por glucemia en ayunas en un 79,6%, por glucemia de la hora en un 32,2% y por glucemia de las 2 horas en un 16,7%. Asimismo, en las mujeres con diabetes gestacional diagnosticada por ALAD-SAD y por IADPSG que

tuvieron neonatos macrosómicos, los resultados fueron semejantes entre sí y a los de las mujeres sin diabetes que tuvieron hijos macrosómicos⁶. Estos hallazgos nos hacen dudar de cuál sería el tratamiento adecuado para evitar la macrosomía asociada a la adiposidad del neonato.

Por otro lado, en el HAPOFUS se encontró una asociación positiva y continua entre la glucemia materna y la adiposidad en los niños, sin un punto de corte. Sin embargo, cuando se ajustó por el IMC materno dejó de tener significación estadística la relación entre la glucemia materna en ayunas y el riesgo en los niños de tener sobrepeso/obesidad y circunferencia de la cintura mayor del P85. Esto podría tener relación con la hipótesis propuesta por Freinkel et al., quienes sugieren que la asociación entre la diabetes gestacional y los resultados en el recién nacido y los niños está mediada por la transferencia placentaria de nutrientes mixtos.⁷ Los lípidos, incluidos triglicéridos y ácidos grasos no esterificados, contribuyen al crecimiento fetal excesivo⁸, que no fueron evaluados en este estudio.

Como limitaciones, el estudio HAPOFUS ha utilizado el IMC de las embarazadas en el momento de la P75 y no el IMC pregestacional. Tampoco hay datos de variables del estilo de vida posnatal de las participantes, lo cual podría influir en la adiposidad en los niños.

En conjunto, los hallazgos de este estudio podrían tener implicancias de utilidad para el tratamiento nutricional de las mujeres en la gestación y de aquellas mujeres con diabetes gestacional en relación con los objetivos glucémicos utilizados hasta el presente. Estos resultados también deben ser considerados en las mujeres con otros factores de riesgo para el desarrollo de obesidad infantil, como la obesidad materna.

El HAPOFUS nos muestra la importancia de identificar a las mujeres que van a beneficiarse con el seguimiento interdisciplinario en el embarazo y el posparto y, también, la indiscutida relación lineal entre la glucemia materna y el crecimiento fetal.

Aún falta conocer el punto de corte glucémico a partir del cual la mujer embarazada se beneficiaría al recibir un tratamiento hipoglucemiante, cambios en la dieta y en el estilo de vida que mejoren su control metabólico y, en consecuencia, tengan impacto positivo en la adiposidad de los niños y beneficios metabólicos a largo plazo.

REFERENCIAS

1. Metzger B, Lowe L, Dyer A, et al. Hyperglycemia and adverse pregnancy outcomes. *N Engl J Med* 2008;358:1991-2002.
2. Langer O, Yogev Y, Xenakis EMJ, Brustman L. Overweight and obese gestational diabetes: Impact on pregnancy outcome. *Am J Obstet Gynecol* 2005;192:1768-76.
3. Crowther CA, Hiller JE, Moss JR, McPhee AJ, Jeffries WS, Robinson JS. Effect of treatment of gestational diabetes mellitus on pregnancy outcomes. *N Engl J Med* 2005;352:2477-86.
4. Landon MB, Spong CY, Thom E, et al. A multicenter, randomized trial of treatment for mild gestational diabetes. *N Engl J Med* 2009;361:1339-48.
5. Moss JR, Crowther CA, Hiller JE, Willson KJ, Robinson JS. Costs and consequences of treatment for mild gestational diabetes mellitus: evaluation from the ACHOIS randomised trial. *BMC Pregnancy Childbirth* 2007;7:27.
6. Sucani S, et al. Prevalence of GDM And Macrosomia In An Argentinian Cohort According To ALAD And IADPSG Diagnosis Criteria. Buenos Aires: IADPSG 2016.
7. Freinkel N. Banting lecture 1980. Of pregnancy and progeny. *Diabetes* 1980;29(12):1023-35. Disponible en: <https://doi.org/10.2337/diab.29.12.1023>
8. Barbour LA, Hernandez TL. Maternal non-glycemic contributors to fetal growth in obesity and gestational diabetes: spotlight on lipids. *Curr Diab Rep* 2018;18(6):37. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s11892-018-1008-2>

COMENTARIO BIBLIOGRÁFICO

Protégenos de la investigación médica de mala calidad

Protect us from poor-quality medical research

ESHRE Capri Workshop Group
Hum Reprod 2018;33:770-6.

Resumen

Gran parte de la investigación médica publicada es aparentemente defectuosa, no se puede replicar o tiene una utilidad limitada o ninguna. Este artículo presenta una visión general del panorama actual de la investigación biomédica, identifica problemas asociados con diseños de estudios comunes y considera posibles soluciones. Los ensayos clínicos aleatorizados, estudios observacionales, revisiones sistemáticas y meta-análisis se discuten en términos de sus limitaciones inherentes y formas potenciales de mejorar su análisis y reporte. El énfasis actual en la significación estadística debe ser reemplazado por un diseño sólido, transparente y complaciente con un compromiso claro para mejorar la calidad y la utilidad de la investigación clínica.

COMENTARIO

Claudio Bisoli

Director de Laboratorio de Reproducción Asistida (SAMeR), MSc
(Leeds University, UK)
Director del Laboratorio de Embriología (APP, US)

“Si este mes (o este año) usted va a leer un solo artículo, que sea este”. De esta categórica manera finalizaba Hans Ever, el saliente editor de la revista *Human Reproduction*, su comentario de opinión acerca de lo que, a su criterio, habían sido los diez mejores trabajos que la revista había publicado durante sus seis años de gestión¹.

Evers se refería específicamente al último de los trabajos recomendados, cuyo título suena como un pedido o un ruego: “Protégenos de la investigación médica de mala calidad”².

Los autores son un grupo de especialistas en reproducción asistida reunidos en la isla de Capri (de la cual toma su nombre el grupo de trabajo que fundaron), constituido por 17 discutidores que incluyeron expresidentes de la Sociedad Europea de Reproducción y Embriología Humanas (ESHRE) o directores de grupos de interés académico de ESHRE y 7 conferencistas del más alto nivel, referentes mundiales en el tema de ser críticos acerca de la calidad de lo que se publica en ciencia y de los métodos que se emplean para saber si los resultados son estadísticamente significativos.

Entre los conferencistas estaba invitado John Ioannidis, actualmente en la Escuela Universitaria de Medicina de Stanford, probablemente la autoridad mundial más importante en el tema mencionado y autor del *paper* que más bajadas ha tenido en la historia de las bibliotecas públicas de ciencia (más de 2,5 millones de visitas). Su título es, como mínimo, tan inquietante como el del grupo de Capri: “Por qué la mayoría de la investigación clínica no es útil”³. Su conferencia en el último congreso (2018) de la Sociedad Estadounidense de Medicina Reproductiva (ASRM) no lo fue menos: “¿Es la investigación clínica reproducible, transparente y útil?”. Estas preguntas de Ioannidis

y de tantos otros autores^{4,6} preocupados por tan relevante tema es lo que motivó a toda esta gente a reunirse en la fea localidad de Capri.

Se ha constatado que gran parte de la investigación médica publicada es aparentemente defectuosa, no puede ser replicada o tiene una utilidad limitada o que directamente carece de utilidad alguna. El 85% de todo el dinero que se destina a investigación se malgasta, esto debido fundamentalmente a que se hacen preguntas o hipótesis inadecuadas, diseños de investigación y ejecución defectuosos, variables principales de evaluación del estudio irrelevantes, pobre reporte de resultados o directamente porque ni se publican los resultados. Es imprescindible, entonces, un entrenamiento metodológico que nos permita evaluar críticamente la calidad de la evidencia en lugar de aceptar a ciegas como verdad toda la literatura disponible, reconociendo, sin embargo, que una investigación perfectamente confiable, creíble y útil es claramente una utopía inalcanzable.

El grupo de trabajo de Capri nos propone que existen muchas maneras de lograr que la situación actual mejore. Veamos algunas de ellas.

EL VALOR P

El 96% de todos los trabajos que se publican en la literatura biomédica pretenden diferencias significativas. “Demasiado bueno para ser cierto”, fue el lapidario comentario/mensaje de Ioannidis en las conferencias mencionadas.

Se ha demostrado que la ausencia de protocolos y planes de trabajo correctamente especificados antes de comenzar una investigación, sumada a la manipulación de los resultados con exceso de “herramientas” matemáticas o estadísticas, puede llevarnos a concluir cualquier resultado que deseemos. A menudo esto se ha dado en llamar el “fenómeno Jano”, por el dios de la mitología romana que poseía dos caras, cada una mirando hacia el lado contrario. El fenómeno Jano ocurre, entonces, cuando análisis diferentes de los mismos datos producen resultados diferentes. Dicho de otro modo, podríamos decir, como el reconocido ecólogo Ramón Margalef, que “cualquier ley biológica que se exprese con una fórmula de más de diez centímetros es sospechosa”.

El valor P se usa cuando deseamos ver cuán probable es que una hipótesis resulte cierta o no rechazada. Recordemos que usualmente una hipótesis expresa que no hay diferencias entre dos tratamientos, lo que se conoce como “hipótesis

nula”. El valor P , entonces, nos dice qué probabilidad hay de que una diferencia observada entre dos tratamientos haya sucedido por azar.

Un valor de $P = 0,5$ significa que la probabilidad de una diferencia ocurrida por el puro azar es 0,5 en 1, o 50:50. Es decir, la probabilidad de que una moneda salga cara o cruz. Nadie diría que el “tratamiento cara” es más efectivo que el “cruz”.

$P = 0,05$ significa que la probabilidad de que la diferencia observada en mis experimentos sea producto del mero azar y no de que efectivamente un tratamiento sea mejor que otro es 0,05 en 1, o sea 1 en 20. Si el análisis estadístico arrojó una $P = 0,032$, diré entonces que $P < 0,05$. Este es el valor usualmente citado por defecto como “estadísticamente significativo”, es decir, es poco probable que un evento determinado haya ocurrido por azar y, por lo tanto, la diferencia observada es importante.

