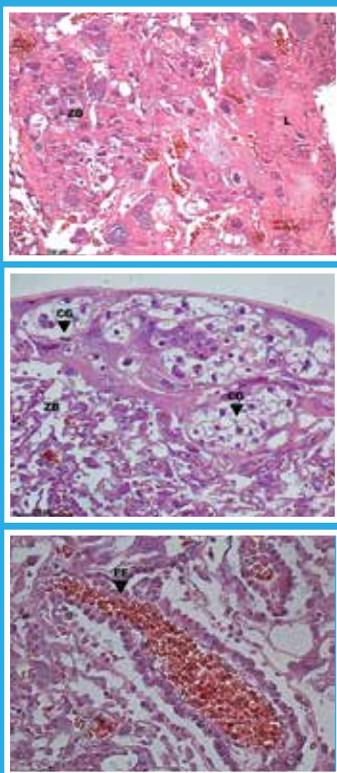


# Revista de la Sociedad Argentina de Endocrinología Ginecológica y Reproductiva



## Contenido de este número:

- Participación del receptor LPA3 en el desarrollo de la placenta a término
- Microbiota, obesidad y dieta
- Cribado de portadores de enfermedades monogénicas. Asesoramiento genético preconcepcional
- Reconstrucción unicelular de la interfaz maternofoetal temprana en seres humanos
- Aborto recurrente. Comentarios sobre aspectos anatómicos, factor masculino, factores genéticos y trombofilias de la Guía de la Sociedad Europea de Reproducción Humana y Embriología. (ESHRE) 2017.

# Revista de la Sociedad Argentina de Endocrinología Ginecológica y Reproductiva



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

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

## COMISIÓN DIRECTIVA 2018

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

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

## COMISIÓN REVISORA DE CUENTAS

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

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

## COMITÉ EDITORIAL

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

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

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

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

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

Magíster en Psiconeuroinmunoendocrinología Universidad Favaloro, CABA, Argentina, Fellow del American College of Gynecology and Obstetrics. **Dra. Luciana Porrati**, Médica Ginecóloga y Obstetra, Especialista en Medicina Endocrina y Reproductiva, Médica asociada en el Instituto de Ginecología y Fertilidad (IFER), Médica de la Sección de Reproducción del Hospital Bernardino Rivadavia, CABA, Argentina. **Dra. Mariela Bilotas**, Doctora en Ciencias Biológicas (UBA), Investigadora Adjunta del CONICET, Laboratorio de Inmunología de la Reproducción, IBYME-CONICET. **Dra. Rosanna Ramhorst**, Doctora en Ciencias Biológicas, Universidad de Buenos Aires (UBA), Investigadora Independiente del CONICET, Laboratorio de Inmunofarmacología IQUBICEN-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° 15769023. ISSN 1515-8845 (impresa)  
ISSN 2469-0252 (en línea)  
Periodicidad: semestral

## Edita:

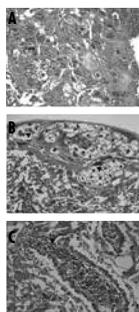
Sello Editorial Lugones® de Editorial Biotecnológica S.R.L.  
Socio Gerente: Facundo Lugones  
Jefa de Redacción: Lic. María Fernanda Cristoforetti  
Coordinación Editorial: Ed. Carolina Bustos  
Av. Acoyte 25, 4° piso, of. E (C1405BFA), CABA, Argentina. Tel.: (011) 4903-1090/2210  
E-mail: administracion@lugones.com.ar  
www.lugoneseditorial.com.ar

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

Imprenta: Sello Editorial Lugones® Editorial Biotecnológica S.R.L., Av. Acoyte 25, 4° E (1405) CABA, Argentina

La presente edición está impresa en papel libre de cloro.

## Tapa



**Participación del receptor LPA3 en el desarrollo de la placenta a término.** La ablación farmacológica del receptor LPA3 durante la implantación embrionaria modula eventos relevantes, como la decidualización, que presentan consecuencias sobre la placentación y el desarrollo fetal, lo que compromete el éxito de la gestación. El análisis histológico de las placentas exhibe diferencias entre aquellas provenientes del cuerno uterino inyectado con DGPP y los tejidos placentarios provenientes del cuerno control.