Cuanto más bajo el valor de P , menos probable que la diferencia observada se deba al azar y, por lo tanto, mayor es la significación del hallazgo (digamos esto entre paréntesis: es redundante decir “estadísticamente significativo”, ya que no hay otra manera en ciencia de comprobar que algo sea diferente si no es con la estadística. Con decir “estos dos resultados son diferentes con una $P = 0,05$ ” sería suficiente. ¿Y si observo una “tendencia” que no es “estadísticamente significativa”? No sirve para nada, es como decir: no me dio diferente estadísticamente, pero para mí que algo diferente es. Cerremos paréntesis).

Una $P = 0,01$ es a menudo considerada “altamente significativa”. Nos quiere decir que la posibilidad de que algo ocurra por azar es 1 en 100. Es improbable, pero no imposible. Una $P = 0,001$ es 1 en 1000 o “muy altamente significativa”, aunque en castellano suene redundante. Uno podría concluir que el efecto bajo estudio es muy improbable que haya ocurrido por azar y que muy probablemente haya sido producido por el tratamiento que estamos probando o estudiando, y entonces rechazamos la hipótesis nula, aquella que decía que entre los tratamientos no había diferencias.

O sea que la hipótesis nula expresa en general lo contrario a lo que yo estoy interesado en hallar. Practiquemos, si me lo permiten, un poco de psicología silvestre: entre dos *papers*, uno con hallazgos con diferencias altamente significativas y otro no, seguramente nuestra atención curiosa va a enfocarse en el primero, en parte debido, además, a que no tenemos ni tiempo para leer ni la quincuagésima parte de lo que se publica.

Craso error: el *paper* sin diferencias entre dos tratamientos puede estar diciéndonos más cosas y más importantes que el otro. Y esta es solo una de las cuestiones acerca de las que este grupo de notables reunido en Capri quiere alertarnos.

Reconociendo la gran importancia del problema de la significación estadística, la Asociación Estadística Estadounidense (ASA, según su sigla en inglés) publicó en 2016⁷ una declaración sobre los valores de *P*. Otra gran coalición de 72 especialistas recientemente propuso⁸ un paso específico y simple: redefinir la significación estadística cambiando el valor de *P* que se usa por defecto en la mayoría de los trabajos científicos llevándolo de 0,05 a 0,005⁹.

La conclusión final es que nos hemos concentrado demasiado en el valor de *P* (que, por otro lado, no deja de ser un número arbitrario) que sugiere una distinción blanco o negro que elude la verdadera diferencia, si existe, con una artimaña estadística. Nuestra meta debería ser que al planear un estudio fijemos nuestra atención en el tamaño muestral, en los intervalos de confianza, en que las preguntas sean relevantes, que sea biológicamente verosímil, bien diseñado y llevado a cabo y con el adecuado poder estadístico.

PODER ESTADÍSTICO Y RIESGOS DE LOS TAMAÑOS MUESTRALES MUY PEQUEÑOS O MUY GRANDES

Según Ioannidis, el típico escenario de investigación que produce datos con resultados poco fiables es el siguiente:

- Se trata seguramente de un investigador en solitario o de un equipo muy pequeño, aislado de los demás grupos de investigación (podríamos aplicar esto a cualquier disciplina, no solo investigación, por ejemplo, una clínica de FIV cuyo equipo vive aislado del mundo de la reproducción asistida).

- Que selecciona la mejor hipótesis o la que más le conviene.

- Que cree que si el evento B ocurre después de A, entonces B es consecuencia de A. Eso se llama la falacia de la “falsa causalidad”. En latín sería *post hoc ergo propter hoc*. Ejemplo: si me deja de doler la panza después de tomar agua caliente con boldo (o sea, té de boldo), deduzco entonces que el boldo cura la indigestión. ¿Y el agua caliente? Saludos.

- $P < 0,5$ es suficiente.
- El estudio no está registrado en ningún lado.

- No se comparten todos los datos del experimento.

- Por lo tanto, no se pueden replicar los experimentos.

Todos hemos sido muchas veces testigos de cómo efectos positivos de tratamientos exitosos conseguidos a través de estudios con tamaños muestrales modestos y calidad de diseño experimental cuestionable a menudo desaparecen no bien las mismas intervenciones son probadas en poblaciones más grandes y con ensayos diseñados correctamente.

El “poder” estadístico es una consideración que se hace cuando se diseña un experimento y que permite estimar si el diseño experimental y el tamaño muestral propuestos tienen una posibilidad razonable de producir resultados útiles. O sea que el poder de un estudio es la probabilidad que tiene ese estudio de detectar una diferencia estadística significativa.

Si la diferencia que esperamos de un tratamiento es un 100% contra un 0% sin tratamiento, entonces un pequeño estudio va a tener el poder suficiente para detectar eso. Sin embargo, si la diferencia esperada es muy pequeña, digamos un 1%, entonces necesitaremos un estudio con un tamaño muestral mucho más grande para conseguir el suficiente poder que conduzca a un resultado con diferencias estadísticas.

Puede ser que nos parezca relevante detectar una diferencia de entre un 3% y un 5% de tasa de nacidos vivos después de un determinado tratamiento, pero difícilmente un experimento tenga suficiente tamaño muestral como para detectar tan pequeñas diferencias. Por lo tanto, uno debe ser prudente y considerar los intervalos de confianza cuando se leen e interpretan los resultados de una investigación. Con tamaños muestrales pequeños es más probable generar efectos exagerados de tratamientos que quizá no tengan ningún efecto o que este sea muy pobre como para ser tenido en cuenta.

Si el intervalo de confianza del estudio bajo consideración es del 95%, esto significa que yo puedo estar 95% seguro de que el verdadero efecto del tratamiento que se está probando (es decir, el que yo obtendría si estudiara toda la población y no una muestra de ella) se encuentra dentro del resultado del estudio. Ejemplo: una nueva manera de hacer *assisted hatching* incrementa la tasa de embarazo entre un 3% y un 5%, con un intervalo de confianza del 95%. Esto significa que yo

puedo estar un 95% “seguro” de que el verdadero valor de mi intervención se encuentra entre esos dos valores. A partir de esto es sencillo deducir que los estudios con tamaños muestrales grandes tienen intervalos de confianza más pequeños (porque el tamaño muestral se acerca más al verdadero tamaño de la población).

Sin embargo, afirmar por ejemplo que no hay diferencias entre dos tratamientos cuando se comparan unos 200 pacientes por rama de estudio, pero sí cuando se comparan 20.000 puede tener significación estadística, pero ningún sentido o valor clínico. El análisis de grandes masas de datos puede detectar efectos muy pequeños que sean clínicamente irrelevantes. La interpretación de estos resultados generados a partir de estudios con una enorme masa de datos y demasiado poder estadístico (*overpowered big data*) debe ser cautelosa, a pesar de que tengan significación estadística.

Los metanálisis son otra manera de contar con poblaciones de estudio más grandes. En los últimos tiempos han crecido en número e influencia, pero corren los mismos riesgos antes descriptos y esto no ha pasado inadvertido por individuos o grupos con intereses creados, quienes han utilizado estos datos como herramientas para influir en el uso de determinados fármacos o intervenciones médicas. Ioannidis define esto de manera contundente: “La medicina basada en la evidencia ha sido secuestrada”¹⁰.

EL FRANCO TIRADOR DE TEXAS

Cambiar las variables principales de evaluación después del análisis de los datos denota una mala conducta científica, especialmente si el cambio fue instigado por la falta de significación estadística de la primera variable de estudio que se había planteado al inicio del experimento. Esto se conoce comúnmente como *hackeo* del valor *P*, “dragado o limpieza de datos”, *cherry picking* (“elegir la frutilla del postre”, ¿lo considerarían una buena traducción, aunque *cherry* no sea exactamente “frutilla?”), *snooping* (fisgonear, curiosear, en el sentido de “chusmear” los datos para ver “si vienen dando bien”), *significance chasing* (persecución o caza de la significación) o la falacia del experto tirador de Texas¹⁰.

Esta falacia (también conocida como la “ilusión del agrupamiento” (*the clustering illusion*)) se refiere a una persona sin ninguna habilidad como tirador que dispara repetidamente su rifle o pistola contra una pared de un granero (me imagino que

ubicado en Texas) y luego pinta un círculo alrededor del *cluster* de agujeros que dejaron las balas y entonces a continuación declara que es un experto tirador porque acertó todos sus disparos dentro del círculo. Ahora que lo leemos nos resulta obvio que el círculo debió ser pintado antes de disparar las balas, pero no lo tenemos tan claro al observar otros *clusters* de datos en los que nuestra percepción y autoengaño nos llevan a ver asociaciones donde en realidad no hay ninguna.

CAMBIOS EN EL ESCENARIO DE LA CIENCIA

Cuando los del grupo de Capri dicen que existe un cambio en el paisaje o en el panorama de la ciencia, se están refiriendo específicamente a alguna de las siguientes tres situaciones:

- Cada vez hay más trabajos científicos provenientes de afuera de Europa y Estados Unidos. Los autores afirman que existe alguna evidencia de que los resultados publicados provenientes de países en desarrollo que no tienen una tradición establecida de investigación clínica tienden a reportar grandes beneficios de intervenciones médicas. Esto puede ser cierto, o no. Una afirmación generalizada de este tipo tiene el riesgo de ser discriminatoria, prejuiciosa y equivocada, pero no creo que haya sido la intención de estos autores estigmatizar la investigación que no provenga de sus países centrales, sino de alertar que algo de esto puede ocurrir.

- Los patrocinadores (*sponsors*) comerciales pueden diseñar experimentos que no necesariamente sean de mala calidad, pero donde las preguntas y el diseño experimental estén definidos de tal manera que las conclusiones a las que se arribe favorezcan la aplicación de un nuevo fármaco o intervención.

- El advenimiento de lo que se ha dado en llamar *big data* (o sea, la posibilidad de recabar y analizar una extraordinaria cantidad de información como nunca antes se tuvo ni se pudo) ha sido percibido como la aparición de un nuevo paradigma que liberará a los investigadores de algunos de los aspectos más restrictivos del rigor científico (como plantearse una hipótesis clara, planear un análisis de datos antes de poseer los datos, validar los resultados con otro grupo independiente de pacientes o que mis resultados sean replicables), pero esto no es cierto. La aplicación de estas nuevas tecnologías puede acarreamos falsas expectativas acerca de los verdaderos beneficios que pueden aportarnos.

CONCLUSIÓN

La consabida actitud de “publica o muere” que ha florecido en los ámbitos académicos solo ha favorecido la publicación de investigaciones que buscan resultados apresurados, de baja calidad e incompletos, con el único fin de publicar la mayor cantidad posible de *papers* provenientes de un mismo proyecto, una actitud que se ha dado en llamar “cortando rebanadas de salame”.

Para que los salames no seamos nosotros, ¿quién debería protegernos de la investigación médica de mala calidad? ¿A quién se invoca en el título de este iluminador-trabajo que hemos comentado aquí? A nosotros mismos, claro. Si somos investigadores, respetando con rigor los pasos del método científico. Si somos lectores, no creyéndonos todo lo que nos dicen en los congresos o está escrito en las revistas especializadas. “La ciencia es nuestra mejor defensa contra creer lo que queremos”, reza –ya que estamos en tema– una buena definición. La ciencia es una buena manera de luchar contra nuestra manía de buscar resultados que satisfagan nuestro interés o juicio previo y no aquellos resultados que definen la naturaleza de las cosas tal cual es. Auto-

engañarnos con mala ciencia es una muy buena manera de creer lo que queremos creer y no lo que realmente sucede.

REFERENCIAS

1. Evers JLH. Human Reproduction's greatest hits. My personal top-10 of 6 years as a Human Reproduction editor. *Hum Reprod* 2018;33(12):2159-61.
2. ESHRE Capri Workshop Group. Protect us from poor-quality medical research. *Hum Reprod* 2018;33:770-6.
3. Ioannidis JP. Why most clinical research is not useful. *PLoS Med* 2016;13:e1002049.
4. Altman DG. The scandal of poor medical research. *Br Med J* 1994;308:283.
5. Ioannidis JPA, et al. How to survive the medical misinformation mess. *Eur J Clin Invest* 2017;47:795-802.
6. Munafò MR, et al. A manifesto for reproducible science. *Nat Hum Behav* 2017;1:0021.
7. Wasserstein RL, Lazar NA. The ASA's statement on P-values: context, process, and purpose. *Am Stat* 2016;70(2):129-33.
8. Benjamin DJ, Berger JO, Johnson VE, et al. Redefine statistical significance. *Nat Hum Behav* 2018;2:6-10.
9. Ioannidis JPA. The Proposal to Lower P Value Thresholds to .005. *JAMA* 2018;319(14):1429-30.
10. Ioannidis JP. Evidence-based medicine has been hijacked: a report to David Sackett. *J Clin Epidemiol* 2016b;73:82-6.
11. Evers JL. The Texas sharpshooter fallacy. *Hum Reprod* 2017;32:1363.

COMENTARIO BIBLIOGRÁFICO

Marcadores convencionales y modernos de receptividad endometrial. Revisión sistemática y metanálisis

Conventional and modern markers of endometrial receptivity. A systematic review and meta-analysis

Laurentiu Craciunas, Ioannis Gallos, Justin Chu, Tom Bourne, Siobhan Quenby, Jan J. Brosens y Arri Coomarasamy *Human Reproduction Update*, p. 1-22, 2019 doi:10.1093/humupd/dmy044

Resumen

Antecedentes: la falla reproductiva temprana es la complicación más común del embarazo y solo el 30% de las concepciones llegan al nacimiento. Establecer un embarazo exitoso depende de la implantación, un proceso complejo que involucra interacciones entre el endometrio y el blastocisto. Se estima que las causas inherentes a los embriones representan un tercio de las fallas de implantación, mientras que la receptividad endometrial subóptima y el diálogo embrio-endometrial alterado son responsables de los dos tercios restan-

tes. La receptividad endometrial ha sido el foco de una extensa investigación durante más de 80 años, lo que lleva a una comprensión profunda de los procesos asociados con la conversión cruzada entre el embrión y el endometrio. Sin embargo, se han logrado pocos avances para traducir esta comprensión en pruebas y tratamientos de pronóstico clínicamente significativos para la receptividad endometrial subóptima.

Objetivo y justificación: el objetivo de esta revisión sistemática fue examinar la evidencia de estudios observacionales que respaldan el uso de

marcadores de receptividad endometrial como factores pronósticos para lograr un embarazo en las mujeres que desean concebir, con el fin de ayudar a los médicos a elegir el marcador más útil en la práctica clínica.

Métodos de búsqueda: el protocolo de revisión se registró con PROSPERO (CRD42017077891). Se realizaron búsquedas en MEDLINE y Embase para estudios observacionales publicados desde el inicio hasta el 26 de febrero de 2018. Incluimos estudios que midieron marcadores potenciales de receptividad endometrial antes de los intentos de embarazo e informes de los resultados posteriores del embarazo. Realizamos análisis de asociación utilizando el embarazo clínico como punto final para reflejar la presencia del endometrio receptivo. Se utilizó la escala Newcastle-Ottawa para evaluar la calidad de los estudios incluidos.

Resultados: se incluyeron 163 estudios (88.834 mujeres) de calidad general moderada en la síntesis narrativa, de los cuales 96 fueron incluidos en el metanálisis. Los estudios informaron sobre varios marcadores de receptividad endometrial evaluados por ecografía, biopsia endometrial, aspirado de líquido endometrial e histeroscopia en el contexto de la concepción natural y el tratamiento de fertilidad. Se identificaron asociaciones entre el embarazo clínico y varios marcadores de receptividad endometrial (grosor endometrial, patrón endometrial, índices Doppler, flujo endometrial y diversas moléculas); sin embargo, su poca capacidad para predecir el embarazo clínico impide su utilización en la práctica clínica, si bien los resultados de varias pruebas moleculares modernas son prometedores y aún falta más evidencia.

Implicaciones más amplias: la prueba de nuestros análisis pueden usarse en la práctica clínica para manejar las expectativas de las parejas durante los tratamientos de fertilidad (IUI y FIV). Convencionalmente, la receptividad endometrial se ve como un resultado dicotómico (presente o ausente), pero proponemos que existan varios niveles de receptividad endometrial dentro de la ventana de implantación. Por ejemplo, diferentes firmas transcriptómicas podrían representar niveles variables de receptividad endometrial, que pueden estar relacionados con diferentes resultados del embarazo. Muchos estudios informaron el promedio de un biomarcador particular en las mujeres que lograron un embarazo en comparación con las que no lo hicieron. Sin embargo, los valores extremos de un biomarcador (opues-

to al promedio) pueden tener implicaciones significativas en el pronóstico y el diagnóstico que se pierden al promediar. Por lo tanto, sugerimos informar los resultados por niveles de cada categoría de biomarcadores en lugar de informar las medias de los biomarcadores dentro de los grupos con resultados clínicos.

COMENTARIO

Marcela Irigoyen

Médica Especialista en Ginecología (SOGIBA), Endocrinología Ginecológica y de la Reproducción (Universidad Favaloro) y Medicina Reproductiva (SAMeR)
Codirectora de FERTILIS Medicina Reproductiva
marcela.irigoyen@fertilis.com.ar

El objetivo de este trabajo fue examinar la evidencia de estudios observacionales que sustentan el uso de marcadores de receptividad endometrial como factores pronósticos de resultados de embarazos y ayudar en la elección de los marcadores más útiles en la práctica clínica. También proponer líneas de investigaciones futuras sobre el tema.

Se conoce que la falla reproductiva temprana es la complicación más frecuente del embarazo. Se estima que el 70% de las concepciones se detienen antes de alcanzar la viabilidad¹. De estas, el 50% se pierden en la etapa preclínica, lo que se conoce como falla de implantación o aborto bioquímico^{2,3}. También se sabe que el aborto afecta el 25% de los embarazos clínicos⁴ y que más del 90% de las pérdidas del embarazo ocurren en el primer trimestre⁵.

Un embarazo exitoso depende de procesos complejos que involucran la interacción entre el endometrio y el embrión. Ambos comienzan su interacción durante la ventana de implantación, la cual es un estrecho período en el que el endometrio expresa su máxima receptividad.

En los últimos años ha aparecido un concepto nuevo sobre el endometrio y es que durante el período de implantación, además de tener que ser receptivo, debe tener la capacidad de ser selectivo, lo que presenta al endometrio como “biosensor” de la calidad embrionaria⁶.

El término “selectividad” se refiere a la capacidad de reconocer y rechazar un embrión potencial reducido, mientras que la “selectividad” es lo que hace que el endometrio habilite o permita las condiciones óptimas para el desarrollo embrionario y la formación placentaria.

Aunque no se conoce en profundidad el diálogo endometrio-embrión y el proceso de implantación, ha habido un pequeño progreso en las

pruebas diagnósticas y los tratamientos para mejorar la receptividad endometrial.

En esta revisión sistemática se incluyeron estudios que evaluaron imágenes ecográficas, biopsias endometriales, líquido de aspiración endometrial y la histeroscopia como marcadores de receptividad endometrial.

De 163 trabajos seleccionados, se incluyeron 96 en el metanálisis, con un grado de calidad moderado (*Newcastle-Ottawa Scale*).

MARCADORES DE RECEPTIVIDAD EVALUADOS POR ECOGRAFÍA

Los estudios midieron el grosor endometrial en mujeres en tratamiento de inseminación intrauterina (IIU) y fertilización in vitro (FIV) con transferencia de embriones en fresco o descongelados. Las mediciones del endometrio se hicieron en el día de la aplicación de la HCG y en el día de la IIU o transferencia embrionaria.

El resultado del metanálisis fue que la receptividad endometrial fue mayor con endometrios mayores de 7 mm (sensibilidad de 99% y especificidad de 3%).

En los tratamientos de IIU, de los 10 estudios que midieron el endometrio el día de la HCG, el grupo con mayor grosor endometrial tuvo mayor tasa de embarazo (MD 1,16; IC 95%: 0,29 a 2,03; 1.635 ciclos). Si la medición se hacía el día de la IIU, no había diferencia significativa (MD 0,54; IC 95%: -0,3 a 2,5; 556 ciclos).

En los tratamientos de FIV con transferencia en fresco se incluyeron 34 trabajos. El grupo con mayor grosor endometrial el día de la HCG tuvo mayor tasa de embarazo (MD 0,43; IC 95%: 0,21 a 0,64; 18.690 ciclos). Si la medición se hacía el día de la aspiración de los ovocitos no había diferencia significativa (MD 0,5; IC 95%: -1,29 a 0,3; 252 ciclos).