**A)** Placentas provenientes del cuerno control que presentan una arquitectura conservada del tejido donde se distinguen las tres zonas características de la placenta de rata a término: la decidua basal, que contiene las arterias espiraladas; las células gigantes del trofoblasto ubicadas en la zona basal y el laberinto que contiene la sangre materna y la fetal. **B)** Las placentas correspondientes a los sitios no reabsorbidos presentes en los cuernos inyectados con DGPP exhiben un engrosamiento de la zona basal con un incremento notable de células trofoblásticas gigantes y de glucógeno. **C)** Mayor aumento del gran aumento de la extravasación eritrocitaria presente en la decidua basal. La zona basal es rica en células de glucógeno que constituyen una importante fuente de lípidos y azúcares, sugiriendo que esta alteración podría denotar una respuesta del tejido frente a la lesión con el fin de continuar supliendo los nutrientes necesarios para el desarrollo y crecimiento del embrión. L: laberinto, ZB: zona basal, CG: células de glucógeno, EE: extravasación eritrocitaria.

Autoras: Micaela S. Sordelli, Jimena S. Beltrame, Vanesa A. Cañumil, María Laura Ribeiro.

## Comité Científico

### Presidente

Dr. Gabriel Fiszzbajn

### Integrantes

Dr. Manuel Nölting  
Dr. Sebastián Gogorza  
Dra. Susana Kopelman  
Dra. Nora Moses  
Dra. Alicia Jawerbaum  
Dr. Domingo Mugnolo  
Dra. María Teresa Nofal  
Dra. María Belén Pérez Lana  
Dra. Claudia Peyrallo  
Dra. Susana Pilnik

## Directores de Cursos

### Capacitación Superior Buenos Aires

Dr. Sandra Demayo  
Dra. Laura Mitelberg  
Dra. Gabriela Pundyk  
Dra. Karina Sternberg

### Capacitación Superior Córdoba

Dr. Natalio Kuperman  
Dra. Viviana Mesch  
Dra. Mónica Nãñez  
Dra. Lorena Giannoni

### I Curso Anual de Endocrinología Ginecológica y Reproductiva

Ushuaia - Río Grande  
Dr. Fabián Gomez Giglio  
Dra. Adriana Monastero  
Dra. Karina Tozzi  
Dra. Carolina Yulán

## Coordinadores de Cursos

### De Buenos Aires

Dra. Yamile Mocarbel  
Dra. María Alejandra Palma Landeau  
Dra. Valeria Servetti

### De Ushuaia- Río Grande

Dra. Gisela Di Pietro  
Dra. María Fernanda González de Chazal  
Dra. Valeria Servetti

### De Córdoba

Dra. Vanina Drappa  
Dra. Mariana Angeloni

## Comité de Certificación y Recertificación

### Coordinadoras

Dra. Susana Kopelman  
Dra. Roxana Reynoso

## Miembros

Dr. Manuel Nölting  
Dr. Héctor Miechi  
Dra. Viviana Mesch

## Comunicación Institucional

Dra. Lorena Giannoni  
Dra. Valeria Servetti

## Delegados Sociedades Internacionales

Dr. Manuel Nölting  
Dra. Susana Pilnik

## Filiales

### Filial Sur

Director: Dr. Fabián Gómez Giglio

### Filial NOA

Director: Dr. Néstor Zurrueta

### Filial Litoral

Director: Dr. Héctor Miechi

### 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

- Participación del receptor LPA3 en el desarrollo de la placenta a término 1  
Micaela S. Sordelli, Jimena S. Beltrame, Vanesa A. Cañumil, María Laura Ribeiro

### ACTUALIZACIÓN

- Microbiota, obesidad y dieta 11  
Fiorella Sabrina Belforte, Alberto Penas Steinhardt