Con transferencias de embriones diferidas, midiendo el endometrio el día de comienzo de la progesterona también se observó diferencia significativa entre los grupos con menor grosor endometrial, en que hubo menor tasa de embarazo, frente a aquellos con endometrios más gruesos, que tuvieron mejores resultados (MD 0,46; IC 95%: 0,04 a 0,87; 2.054 ciclos).

Para el volumen endometrial no se dispuso de datos suficientes para hacer el metanálisis debido a que se informaron distintos valores de corte de volumen endometrial con respecto a los resultados de los embarazos. Hubo un solo

trabajo considerado por esta revisión (125 mujeres), en el que se midió el volumen el día de la aplicación de la HCG de ciclos de FIV. La mayor receptividad se observó con volúmenes endometriales mayores de 2 ml (sensibilidad de 93% y especificidad de 7%).

Patrón endometrial: mayor receptividad con un patrón de triple línea el día de la HCG en tratamientos de: 1) FIV en fresco, se incluyeron 11 estudios (15.653 mujeres) con sensibilidad de 87% y especificidad de 15%. 2) En IIU se incluyeron 5 estudios (1.525 ciclos), con sensibilidad de 84% y especificidad de 27%.

Flujo endometrial evaluado con Doppler

a) Análisis de asociación

En *inseminación intrauterina* (IIU) se incluyeron tres trabajos que evaluaron vascularización endometrial con Doppler el día de la HCG. No hubo datos suficientes en estos trabajos para realizar un metanálisis.

En *fertilización in vitro* (FIV) se incluyeron 22 trabajos que compararon vascularización endometrial con Doppler entre mujeres que habían logrado el embarazo y las que no lo habían logrado.

El índice de vascularidad (IV) endometrial en las mujeres que lograron el embarazo clínico y las que no, cuando se midió el día de la HCG fue similar, pero medido el día de la transferencia embrionaria en ciclos en fresco, el IV fue mayor en las mujeres con embarazo clínico (MD 0,96; IC 95%: 0,06 a 1,86; $p < 0,04$; dos estudios; 527 ciclos).

El índice de flujo (IF) endometrial medido el día de la HCG y de la transferencia fue similar en ambos grupos.

El índice de flujo vascular (IFV) endometrial fue igual el día de la HCG, pero medido el día de la transferencia embrionaria en fresco fue mayor en las mujeres que lograron el embarazo (tres estudios; 805 ciclos; MD 1,02; IC 95%: -92 a 2,97; $p = < 0,62$).

El IV subendometrial fue menor el día de la HCG en las mujeres que lograron el embarazo (MD -1,71; IC 95%: -3,11 a -0,3; $p < 0,2$; tres estudios; 763 ciclos).

El IF subendometrial el día de la HCG fue mayor en las mujeres que lograron el embarazo (MD 0,76; IC 95%: 0,22-1,3; $p < 0,006$; dos estudios; 7728 ciclos). No hubo diferencias cuando se midió en el día de la transferencia embrionaria.

El IFV subendometrial fue similar en ambos grupos, con embarazo o sin él, medido tanto el día de la HCG como el día de la transferencia embrionaria.

El índice de pulsatilidad (IP) de la arteria uterina medido el día de la HCG, el día de la aspiración de los ovocitos y el día de la transferencia embrionaria fue similar en ambos grupos.

El índice de resistencia (IR) de la arteria uterina medido el día de la transferencia fue similar en el grupo que consiguió el embarazo y en el que no lo logró.

Los datos fueron insuficientes para hacer un metanálisis de evaluación con Doppler en endometrios con transferencia de embriones descongelados.

b) Análisis de precisión

No hubo suficientes datos para realizar un metanálisis de precisión que relacione los índices medidos por Doppler y las tasas correspondientes de embarazo.

Contracciones endometriales: los datos de los trabajos seleccionados también fueron insuficientes para realizar un metanálisis. Hay un solo trabajo seleccionado que mostró mayor receptividad con ausencia de contracciones (283 mujeres) con 7% de sensibilidad y 94% de especificidad.

MARCADORES DE RECEPTIVIDAD EVALUADOS POR HISTEROSCOPIA

El endometrio de la fase media luteal fue clasificado como “bueno” basado en el aspecto glandular y el de los vasos. Los datos recolectados de distintos trabajos no fueron suficientes para realizar un metanálisis. Solo se rescató un trabajo de 61 mujeres a las que se les hizo una histeroscopia antes de la FIV; la tasa de embarazo fue de 40% con endometrios catalogados como “buenos” frente a 13% con endometrios “no buenos”⁷.

MARCADORES DE RECEPTIVIDAD EVALUADOS POR BIOPSIA ENDOMETRIAL

Citología e histología

Varios estudios correlacionaron la apariencia histológica y citológica del endometrio en el contexto de embarazos naturales y por FIV. Los datos recolectados fueron insuficientes para confeccionar un metanálisis.

Se mencionan tres estudios siguiendo los criterios de fechado con criterio de Noyes⁸. Driessen (1980)⁹, en 232 mujeres infértiles; no se encontró diferencias en la tasa de embarazo cuando

se compararon los grupos con fechado adecuado y aquellas que tenían endometrios fuera de fase. Balasch (1992)¹⁰ evaluó 1.492 biopsias de 1.055 mujeres con infertilidad inexplicable y no encontró asociación entre el fechado endometrial entre los ciclos con embarazo y sin él. Klentzeris (1992)¹¹ dividió en dos grupos a 47 mujeres según tenían el fechado endometrial en fase o fuera de fase, las siguió sin intervención por 3 años y observó que el grupo con endometrio en fase tuvo mayor tasa de embarazo (50% contra 11,9%).

Estudio de células natural killer uterinas (uNK)

Se incluyeron solo tres estudios que evaluaron la asociación de uNK y el resultado de embarazos en mujeres que habían sufrido abortos recurrentes de causa desconocida. Las biopsias fueron tomadas en fase lútea y confirmadas por histología. El estudio de Tuckerman (2007)¹² en células estromales de 87 mujeres con tres o más abortos recurrentes no encontró diferencias en uNK CD56⁺ en aquellas que luego tuvieron un embarazo exitoso y las que no. Quenby (1999)¹³, en 22 mujeres con tres o más abortos inexplicables, observó que las mujeres que luego se embarazaron y volvieron a sufrir un aborto tenían mayor porcentaje de CD4⁺, CD8⁺, CD14⁺, CD16⁺ y CD56⁺ (4 de 15 mujeres que volvieron a embarazarse). Michimata (2002)¹⁴, en 17 mujeres con dos o más abortos, no encontró diferencias en quienes luego se embarazaron con éxito y las que no. Liu (2014)¹⁵ no halló correlación en uNK de las que luego se embarazaron con éxito y las que volvieron a abortar.

Endometrial Receptivity Array (ERA)

Es una prueba de diagnóstico molecular basada en tecnología de *microarray* que clasifica las biopsias endometriales en receptivas, pre receptivas y post receptivas basadas en la expresión de 238 genes seleccionados¹⁶. Permitiría hacer la transferencia embrionaria personalizada, la cual se haría en el momento en el que el endometrio sea identificado con un patrón genético “receptivo”.

Se publicaron cinco estudios siguiendo el criterio del ERA en pacientes con fracaso de un embarazo previo. Debido a la heterogeneidad clínica y metodológica (número de fallas previas, reportes por pacientes o por ciclos) no fue posible realizar un metanálisis.

Solo un trabajo¹⁷ en 85 mujeres identificó un mayor porcentaje de endometrios no receptivos en

aquellas con falla de implantación recurrente (22/85; 25,9%) vs. las sin fallas de implantación (3/12; 12%). El mismo autor¹⁸ publicó, en 2014, otro trabajo en 17 mujeres con falla de implantación previa, en el que luego de ERA 53% de ellas lograron un embarazo exitoso. Mahajan (2015)¹⁹ informó que fue mayor el porcentaje de endometrio no receptivo en el grupo de mujeres con dos o más fallas de implantación previa (22/80; 28%) que en aquellas sin falla (14/93; 15%). Hashimoto (2017)²⁰ comparó dos grupos con fallas previas de implantación. El grupo que luego hizo ERA con transferencia personalizada tuvo una tasa de embarazo de 50% (5/109) frente a 35% en las que no hicieron la prueba (12/34). Tan (2018) no encontró diferencia en la tasa de embarazo en las mujeres con endometrio receptivo y no receptivo.

MARCADORES DE RECEPTIVIDAD EVALUADOS POR EL LÍQUIDO ENDOMETRIAL

Los datos publicados fueron insuficientes para realizar un metanálisis.

Esta es la primera revisión sistemática que resume el valor clínico de los marcadores de receptividad endometrial.

CONCLUSIONES

La conclusión es que hasta el momento ninguno de ellos tiene el suficiente valor para predecir un embarazo clínico.

Si bien el embarazo clínico sería la confirmación de un endometrio receptivo, el no embarazo no estaría hablando necesariamente de un endometrio no receptivo porque esas fallas podrían deberse a otras causas, como por ejemplo las aneuploidías embrionarias, la alteración de la microbiota endometrial o alguna enfermedad sistémica materna.

REFERENCIAS

1. Roberts CJ, Lowe CR. Where have all the conceptions gone? *Lancet* 1975;305:498-9.
2. Wilcox AJ, Weinberg CR, O'Connor JF, Baird DD, Schlatterer JP, Canfield RE, Armstrong EG, Nisula BC. Incidence of early loss of pregnancy. *N Engl J Med* 1988;319:189-94.
3. Chard T. Frequency of implantation and early pregnancy loss in natural cycles. *Baillieres Clin Obstet Gynaecol* 1991;5:179-89.
4. Macklon NS, Geraedts JP, Fauser BC. Conception to ongoing pregnancy: the 'black box' of early pregnancy loss. *Hum Reprod Update* 2002;8:333-43.

5. Regan L, Rai R. Epidemiology and the medical causes of miscarriage. *Baillieres Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2000;14:839-54.
6. Macklon NS, Brosens JJ. The human endometrium as a sensor of embryo quality. *Biol Reprod* 2014;91:98.
7. Sakumoto T, Inafuku K, Miyara M, Takamiyagi N, Miyake A, Shinkawa T, Nakayama M. Hysteroscopic assessment of midsecretory-phase endometrium, with special reference to the luteal-phase defect. *Horm Res* 1992;37:48-52.
8. Noyes RW, Hertig AT, Rock JR. Dating the endometrial biopsy. *Fertil Steril* 1950;1:3.
9. Driessen F, Holwerda PJ, vd Putte SC, Kremer J. The significance of dating an endometrial biopsy for the prognosis of the infertile couple. *Int J Fertil* 1980;25:112-6.
10. Balasch J, Fábregues F, Creus M, Vanrell JA. The usefulness of endometrial biopsy for luteal phase evaluation in infertility. *Hum Reprod* 1992;7:973-7.
11. Klentzeris LD, Li TC, Dockery P, Cooke ID. The endometrial biopsy as a predictive factor of pregnancy rate in women with unexplained infertility. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1992;45:119-24.
12. 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.
13. Quenby S, Bates M, Doig T, Brewster J, Lewis-Jones DI, Johnson PM, Vince G. Preimplantation endometrial leukocytes in women with recurrent miscarriage. *Hum Reprod* 1999;14:2386-91.
14. 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.
15. Liu B, Marice N, Laird S, Smith J, Li J, Li TC. The prognostic value of uNK cell count and histological dating in the mid-luteal phase of women with reproductive failure. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2014;181:171-5.
16. Díaz-Gimeno P, Horcajadas JA, Martínez-Conejero JA, Esteban FJ, Alamá P, Pellicer A, Simón C. A genomic diagnostic tool for human endometrial receptivity based on the transcriptomic signature. *Fertil Steril* 2011;95:50-60.
17. Ruiz-Alonso M, Blesa D, Díaz-Gimeno P, Gómez E, Fernández-Sánchez M, Carranza F, Carrera J, Vilella F, Pellicer A, Simón C. The endometrial receptivity array for diagnosis and personalized embryo transfer as a treatment for patients with repeated implantation failure. *Fertil Steril* 2013;100:818-24.
18. Ruiz-Alonso M, Galindo N, Pellicer A, Simón C. What a difference two days make: 'personalized' embryo transfer (pET) paradigm: a case report and pilot study. *Hum Reprod* 2014;29:1244-7.
19. Mahajan N. Endometrial receptivity array: clinical application. *J Hum Reprod Sci* 2015;8:121-9.
20. Hashimoto T, Koizumi M, Doshida M, Toya M, Sagara E, Oka N, Nakajo Y, Aono N, Igarashi H, Kyono K. Efficacy of the endometrial receptivity array for repeated implantation failure in Japan: a retrospective, two-centers study. *Reprod Med Biol* 2017;16:290-6.

Highlights del Congreso IFPA 2019 - VIII SLIMP

El Congreso de la Federación Internacional de Placenta 2019, junto con el VIII Simposio Latinoamericano de Interacción Materno Fetal, se llevaron a cabo en la Ciudad Autónoma de Buenos Aires en septiembre de 2019 y contaron con la participación de numerosos conferencistas extranjeros, cuyas charlas son comentadas a continuación por diferentes autores.

Título de la charla

Entendiendo la comunicación entre la placenta y el páncreas en la regulación del metabolismo materno durante el embarazo

Understanding the cross-talk between the placenta and the pancreas in the regulation of maternal metabolism during pregnancy

Conferencista: David Hill, Lawson Health Research Institute, London, Canadá
Publicado en *Placenta* 2019;83:e7S2.

Autor del comentario: Dalmiro Gómez Ribot
Laboratorio de Reproducción y Metabolismo, CEFYBO-CONICETUBA, Facultad de Medicina, UBA, Paraguay 2155, piso 17, C1121ABG, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina
E-mail: dalmirogribot@gmail.com

COMENTARIO

En el embarazo, una función de la placenta es aumentar la resistencia a la insulina de la madre a fin de asegurar la adecuada nutrición del feto en desarrollo. Este aumento en la insulinoresistencia es compensado por el aumento adaptativo de la masa de células β en el páncreas de la madre, lo que conlleva un incremento en la secreción de insulina. La diabetes mellitus gestacional ha sido vinculada a una falla en la capacidad de adaptación de las células β al estado de gravidez¹.

El autor destaca que tanto en el páncreas de ratón como en el del ser humano, se han identificado diversas células como progenitoras de las células β , a partir de las cuales se produce la expansión durante el embarazo. Estas células se encuentran dentro de los islotes de Langerhans y en pequeños *clusters* endocrinos, que son agrupaciones de menos de cinco células β . Estos progenitores contienen insulina, pero expresan pobremente el transportador de glucosa Glut2, por lo que no tienen capacidad de responder a los niveles de glucosa (células $\text{Ins}^+\text{Glut2}^{\text{LO}}$)². Sin embargo, en determinadas circunstancias pueden diferenciarse a células β maduras y funcionales. Particularmente en el ratón, se ha observado que el aumento del número de células β funcionales inducido por la preñez es precedido por un aumento de estas células progenitoras³.

Dentro de los genes abundantemente expresados por estas células $\text{Ins}^+\text{Glut2}^{\text{LO}}$ se encuentra el de la apelina y el de su receptor acoplado a la proteína G: APJ. La apelina induce la maduración y expansión de estas células a células β funcionales, contribuyendo a la adaptación del páncreas a la insulinoresistencia inducida por el embarazo. Esta hormona es sintetizada por las células del sincitiotrofoblasto placentario y liberada a la circulación materna. De esta manera, la placenta induce insulinoresistencia y, a su vez, la compensa estimulando el aumento en la masa de células β del páncreas a través de la hormona apelina, conduciendo así a un incremento en los niveles maternos de insulina.

En un modelo en ratón se vio que las hembras que desarrollan intolerancia a la glucosa durante la preñez presentan una insuficiencia en la adaptación del páncreas al aumento de la insulinoresistencia, debido a una falla en la proliferación y maduración de las células $\text{Ins}^+\text{Glut2}^{\text{LO}}$ en células β maduras⁴. De aquí surge la posibilidad de evaluar eventuales intervenciones terapéuticas que consideren utilizar agonistas del receptor APJ con el objetivo de aumentar la masa de células β para mejorar la adaptación del páncreas al desafío provocado por el estado de preñez.

REFERENCIAS

1. Baeyens L, Hindi S, Sorenson RL, German MS. β -Cell adaptation in pregnancy. *Diabetes Obes Metab* 2016;18 Suppl 1:63-70.
2. Beamish CA, Mehta S, Strutt BJ, Chakrabarti S, Hara M, Hill DJ. Decrease in Ins⁺Glut2^{LO} β -cells with advancing age in mouse and human pancreas. *J Endocrinol* 2017;233:229-41.
3. Beamish CA, Zhang L, Szlapinski SK, Strutt BJ, Hill DJ. An increase in immature β -cells lacking Glut2 precedes the expansion of β -cell mass in the pregnant mouse. *PLoS ONE* 2019;12(7):e0182256.
4. Azzimi H, Szlapinski SK, Hill DJ. Mice fed a low protein diet in utero show decreased Apelin Receptor presence in Ins⁺Glut2^{LO} cells during pregnancy associated with low β -Cell Mass. *Diabetes* 2019 Jun;68(Suppl 1).

Título de la charla

Exosomas placentarios: lo que sabemos y lo que sabemos que no sabemos

Placental exosomes: the knowns and the known unknowns

Conferencista: Yoel Sadovsky, University of Pittsburgh, Pittsburgh, Estados Unidos.
Publicado en *Placenta* 2019;83:e5-e6.

Autora del comentario: Paula Accialini
Centro de Estudios Farmacológicos y Botánicos (CEFyBO-UBA-CONICET).
E-mail: paccialini@gmail.com

COMENTARIO

El grupo de investigación del Dr. Sadovsky estudia los mecanismos moleculares que median la respuesta del trofoblasto a diversos estresores. En su conferencia en IFPA 2019-VIII SLIMP presentó su investigación acerca del papel de las vesículas extracelulares (VE) liberadas por la placenta en la comunicación materno-fetal y en la resistencia que confieren a la infección por virus. Estas VE cargan diversos tipos de moléculas, como ARN no codificantes y proteínas¹ y son liberadas desde la cara materna de la placenta. Así, contribuyen a la activa comunicación entre la placenta y los órganos maternos y brindan un nuevo enfoque al estudio de la señalización paracrina y endocrina que caracteriza el diálogo materno-fetal durante el embarazo. En condiciones patológicas, el número y la composición de las VE están modificados. Esta característica proporciona una perspectiva de diagnóstico novedosa basada en el uso de biopsias líquidas enriquecidas en VE para la determinación de diversas patologías^{2,3}. La relevancia de la investigación de Sadovsky radica en la posibilidad de aislar las VE de la sangre materna y analizar si están involucradas en el desarrollo de patologías del embarazo, como también evaluar su potencial uso como marcador molecular diagnóstico. Los hallazgos

de su laboratorio incluyen la identificación del papel de las VE en la diferenciación de las células de la placenta y en la adaptación a las lesiones. En este contexto, su grupo describió que los exosomas placentarios (un tipo particular de VE) atenúan la replicación viral en las células blanco.

Estos resultados no solo han sumado a nuestro conocimiento, sino que también abrieron un abanico de preguntas que deberán abordarse para promover el avance de este campo de estudio. Entre los interrogantes que planteó Sadovsky aparece la incógnita acerca de la biogénesis de las VE, de la especificidad de moléculas que cargan y de cómo estas VE identifican a la célula blanco. Poco es lo que se sabe acerca de ello y sus estudios preliminares muestran que las células blanco tendrían receptores específicos para proteínas presentes en la membrana de la VE y que, además, las hormonas afectarían su función. En la actualidad, son muchas las ideas que impulsan la investigación acerca de las VE, pero se carece de las tecnologías apropiadas para probar estas ideas⁴. El desarrollo de tecnologías innovadoras permitirá profundizar en el estudio de las VE y eventualmente revelará nuevas propiedades estructurales y funcionales que las impulsarán a la vanguardia de la biomedicina.