### REVISIÓN

- Cribado de portadores de enfermedades monogénicas. Asesoramiento genético preconcepcional 17  
Laura Igarzábal

### ANÁLISIS CRÍTICOS POR EXPERTOS DE TRABAJOS SELECCIONADOS

- Reconstrucción unicelular de la interfaz materno-fetal temprana en seres humanos 29  
Comentario: Dra. Claudia Pérez Leirós

### COMENTARIO BIBLIOGRÁFICO

- Aborto recurrente. ESHRE Guía de la Sociedad Europea de Reproducción Humana y Embriología. Noviembre de 2017 32  
Comentario sobre aspectos anatómicos: Dr. Guillermo Marconi  
Comentario sobre factor masculino: Dr. Gastón Rey Valzacchi  
Comentario sobre factores genéticos: Dra. Liliana Alba  
Comentario sobre trombofilias: Dra. Beatriz E. Grand

### NOVEDAD

- Microbiota cervicovaginal, salud de la mujer y resultados reproductivos 41
- Importancia de evaluar la microbiota uterina en la infertilidad 42

## INDEX

### ORIGINAL ARTICLE

- *Participation of LPA3 receptor in placenta development at term* 1  
*Micaela S. Sordelli, Jimena S. Beltrame, Vanesa A. Cañumil, María Laura Ribeiro*

### UPDATE

- *Microbiota, obesity and diet* 11  
*Fiorella Sabrina Belforte, Alberto Penas Steinhardt*

### REVIEW

- *Preconception carrier screening for monogenic disorders* 17  
*Laura Igarzábal*

### CRITICAL ANALYSIS OF SELECTED ARTICLES: EXPERTS' OPINIONS

- *Single-cell reconstruction of the early maternal-fetal interface in humans* 29  
*Comment: Dra. Claudia Pérez Leirós*

### ARTICLE COMMENTS

- *Recurrent pregnancy loss. Guideline of the European Society of Human Reproduction and Embryology. November 2017* 32  
Comment on anatomic aspects: Dr. Guillermo Marconi  
Comment on male factor: Gastón Rey Valzacchi  
Comment on genetics factors: Dra. Liliana Alba  
Comment on thrombophilia: Dra. Beatriz E. Grand

### NOVEL

- *Cervicovaginal microbiota, women's health, and reproductive outcomes* 41
- *Relevance of assessing the uterine microbiota in infertility* 42

## 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](mailto: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.

# Participación del receptor LPA3 en el desarrollo de la placenta a término

## Participation of LPA3 receptor in placenta development at term

\*Micaela S. Sordelli, \*Jimena S. Beltrame, Vanesa A. Cañumil y María Laura Ribeiro

Laboratorio de Fisiología y Farmacología de la Reproducción, CEFYBO, CONICET, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

Contacto de la autora: Micaela Sordelli

E-mail: micaelasordelli@yahoo.com.ar

Correspondencia: Laboratorio de Fisiología y Farmacología de la Reproducción, CEFYBO, CONICET, Facultad de Medicina. Paraguay 2155, piso 16, CABA.

Recibido: 24/10/2018 Aceptado: 24/1/2019

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

\*Ambas autoras contribuyeron igualmente al desarrollo del trabajo.

### Resumen

**Objetivo:** previo a la redacción del presente manuscrito hemos publicado estos resultados que hoy consideramos como antecedentes. El ácido lisofosfatídico promueve la decidualización en el útero de rata vía el receptor LPA3. Por lo tanto, el objetivo fue investigar la participación de LPA3 en el desarrollo de la placenta a término.

**Materiales y métodos:** un grupo de ratas Wistar en el día 5 de preñez recibió una dosis intrauterina de DGPP (antagonista de LPA3) o vehículo (control) y se las sacrificó en el día 21. Previamente describimos que este tratamiento aumenta la reabsorción embrionaria sin modificar el número de sitios de implantación. Por lo tanto, en los sitios controles fue posible discriminar la placenta, el útero y la decidua. En los sitios reabsorbidos se aislaron la unidad feto-placentaria, el útero y el botón decidual. Se realizaron estudios macroscópicos y microscópicos.