REFERENCIAS

1. Gould SJ, Booth AM, Hildreth JE. The Trojan exosome hypothesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100:10592-7.
2. Srinivasan S, Yeri A, Cheah PS, Chung A, Danielson K, De Hoff P, et al. Small RNA sequencing across diverse biofluids identifies optimal methods for ex-RNA isolation. *Cell* 2019;177:446-62 e416.
3. Minciacci VR, Zijlstra A, Rubin MA, Di Vizio D. Extracellular vesicles for liquid biopsy in prostate cancer: where are we and where are we headed? *Prostate Cancer Prostatic Dis* 2017;20:251-8.
4. Margolis L, Sadovsky Y. The biology of extracellular vesicles: The known unknowns. *PLoS Biol* 2019;17(7):e3000363.

Título de la charla

Primeros pasos en la diferenciación del trofoblasto

Early steps in trophoblast differentiation

Conferencista: John Aplin, Departamento de Obstetricia y Ginecología
Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Universidad de Manchester, Manchester, Reino Unido
Publicado en *Placenta* 2019;83:8.

Autor del comentario: Yollyseth Medina
IFIBIO HOUSSAY UBA-CONICET
E-mail: yollysethm@gmail.com

COMENTARIO

El estudio de las primeras etapas del embarazo humano representa un reto para los investigadores, ya que los procesos de implantación y desarrollo placentario abarcan procesos únicos y exclusivos de la especie¹. El entorno materno, así como las condiciones del embrión, son fundamentales para que se lleve a cabo el proceso de implantación de manera exitosa. El crecimiento placentario es exponencial en el primer trimestre e involucra eventos coordinados del trofoblasto y el mesénquima, con eventos de segregación celular temprana que tienen una fuerte influencia en el potencial de crecimiento^{2,3}. Las alteraciones en estos eventos conllevan el desarrollo de diversas condiciones patológicas como aborto involuntario, preeclampsia, restricción del crecimiento fetal, entre otros. Pese a numerosos estudios, la comprensión etiológica de cada uno de estos eventos continúa siendo una “caja negra” para la comunidad científica, ya que los mecanismos biológicos implicados en cada patología aún no han sido dilucidados. No obstante, se ha descrito que diferencias en la biología celular del trofoblasto engloban las respuestas a todas las preguntas que enmarca la “caja negra” del origen de las enfermedades placentarias³.

El desarrollo de modelos *in vitro* ha sido fundamental para los avances en el estudio de los procesos de implantación de embriones y el desarrollo placentario^{1,3}. Durante muchos años, Aplin ha enfocado su investigación en el desarrollo de

estos modelos a fin de superar las limitaciones del estudio en estas etapas y realizó importantes aportes para el entendimiento de la proliferación del citotrofoblasto y el papel que cumplen las variaciones en la concentración de oxígeno en la regulación de TGF- β 3, fibronectina e integrina α 5 β 1^{3,4}. Durante su ponencia, interesantemente, analizó los nuevos resultados obtenidos a través de un innovador modelo *in vitro* que emplea células trofoblásticas primarias que forman un epitelio polarizado que permite la simulación de la barrera placentaria primaria, la que contiene redes capilares sanguíneas. A través de este, su grupo de trabajo ha realizado diversos hallazgos importantes sobre los mecanismos implicados en la interfaz materno-fetal durante el embarazo. El autor explica que la proliferación de líneas celulares placentarias es potenciada o inhibida, dependiendo de la estructura de la barrera placentaria o de la concentración del tipo celular presente en ella. Estas variables son controladas en el modelo expuesto mediante la formación de estructuras de dos capas (similar a la barrera placentaria al comienzo del embarazo). Para ello, emplearon la técnica de acumulación celular utilizando péculas de matriz extracelular (ECM) de tamaño nanométrico. Por otro lado, Aplin explica que la relación de las vellosidades placentarias con la membrana basal también modula la respuesta celular ante los diferentes cambios o tratamientos y muestra cómo se regula esta relación empleando colágeno de tipo IV y laminina⁵.

REFERENCIAS

1. Buse E, Häeger JD, Svensson-Arvelund J, Markert UR, Faas MM, Ernerudh J. The placenta in toxicology. Part I: Animal models in toxicology: placental morphology and tolerance molecules in the cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*). *Toxicol Pathol* 2014;42:314-26.
2. Kudo Y, Boyd CAR, Kimura H, Cook PR, Redman CWG, Sargent I.L. Quantifying the syncytialisation of human placental trophoblast BeWo cells grown in vitro. *Biochim Biophys* 2003;1640:25-31.
3. Aplin JD. Developmental cell biology of human villous trophoblast: current research problems. *Int J Dev Biol* 2010;54:323-9.
4. Aplin JD, Haigh T, Jones CJ, Church HJ, Vicovac LJ. Development of cytotrophoblast columns from explanted first trimester placental villi: role of fibronectin and integrin $\alpha 5 \beta$. *Biol Reprod* 1999;60:828-38.
5. Nishiguchi A, Gilmore C, Sood A, Matsusaki M, Collett G, Tannetta D, et al. In vitro placenta barrier model using primary human trophoblasts, underlying connective tissue and vascular endothelium. *Biomaterials* 2019;92:140-8.

Título de la charla

“Me amot no me amot”: mecanismos defectuosos del sentido de oxígeno en la preeclampsia interrumpen la función de angiomotina en la migración de células de trofoblasto

“Me amot no me amot”: faulty oxygen sensing mechanisms in preeclampsia disrupts angiomin function on trophoblast cell migration

Conferencista: Isabella Caniggia, MD, PhD

Investigadora Senior, Instituto de Investigación Lunenfeld-Tanenbaum, Hospital Mount Sinai. Profesora de Obstetricia, Ginecología y Fisiología, Universidad de Toronto, Toronto, Canadá. Presidenta de la Placenta Association of the Americas (PAA)

Publicado en *Placenta Journal*. *Placenta Issue* 83. Pages e1-e118

Autora del comentario: Julieta Reppetti

IFYBIO HOUSSAY UBA-CONICET

E-mail: juli.reppetti@gmail.com

COMENTARIO

La Dra. Isabella Caniggia es una destacada científica, reconocida internacionalmente por sus contribuciones al estudio de los mecanismos moleculares que regulan el desarrollo placentario normal y la desregulación en patologías gestacionales como la preeclampsia (PE) y la restricción del crecimiento intrauterino (RCIU).

Es sabido que se necesita que la migración e invasión de las células del trofoblasto ocurra de manera adecuada para garantizar la completa remodelación de las arterias espiraladas maternas, permitiendo un correcto desarrollo placentario indispensable para una gestación exitosa. Estos procesos son finamente regulados por múltiples factores, siendo fundamental la tensión de oxígeno¹.

Durante su conferencia en la reunión IFPA 2019, nos habló sobre una proteína que cumple múltiples funciones celulares, la angiomotina (AMOT), la cual es regulada por las tensiones de oxígeno en la placenta y por el factor de cre-

cimiento transformante beta (TGF- β). AMOT interviene en los procesos de migración celular induciendo cambios en la forma y la polaridad celular².

Los casos más severos de PE están asociados a una incompleta remodelación de las arterias uterinas, produciendo una inadecuada perfusión placentaria³. Caniggia demostró que la expresión, localización y función migratoria de AMOT se encuentran alteradas en la PE, producto de los bajos niveles de oxígeno presentes en esta patología. Además, señaló que existe una interacción entre AMOT y múltiples proteínas permitiendo la migración del trofoblasto y la vascularización de la placenta, ambos eventos alterados en la PE.

Son múltiples los aportes que han establecido Caniggia y su grupo de trabajo en lo que concierne a comprender los mecanismos subyacentes a la etiopatogenia de la PE. Estos estudios tienen como finalidad encontrar posibles estrategias terapéuticas para tratar la PE.

REFERENCIAS

1. Rolfo A, Many A, Racano A, Tal R, Tagliaferro A, Ietta F, Wang J, Post M, Caniggia I. Abnormalities in oxygen sensing define early and late onset preeclampsia as distinct pathologies. *PLoS One* 2010;5:e13288.
2. Wells CD, Fawcett JP, Traweger A, Yamanaka Y, Goudreault M, Elder K, Kulkarni S, Gish G, Virag C, Lim C, Colwill K, Starostine A, Metalnikov P, Pawson T. A Rich1/AMOT complex regulates the Cdc42 GTPase and apical-polarity proteins in epithelial cells. *Cell* 2006;125:535-48.
3. Soleymanlou N, Jurisica I, Nevo O, Ietta F, Zhang X, Zamudio S, Post M, Caniggia I. Molecular evidence of placental hypoxia in preeclampsia. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:4299-308.

Título de la charla

Células inmunes en la interfaz materno-fetal: cómo contribuye el microambiente en la tolerancia del embarazo

Immune cells at the materno-fetal interface: How microenvironment contributes to the pregnancy tolerance

Conferencista: Ana Claudia Zenclussen

Experimental Obstetrics and Gynecology, Medical Faculty, Otto-von-Guericke University, Magdeburg, Alemania
Publicado en *Placenta* 2019;83:e7S2.

Autoras del comentario: Ana Schafir y Soledad Gori

Laboratorio de Inmunofarmacología, IQUIBICEN-CONICET, Departamento de Química Biológica, FCEN-UBA

E-mail: msoledadgori@gmail.com

COMENTARIO

La interfaz materno-fetal, compuesta por el trofoblasto placentario y la decidua materna, es un tejido altamente especializado con una función única y limitada en el tiempo: nutrir y soportar el desarrollo del feto semialogénico.

El endometrio, al sufrir regeneración cíclica y remodelación en respuesta a las hormonas sexuales, genera condiciones microambientales fluctuantes. Esto conlleva una dinámica particular en el reclutamiento de células inmunes a él. Debido a la plasticidad que las caracteriza, estas células presentan una gran capacidad de adaptación al microambiente en el cual residen o están siendo reclutadas. Un microambiente uterino óptimo reflejará la calidad de la respuesta inmune materna y, a su vez, el éxito del embarazo. Para que haya una “convivencia exitosa” entre el feto y la madre se necesita un balance finamente orquestado entre los diferentes *subsets* de células inmunes y mediadores involucrados.

Por todo esto, resulta relevante comprender cómo las células inmunes son educadas dentro de estos tejidos y cómo adquieren fenotipos y funciones únicas en consecuencia. Contando con años de experiencia en el estudio de esta temática, Zenclussen nos deleitó con su conferencia “Simbiosis inmunológica materno-fetal”, en la cual presentó los avances de su equipo

de investigación sobre los cambios que sufre el sistema inmunitario materno para lograr el mantenimiento del embarazo y la influencia de las hormonas en este. A continuación, destacaremos algunos de los puntos más importantes.