**Resultados:** no se observaron diferencias en la morfología histológica del útero proveniente de los sitios de implantación control y no reabsorbido frente a los reabsorbidos presentes en el cuerno tratado con DGPP. Las placentas control presentaron una arquitectura tisular conservada acorde con su edad gestacional. Sin embargo, las placentas de los sitios no reabsorbidos exhibieron una zona basal engrosada con un aumento en el contenido de glucógeno y de células gigantes. Las placentas de los sitios reabsorbidos presentaron una arquitectura totalmente desorganizada, con grandes depósitos de fibrina, núcleos picnóticos, extravasación eritrocitaria e infiltración con neutrófilos.

**Conclusiones:** la ablación farmacológica del receptor LPA3 durante la implantación embrionaria modula eventos relevantes, como la decidualización, que tienen consecuencias sobre la placentación y el desarrollo fetal, comprometiendo el éxito de la gestación.

**Palabras clave:** ácido lisofosfatídico, LPA3, implantación, decidualización, placentación.

Revista de la Sociedad Argentina de Endocrinología Ginecológica y Reproductiva 2019; Vol. XXVI N° 1 Enero - junio de 2019: 1-11

### Abstract

**Objective:** we previously observed that lysophosphatidic acid modulates decidualization in the rat uterus through LPA3 receptor. Therefore, the aim of this study was to investigate the role of LPA3 in placenta development at term.

**Materials and methods:** Wistar rats on day 5 of pregnancy received an intra-uterine dose of DGPP (LPA3 receptor antagonist) or vehicle (control). Rats on day 21 of gestation were sacrificed. Previously we described that this treatment induces embryonic resorption without changes in the number of implantation sites. Therefore, in the control horn, the placenta, the uterus and the decidua were extracted. In the DGPP horn, the feto-placental units, the uterus and the decidua were separated. Micro and macroscopic studies were performed.

**Results:** histological studies of the uterus show no morphological differences between control, non-resorbed and resorbed implantation sites. Placentas obtained from control sites, exhibited the typical architecture for their gestational age. However, placentas from not resorbed sites showed a wider basal zone with an increase in the glycogen content and the number of giant cells. Finally, placentas from resorbed sites displayed a completely disorganized structure with fibrin deposits, picnotic nuclei, erythrocyte extravasation and neutrophil infiltration.

**Conclusions:** the pharmacological ablation of LPA3 receptor during the window of implantation modulates primordial events as decidualization that has strong consequences in placentation and the well-being of the fetuses, thus affecting pregnancy outcome.

**Key words:** lysophosphatidic acid, LPA3, implantation, decidualization, placentation.

Revista de la Sociedad Argentina de Endocrinología Ginecológica y Reproductiva 2019; Vol. XXVI N° 1 Enero - junio de 2019: 1-11

### INTRODUCCIÓN

En la especie humana, sólo el 30% de los embriones fecundados logran implantarse, es decir que solo un tercio de los ciclos en los que hubo fecundación terminan en un embarazo. Estas cifras impactan en la salud materno-fetal si se tiene en cuenta que 300.000 mujeres mueren por año en el mundo debido a complicaciones

durante el embarazo y el parto<sup>1</sup>. El 99% de estas muertes suceden en países en vías de desarrollo y en la mayoría de los casos podrían reducirse si se implementara un sistema preventivo de cuidados obstétricos. Además, la Declaración de las Naciones Unidas ha establecido como cuarto objetivo de desarrollo del milenio reducir la mortalidad infantil y como quinto, mejorar la salud materno-fetal<sup>2</sup>.

En particular, en la Argentina se estima que la prevalencia de la infertilidad oscila entre el 10% y el 15% de la población en edad reproductiva y se calcula que un millón y medio de parejas tendrían dificultades para procrear en algún momento de su vida (Centro de Investigaciones en Medicina Reproductiva, CIMER). El Ministerio de Salud bonaerense informó que los hospitales provinciales reciben unas 5.000 consultas anuales por problemas de fecundidad, lo que pone de relevancia la imposibilidad de lograr un embarazo exitoso.

La implantación del embrión en la cavidad uterina implica eventos fisiológicos claves como la decidualización y el remodelado vascular, los cuales son fundamentales en la placentación y en el éxito de la gestación.

La formación de nuevos vasos sanguíneos y la coordinación de los procesos vasculares en la interfase materno-fetal garantizan un flujo sanguíneo adecuado en respuesta a la demanda metabólica del embrión<sup>3-5</sup>. Dichos eventos se encuentran regulados por numerosos factores de crecimiento, citoquinas y quemoquinas<sup>6</sup>. Por su parte, la decidualización implica la proliferación y diferenciación de fibroblastos del estroma endometrial en células deciduales. La decidua es un tejido transitorio que sostiene el desarrollo embrionario, regula la respuesta inmunitaria materna y controla la invasión del trofoblasto en el útero<sup>7,8</sup>.

La interacción entre el trofoblasto y la decidua materna es fundamental para el éxito de la implantación y el desarrollo normal del embarazo. Se describió ampliamente que alteraciones en las funciones del trofoblasto están asociadas a patologías placentarias como la preeclampsia, la restricción del crecimiento intrauterino o las fallas implantatorias múltiples<sup>9,10</sup>.

En los últimos años, la biología de los lípidos ha ido emergiendo como un área de significativo interés terapéutico gracias al conocimiento de la señalización molecular y fisiológica que estas moléculas desempeñan durante la gestación. En la interfase materno-fetal se establece un diálogo en el que participan mediadores lipídicos. En particular, el ácido lisofosfatídico (LPA), a través de la unión a receptores acoplados a la proteína G participa en eventos reproductivos como la espermatogénesis, la función sexual masculina, la función ovárica, la fecundación, el espaciamiento de los embriones, la implantación, la decidualización, el mantenimiento de la gestación, el parto y algunas patologías relacionadas con estos procesos<sup>11-14</sup>. Además, a través

de la producción de quemoquinas inducidas por el LPA, las células del trofoblasto humano del primer trimestre regulan la angiogénesis de las células endoteliales y la activación del sistema inmune innato durante la gestación temprana<sup>15</sup>.

Hasta el momento, el rol más significativo del LPA en reproducción involucra la señalización mediada por el receptor LPA3 en la implantación del blastocisto en el endometrio materno. Se ha informado que ratones deficientes en los receptores LPA1 y LPA2 pueden reproducirse normalmente. Sin embargo, las hembras deficientes en LPA3 presentan un retardo en el inicio de la implantación, espaciamiento aberrante de los embriones en el tracto uterino, reducción en el tamaño de la camada y aumento en el peso de las crías<sup>16</sup>. Este fenotipo es intrínseco a los tejidos maternos, ya que la transferencia de embriones *wild type* a hembras deficientes en el receptor LPA3 (LPA3<sup>-/-</sup>) no corrige los defectos descritos antes. Sin embargo, la transferencia de embriones LPA3<sup>-/-</sup> a hembras *wild type* no genera dificultades en el proceso de implantación. Estos hallazgos sugieren que la vía de señalización del LPA modula la implantación embrionaria durante la gestación temprana en los mamíferos.

La enzima lisofosfolipasa-D (Lyso-PLD), también conocida como autotaxina, participa en la síntesis del LPA<sup>17</sup>. La actividad de Lyso-PLD se detecta en sangre periférica y se correlaciona fuertemente con la concentración de LPA circulante<sup>18</sup>. El grupo de Tokumura<sup>19,20</sup> describió un aumento gradual en la actividad de la Lyso-PLD en el suero de mujeres a lo largo de la gestación. Este incremento en la actividad de la enzima es aún mayor en las gestantes con trabajo de parto, sugiriendo que el LPA podría participar en el mantenimiento del embarazo. El grupo de Iwasawa<sup>21</sup> encontró que la placenta humana expresa Lyso-PLD en los tres trimestres del embarazo, predominantemente en las células del trofoblasto y que su expresión placentaria se incrementa a medida que avanza la gestación. En conjunto, estos hallazgos sugieren que el trofoblasto sería la fuente principal de LPA durante el embarazo. Cabe destacar que las pacientes con fallas repetidas en la implantación presentan menores niveles de expresión proteica de LPA3 en el endometrio<sup>22</sup>.