Hoy es sabido que tanto el feto como la madre interactúan desde el inicio del embarazo y generan un “diálogo inmunológico” que involucra mecanismos reguladores locales. Entre ellos, las células inmunes maternas generarán tolerancia inmunológica a aloantígenos fetales, suprimirán la inflamación y contribuirán a la remodelación de las arterias uterinas para facilitar la función placentaria y el crecimiento fetal¹.

Con la llegada de antígenos paternos a la circulación materna, se genera una respuesta inmune tolerogénica caracterizada por la presencia de células dendríticas inmaduras, expansión de linfocitos T reguladores (Treg), inhibición de los perfiles proinflamatorios (Th1 y Th17) y la inducción de linfocitos B productores de IL-10.

En relación con los Treg, Zenclussen y su equipo acuñaron el término *baby's best friends* debido al gran potencial que tiene esta población para proteger al feto del ataque del sistema inmunitario materno². Su indispensable rol en la inducción de la tolerancia fetal fue demostrado en muchos estudios. Particularmente, se ha demostrado que para lograr una implantación embrio-

naria exitosa es un prerequisite la presencia en el útero de un número suficiente de Treg con funcionalidad adecuada. De acuerdo con ello, una deficiencia en esta población de linfocitos T se ha observado en el endometrio de las pacientes con fallas recurrentes en la implantación³.

En el estadio periimplantacional, los Treg pueden ser reclutados o inducidos en la interfaz materno-fetal mediante factores producidos por el embrión y el trofoblasto, como la gonadotropina coriónica humana (hCG). Zenclussen y su equipo demostraron que la hCG está crucialmente implicada tanto en los procesos de implantación como de placentación. Como es una de las primeras señales del embrión a la madre, se considera que la hCG determina el destino del embarazo al influir profundamente en las respuestas inmunitarias maternas tempranas, asegurando así el establecimiento y la preservación de la tolerancia fetal³.

En un estudio reciente, la terapia combinada de hCG con inmunoglobulina ha demostrado la capacidad de modificar la relación Th17/Treg en favor de estas últimas, restableciendo el desequilibrio que se había detectado en las pacientes con aborto recurrente espontáneo inexplicable⁴.

Esta terapia también modificó la secreción de citoquinas aumentando las características de las Treg³. Sin embargo, son necesarios más estudios para confirmar su utilidad clínica.

A partir de esta charla, podemos concluir que el desequilibrio en el balance finamente orquestado de determinados *subsets* de células inmunes y mediadores presentes en la interfaz materno-fetal puede conducir a un compromiso en la fertilidad y a una mayor probabilidad de trastornos del embarazo. El desarrollo de estrategias que tengan como *target* estas células o sus mediadores presenta un enorme potencial como tratamiento novedoso para estos trastornos comunes.

REFERENCIAS

1. Schumacher A, Sharkey DJ, Robertson SA, Zenclussen AC. Immune Cells at the Fetomaternal Interface: How the Microenvironment Modulates Immune Cells To Foster Fetal Development. *J Immunol* 2018;201:325-34.
2. Teles A, Zenclussen AC, Schumacher A. Regulatory T Cells are Baby's Best Friends. *Am J Reprod Immunol* 2013;69:331-9.
3. Schumacher A. Human Chorionic Gonadotropin as a Pivotal Endocrine Immune Regulator Initiating and Preserving Fetal Tolerance. *Int J Mol Sci* 2017;18:2166.
4. Figueiredo AS, Schumacher A. The T helper type 17/regulatory T cell paradigm in pregnancy. *Immunology* 2016;148:13-21.

Título de la charla

La oposición a células epiteliales endometriales activa a los blastocistos de ratón para la implantación

Apposition to endometrial epithelial cells activates mouse blastocysts for implantation

Conferencista: John Aplin

Universidad de Manchester. Manchester, Reino Unido

Publicado en *Placenta* 2019;83:e8.

Autores del comentario: Laura Fernández y Esteban Grasso

CONICET, Universidad de Buenos Aires, Instituto de Química Biológica, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (IQUIBICEN).

Laboratorio de Inmunofarmacología, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

Email: lauferandez@qb.fcen.uba.ar

COMENTARIO

El estudio de las etapas tempranas de la generación de la interfaz materno-fetal representa un gran desafío no solo por su complejidad, sino también por la falta de modelos con animales adecuados para su estudio. En este sentido, el desarrollo de modelos *in vitro* que permitan estudiar los procesos moleculares de la implantación se ha vuelto fundamental para entender estos procesos. En esta charla en el

Congreso IFPA 2019-VIII SLIMP, el Dr. Aplin nos muestra los avances realizados por su grupo de investigación a través del uso de modelos *in vitro* con blastocistos y líneas celulares.

En trabajos ya publicados^{1,2}, el grupo de Aplin estudió la interacción entre el embrión y el epitelio endometrial mediante el cocultivo entre embriones de ratón y la línea celular Ishikawa de epitelio endometrial humano (derivada de adenocarcinoma endometrial). Utilizando

este modelo, mostraron que blastocistos de 5,5 días de desarrollo son capaces de establecer una adhesión estable con el epitelio endometrial; sin embargo, solo aquellos en contacto con el epitelio desde el día 4,5 lograron penetrar el epitelio luego de la etapa de adhesión. Más aún, determinaron que este contacto inicial, que permite la posterior invasión, requiere interacciones juxtacrinas (contacto directo célula-célula) entre el embrión y el epitelio, dado que la comunicación exclusivamente paracrina no permitió el posterior desarrollo de esta capacidad invasora.

En la misma charla, Aplin mostró resultados obtenidos con embriones humanos. En línea con los resultados anteriores, junto con su grupo observaron una adhesión estable de los embriones sobre las células epiteliales endometriales, lo cual fue acompañado de la posterior aparición de focos de sincicio primario que invadieron el epitelio. Actualmente, se están enfocando en estudiar los linajes tempranos del trofoblasto que inician el desarrollo de la placenta. Su hipótesis es que antes de la interacción con las células uterinas, ya hay presentes en el trofoectodermo subpoblaciones celulares que anticipan las características del

trofoblasto diferenciado, que surgen luego de la adhesión al epitelio. Para ello, realizaron un análisis transcripcional de células individuales (*single cell sequencing*), el cual por el momento ha revelado que, entre los días 5 y 7 del desarrollo embrionario humano van apareciendo algunas poblaciones minoritarias de células del trofoectodermo, algunas de las cuales muestran una fuerte similitud transcripcional con las células del sincicio primario.

Los trabajos presentados por Aplin contribuyen al entendimiento del diálogo materno-embriionario que media los estadios tempranos del embarazo. Estos conocimientos son de vital importancia para el desarrollo de nuevos tratamientos para patologías reproductivas, como las fallas de implantación en las técnicas de fertilización asistida.

REFERENCIAS

1. Ruane P, Berneau S, Koeck R, Watts J, Kimber S, Brison D, Westwood M, Aplin J. Apposition to endometrial epithelial cells activates mouse blastocysts for implantation. *Mol Hum Reprod* 2017;23(9):617-27.
2. Aplin J, Bennie S, Brison D, Westwood M, Stevens A, Ruane P. Early steps in trophoblast differentiation. *Placenta* 2019;83:e8.

Título de la charla

Perspectivas epidemiológicas, clínicas y moleculares sobre la fisiopatología de la placenta anormalmente invasiva (AIP)

Epidemiological, clinical and molecular insights into the pathophysiology of Abnormally Invasive Placenta (AIP)

Conferencista: Stacy Zamudio
Hackensack University Medical Center, NJ, Estados Unidos.
Publicado en *Placenta* 2019;83:e1-e118

Autora del comentario: Nataly de Dios

Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Departamento de Química Biológica. Instituto de Química Biológica de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (IQUIBICEN) CONICET. Ciudad Universitaria Pabellón 2, 4° piso, (1428). Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.
E-mail: natalydedios@gmail.com

COMENTARIO

La Dra. Zamudio se formó en Biología Evolutiva y Antropología en la Universidad de California, Los Ángeles, y en la Universidad de Colorado, en Boulder. Su tema de investigación se enfoca en el estudio del efecto de la hipoxia en la placenta en embarazos con complicaciones

como la placenta acreta y la preeclampsia. Ha publicado más de 80 artículos sobre fisiología, genética, epidemiología placentaria e interacción materno-fetal. Es una líder en la especialidad y su amplio trabajo abarca el estudio del proceso de invasión trofoblástica durante la formación de la placenta humana en donde se evidencian dife-

rentes patologías del embarazo. Por ejemplo, la placenta anormalmente invasiva (AIP), también conocida como placenta acreta, que comienza con una implantación defectuosa y posterior invasión placentaria excesiva que puede conducir a un riesgo significativo de hemorragia materna.

La incidencia de AIP ha aumentado bruscamente en los últimos años en el mundo contribuyendo a un incremento en la tasa de morbilidad y mortandad materna y neonatal. En América del Norte, se ha observado una asociación entre las tasas en la población de parto por cesárea y la AIP. Recientemente, se han establecido métodos para la cuantificación de marcadores por ultrasonido para el diagnóstico de AIP. En concordancia con este avance el grupo de Zamudio desarrolló un novedoso método cuantitativo de diagnóstico basado en el Doppler-3D-Power. De acuerdo con esta metodología, se determina la mayor área de confluencia en la interfaz uteroplacentaria y se compara con la de mujeres que han sido diagnosticadas con AIP y mujeres del grupo de control. Luego se han graficado curvas con valor predictivo de AIP que requieran cesárea con histerectomía. Sus cualidades son versátiles, dado que no requiere la interpretación experta de la escala de grises de los métodos tradicionales, sino que predice la severidad del cuadro clínico. Mediante esta técnica, su grupo de trabajo ha demostrado, por primera vez, una fuerte relación entre la AIP y las consecuencias neonatales adversas¹.

Por otro lado, Zamudio ha estudiado durante mucho tiempo la influencia de la hipoxia en el desarrollo fetoplacentario y en la manifestación de la preeclampsia en la biología perinatal. Dado que los estímulos hipóxicos artificiales en modelos animales o celulares son de gran utilidad, no se puede asegurar fehacientemente que imiten las condiciones patológicas atribuidas al estrés hipóxico *in vivo*, por lo que ha desarrollado un modelo de estudio que se centra en la influencia de la presión de oxígeno en el desarrollo vascular placentario asociado al experimento natural que ofrece la residencia a gran altitud (> 2700 m), el cual es utilizado para distinguir la patología de la adaptación en el embarazo humano². Este modelo ocasiona como resultado la reducción del crecimiento fetal y una mayor incidencia de preeclampsia. Se ha enfocado en cómo la hipoxia placentaria está casualmente involucrada en el desarrollo de este síndrome, centrándose en cómo los datos de distintos es-

tudios de embarazadas a gran altura apoyan modelos etiológicos de preeclampsia. Su grupo de trabajo observó que el estrés oxidativo y la disfunción endotelial tienen orígenes fisiopatológicos independientes de la hipoxia placentaria y que la altitud cambia el riesgo individual para el desarrollo de preeclampsia debido a los impactos en múltiples sistemas fisiológicos². Su amplio trabajo puede proporcionar información útil sobre la etiología de las condiciones patológicas que se cree que están asociadas con la hipoxia placentaria.

En los últimos años, Zamudio complementó el estudio de la etiología de la AIP analizando la transición del epitelio mesenquimatoso (EMT) que se evidencia durante la invasión trofoblástica. En este proceso el citotrofoblasto (CTB) placentario de características epiteliales se diferencia a trofoblasto invasor extraveloso (EVT) de fenotipo mesenquimatoso. Su grupo ha comparado las características epiteliales y mesenquimatosas de CTB y EVT derivados de placentas normales del tercer trimestre normal, con placentas anormalmente invasoras. Al analizar los cambios en la expresión de genes asociados a la EMT en CTB y EVT de placentas normales del tercer trimestre, observaron cambios en más del 70% de los genes analizados. Demostraron que varios de los cambios en el patrón de expresión de genes en los EVT del tercer trimestre se encontraban reducidos respecto de los EVT del primer trimestre. Por otro lado, observaron que los EVT provenientes de AIP del tercer trimestre presentan características que son más mesenquimatosas que el EVT proveniente de placentas normales, colocándolas más cerca del EVT del primer trimestre en el espectro EMT, lo que es compatible con un fenotipo más invasor^{3,4}.

REFERENCIAS

1. Collins SL, Stevenson GN, Al-Khan A, Illsley NP, Impey L, Pappas L, Zamudio S. Three-Dimensional Power Doppler Ultrasonography for Diagnosing Abnormally Invasive Placenta and Quantifying the Risk *Obstet Gynecol* 2015;126(3):645-53.
2. DaSilva-Arnold SC, Zamudio S, Al-Khan A, Alvarez-Perez J, Mannion C, Koenig C, et al. Human trophoblast epithelial-mesenchymal transition in abnormally invasive placenta. *Biol Reprod* 2018;99(2):409-21.
3. Zamudio, S. High-altitude hypoxia and preeclampsia. *Front Biosci*. 2007 May; 12:2967-77.
4. Zamudio, S. The placenta at high altitude. *High Alt Med Biol*. 2004 Jul; 4 (2): 171-91.

Título de la charla

Intervenciones para prevenir la programación fetal adversa debido a la obesidad materna

Interventions to prevent adverse fetal programming due to maternal obesity

Conferencista: Elena Zambrano

Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Subirán, México

Publicado en *Placenta* 2019;83:e7S2.

Autora del comentario: María Florencia Heinecke

Laboratorio de Reproducción y Metabolismo, CEFYBO-CONICET-UBA, Facultad de Medicina, UBA, Paraguay 2155, piso 17,

C1121ABG, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

E-mail: florheinecke@hotmail.com

COMENTARIO

La prevalencia de la obesidad en mujeres en edad reproductiva está aumentando año tras año en los países desarrollados y en vías desarrollo de todo el mundo. Los estudios en seres humanos y en animales indican que la obesidad materna afecta negativamente tanto la salud materna como la descendencia, lo que los predispone al desarrollo de enfermedades crónicas en etapas posteriores de la vida, incluidas obesidad, dislipidemia, diabetes mellitus tipo 2 e hipertensión. La hipótesis de los orígenes del desarrollo de la salud y la enfermedad (DOHaD) se basa en que hay ventanas críticas durante el desarrollo y las interrupciones ambientales, que durante estas etapas de la vida pueden conducir a cambios sutiles en la expresión génica, organización de tejidos u otros niveles de organización biológica que llevan a una disfunción permanente que conduce a una mayor susceptibilidad a la enfermedad¹. Por ello, la autora destaca la necesidad de intervenciones efectivas durante el embarazo para prevenir la disfunción metabólica materna y de la descendencia debido a la obesidad materna². En su conferencia habló sobre los estudios en roedores de cinco distintas intervenciones maternas para prevenir la programación fetal de alteraciones metabólicas. A continuación se resumen las intervenciones y algunos de sus resultados.

Aguamiel

Las madres obesas fueron tratadas con bacterias aisladas del aguamiel utilizándolas como probiótico. Se mejoraron los parámetros metabólicos y disminuyeron el peso corporal y la esteatosis hepática³.

DHA

Se efectuó otra intervención con DHA, un ácido graso esencial poliinsaturado de la serie del

omega-3, el cual es clave para las funciones metabólicas de la descendencia, incluida la maduración del cerebro⁴.

Resveratrol

Se trató a las madres obesas con resveratrol, un antioxidante, y se observó una disminución en el estrés oxidativo y una reducción de la grasa en el hígado materno⁵.

Intervención dietaria

A animales obesos se les cambió la dieta por una estándar antes de la gestación y durante la gestación y la lactancia. Se observó que mejoraban parcialmente la insulinoresistencia y el metabolismo de la descendencia, con disminución de los lípidos en el hígado².

Ejercicio materno

Estudiaron los efectos del ejercicio materno en ratas obesas antes y durante la gestación en las madres y la descendencia. El ejercicio no cambió el peso materno, pero evitó completamente el aumento de triglicéridos maternos y mejoró el metabolismo de la descendencia². La autora hizo hincapié en el término “programación positiva” evidenciando que el mejor panorama de sus estudios es el ejercicio con una dieta de control.

Todas estas evidencias apoyan la necesidad de implementar estrategias de prevención eficaces contra la obesidad a fin de frenar la tendencia ascendente. Estas estrategias preventivas deben iniciarse con la identificación temprana de los sujetos de mayor riesgo y poner el foco especialmente en las mujeres de manera previa y durante la gestación. Los cambios en el estilo de vida y el estado nutricional durante y antes

del embarazo pueden disminuir el daño permanente a la salud de la prole; por lo tanto, la prevención de la obesidad debería ser el objetivo más que el tratamiento².

REFERENCIAS

1. Rodriguez-Gonzalez GL, Castro-Rodriguez DC, Zambrano E. Pregnancy and Lactation: A Window of Opportunity to Improve Individual Health. *Methods Mol Biol* 2018;1735:115-44.
2. Zambrano E, et al. Maternal Obesity: Lifelong Metabolic Outcomes for Offspring from Poor Developmental Trajectories During the Perinatal Period. *Arch Med Res* 2016;47:1-12.
3. Castro-Rodriguez DC, et al. Leuconostoc mesenteroides subsp. mesenteroides SD23 Prevents Metabolic Dysfunction Associated with High-Fat Diet-Induced Obesity in Male Mice. *Probiotics Antimicrob Proteins* 2019.
4. Bautista CJ, et al. Effects of maternal protein restriction during pregnancy and lactation on milk composition and offspring development. *Br J Nutr* 2019;10122:141-51.
5. Vega CC, et al. Resveratrol partially prevents oxidative stress and metabolic dysfunction in pregnant rats fed a low protein diet and their offspring. *J Physiol* 2016;594:1483-99.

NOVEDAD BIBLIOGRÁFICA

Controversias en el cribado y los criterios de diagnóstico de la diabetes gestacional en el embarazo temprano y tardío

Controversies in screening and diagnostic criteria for gestational diabetes in early and late pregnancy

Evelyn A. Huhn, Simona W. Rossi, Irene Hoesli y Christian S. Göbl
Front Endocrinol (Lausanne) 2018;696.

Resumen

Esta revisión evalúa estrategias de cribado (*screening*) y diagnóstico para la diabetes gestacional y la diabetes manifiesta en el embarazo. Se centra en los diferentes enfoques de detección temprana y diagnóstico en el primer trimestre, que incluyen glucosa plasmática en ayunas, glucosa plasmática al azar, prueba de tolerancia oral a la glucosa, hemoglobina A1c, modelos de predicción de riesgo y biomarcadores. Actualmente, no se recomienda la detección temprana de la diabetes gestacional, ya que los beneficios y los daños potenciales de la detección temprana y el tratamiento posterior deben evaluarse más a fondo en ensayos controlados y aleatorizados.

Se sabe que la diabetes mellitus gestacional (DMG) se manifiesta en la segunda mitad del embarazo en el marco de una profunda resistencia a la insulina fisiológica. Por lo tanto, la DMG se diagnostica normalmente después de las 24 semanas de gestación. La detección y el diagnóstico de DMG varían ampliamente

entre las especialidades médicas y entre los países. Las áreas controvertidas que rodean la detección de la DMG incluyen recomendaciones que no proyectan en absoluto un enfoque universal frente a un enfoque selectivo basado en el tiempo y los métodos de detección óptimos de cribado (glucosa plasmática en ayunas [FPG], glucosa plasmática al azar [RPG], prueba de tolerancia oral a la glucosa [TCG]) o criterios de diagnóstico (uno o dos pasos, 75 frente a 100 g de carga de glucosa, si se requieren uno o dos valores anormales para el diagnóstico) y valores de corte apropiados. Además, se debate sobre la relevancia del tratamiento de formas más leves de DMG diagnosticadas y sobre la rentabilidad de las diferentes estrategias de diagnóstico o detección. Este artículo proporciona una actualización sobre las estrategias de diagnóstico y detección para la DMG y la diabetes manifiesta. Asimismo, se analizan los últimos desarrollos relacionados con la detección temprana de la DMG en el primer trimestre.