En nuestro laboratorio, estamos interesados en el rol que cumplen los mediadores lipídicos en la interfase materno-fetal. Previamente, describimos la participación del LPA y su receptor LPA3 en los procesos de remodelado vascular y decidualización en

la gestación temprana, sugiriendo que la señalización mediada por LPA participa en el desarrollo de la decidua y la neovascularización de los sitios de implantación<sup>23,24</sup>. Además, observamos que el LPA, a través del LPA3, promueve la adquisición del fenotipo endovascular del trofoblasto humano de primer trimestre y la interacción con células endoteliales favoreciendo el remodelado vascular de la interfase materno-fetal<sup>25,26</sup>. Estos mecanismos se dan en el marco de la regulación de las hormonas esteroideas estradiol y progesterona<sup>27</sup>. Nuestros resultados, junto con los de otros autores, permiten postular al LPA3 como uno de los puntos de control del proceso de implantación embrionaria.

Para validar nuestras observaciones, decidimos investigar la relevancia del LPA3 en un modelo de implantación *in vivo*, utilizando como modelo experimental la rata preñada. Detectamos que la ablación farmacológica del receptor LPA3 en la ventana de implantación produce un espaciamiento aberrante de los embriones e incrementa el porcentaje de reabsorción embrionaria en los días 8 y 15 de gestación<sup>28</sup>. En los sitios de implantación reabsorbidos observamos múltiples anomalías. En particular, hallamos una disminución en la longitud transversal de las arterias uterina y arcuata, los principales vasos que irrigan el útero, y una disminución en la expresión del mRNA de conocidos mediadores de la vascularización (IL-10, VEGF-A, VEGF-R1). El análisis de la microvasculatura indica que los sitios reabsorbidos presentan un menor número de vasos sanguíneos cuyas circunferencias son mayores. En los sitios de implantación reabsorbidos del día 8 y en las placentas del día 15 detectamos hemorragia, infiltración de células inmunes, depósitos de fibrina, extravasación eritrocitaria y desorganización de la arquitectura histológica.

Dado que el desarrollo de la placenta es un proceso continuo y dinámico con diferentes funciones durante la gestación, decidimos investigar el impacto de la falta de funcionalidad del receptor LPA3 en las placentas de rata a término. Estos estudios son relevantes considerando que se ha postulado que los cambios en el remodelado vascular sufren una regresión hacia el final del embarazo, siendo relevantes en el tercer trimestre previo al desencadenamiento del parto<sup>5</sup>. Por lo tanto, continuando con el abordaje del modelo *in vivo* descrito en los días 8 y 15 de preñez, proponemos como objetivo principal del presente trabajo profundizar el estudio de la importancia del receptor LPA3 en el desarrollo de la placenta a término.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Modelo experimental

#### *Declaración ética*

Los procedimientos experimentales fueron aprobados por el Comité de Cuidado de Animales del Centro de Estudios Farmacológicos y Botánicos (CEFYO-CONICET) y por el Comité Institucional del Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (CICUAL) de la Facultad de Medicina (Universidad de Buenos Aires), número de permiso 2550/2010. Además, los experimentos se llevaron a cabo en conformidad con la Guía para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (NIH). Todos los animales fueron proporcionados por el bioterio de la Facultad de Odontología de la Universidad de Buenos Aires.

#### *Animales*

Utilizamos ratas adultas de la cepa Wistar de peso homogéneo (200-300 g), mantenidas en condiciones de temperatura (23-25°C) y ciclos de luz-oscuridad (12 horas de luz y 12 horas de oscuridad) constantes. Los animales recibieron alimento y agua *ad libitum*. Las hembras se pusieron en apareo con machos de la misma cepa y se verificó el estado de preñez mediante un extendido vaginal. Se observó en el microscopio óptico (aumento 100X) la presencia de espermatozoides, considerándose este como el primer día de gestación. La preñez en esta cepa de ratas dura 22 días en las condiciones de nuestro bioterio.

Las ratas preñadas se separaron del resto de los animales y se mantuvieron en las mismas condiciones hasta el momento de los tratamientos y del sacrificio.

Los tejidos provenientes de las hembras sacrificadas en el día 21 de gestación se utilizaron para la descripción morfológica de los ensayos macroscópicos y microscópicos.

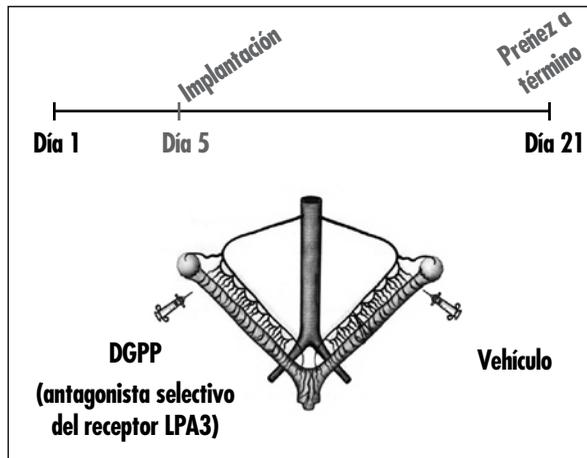
### **Efecto de la administración intrauterina de DGPP sobre el desarrollo de la placenta a término**

Se utilizó un modelo de inyección intrauterina de DGPP para investigar la participación del LPA y su receptor LPA3 en el desarrollo de la placenta a término en la rata, seguimos una estrategia farmacológica *in vivo*.

Durante la preñez temprana en la rata, el blastocisto alcanza la luz del útero entre los días 4 y 5 de gestación y la implantación ocurre durante la tarde-noche del día 5. Las hembras en el día 5 de

gestación recibieron por la mañana una dosis única intrauterina de DGPP, el antagonista selectivo del LPA3 (0,1 mg/kg, volumen final de inyección 2 µl), en el cuerno izquierdo. El cuerno derecho se inyectó con 2 µl de vehículo y se tomó como control. Las hembras fueron sacrificadas en el día 21 de gestación en una cámara saturada de dióxido de carbono seguido de dislocación cervical.

A continuación, se diagrama el protocolo de administración del DGPP (Fig. 1):



**Figura 1:** Protocolo de administración de DGPP.

### Estudios macroscópicos

Los animales fueron sacrificados en el día 21 de preñez y, en los casos en que fue posible, se separó el útero de las placentas y los fetos. Sin embargo, en los casos en los que hubo reabsorción embrionaria no se pudo separar el feto de la placenta y, por lo tanto, se separó el útero de la unidad fetoplacentaria (UFP) completa. En todos los casos se tomaron fotografías, se registró el peso de los órganos y se contó el número de sitios de implantación normales y reabsorbidos.

### Estudios microscópicos

En el caso de los sitios de implantación control y no reabsorbidos se extrajeron el útero, las deciduas y las placentas. En los sitios reabsorbidos se aislaron las UFP del útero y la decidua. Los tejidos se fijaron en paraformaldehído al 4% durante 18 horas a 4°C. Luego, se deshidrataron mediante sucesivos pasajes en alcoholes (desde 70% hasta 100%). Cada incubación se realizó por 18 horas a temperatura ambiente. Se efectuaron cortes de 4 µm con micrótopo (Leica RM 2125, Wetzlar, Alemania) y se montaron en portaobjetos xilanizados al 2%. Las secciones se tiñeron con hematoxilina-eosina durante 15 segundos para evaluar la morfología general del tejido e

identificar los tipos celulares presentes en él. Se utilizó un microscopio Nikon Eclipse 200 (NY, EE. UU.) para tomar las fotografías de los úteros, las placentas, las deciduas y las UFP.

### Análisis estadístico de los datos

El análisis estadístico se realizó con el programa Infostat (Córdoba, Argentina). La comparación entre la varianza de los distintos grupos experimentales se efectuó mediante la prueba de ANOVA de un factor, seguida de una comparación múltiple de Tukey. Para el caso de dos tratamientos, se empleó la prueba de la *t* de Student. Los datos se expresaron como los valores medios ± SEM (error estándar de la media). Las letras distintas corresponden a diferencias significativas entre los tratamientos cuando  $p < 0,05$ .

### RESULTADOS

Resultados previos de nuestro laboratorio sugieren que el LPA, a través del receptor LPA3, sería una señal pro-implantatoria que favorece los eventos fisiológicos que tienen lugar durante la ventana de implantación a través de la modulación de mediadores lipídicos<sup>23</sup>. Posteriormente, describimos en un modelo de rata gestante *in vivo* el rol preponderante del receptor LPA3 en los procesos de vascularización y decidualización. En ese modelo, la ablación farmacológica del receptor LPA3 se llevó a cabo mediante la administración intrauterina del antagonista del receptor en el día 5 de preñez y las ratas fueron sacrificadas en los días 8 y 15 de gestación<sup>28</sup>.

Continuando con el abordaje del modelo *in vivo*, decidimos profundizar el estudio de la importancia del receptor LPA3 en la placentación a término. Para ello, evaluamos en el día 21 de preñez parámetros macro (morfología y peso del útero, la placenta y la decidua) y microscópicos (estudios histológicos) tanto en los sitios de implantación provenientes del cuerno control como del cuerno tratado con DGPP.

### Estudios macroscópicos

En primer lugar, se contó el número de sitios de implantación y se calculó el porcentaje de reabsorción embrionaria. En las condiciones de nuestro bioterio, la cepa Wistar presenta un 1% de reabsorción embrionaria espontánea. Si bien la administración de DGPP (0,1 mg/kg) no afectó el número de sitios de implantación en el cuerno tratado respecto del cuerno control, observamos

un aumento significativo del porcentaje de reabsorción embrionaria (Tabla 1,  $p < 0,05$ ) y aberraciones en el espaciamiento de los embriones. En el cuerno tratado con DGPP observamos sitios de implantación reabsorbidos como sitios no reabsorbidos.

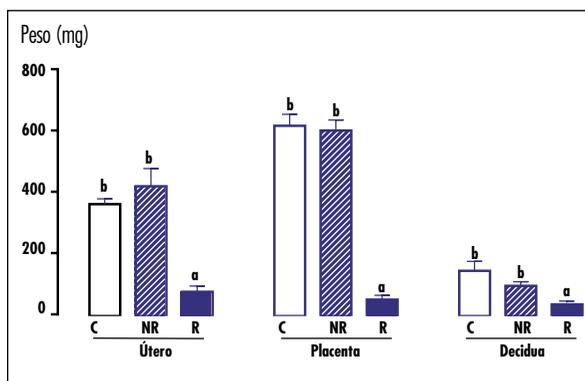
En la Figura 2 se observa el cuerno control con embriones de un tamaño acorde con su edad gestacional. Se pueden distinguir la placenta y el líquido amniótico de color claro contenido en las membranas fetales (Fig. 2A).

Sin embargo, en el cuerno tratado con DGPP se detecta la presencia de sitios de implantación reabsorbidos, extremadamente hemorrágicos, necrosados y de menor tamaño (Figura 2A, B y C) que se encuentran, en algunos casos, lindantes con sitios de implantación no reabsorbidos, cuya morfología, coloración y tamaño son semejantes a los sitios de implantación controles (Figura 2D).

Luego estudiamos el peso del útero, la placenta y la decidua provenientes del cuerno control y del cuerno inyectado con DGPP. En el caso de los sitios reabsorbidos no fue posible separar la placenta de los fetos y, por lo tanto, se pesaron

las UFP. En el caso de los sitios no reabsorbidos y de los sitios control, las placentas y las deciduas se separaron y pesaron (Fig. 3).

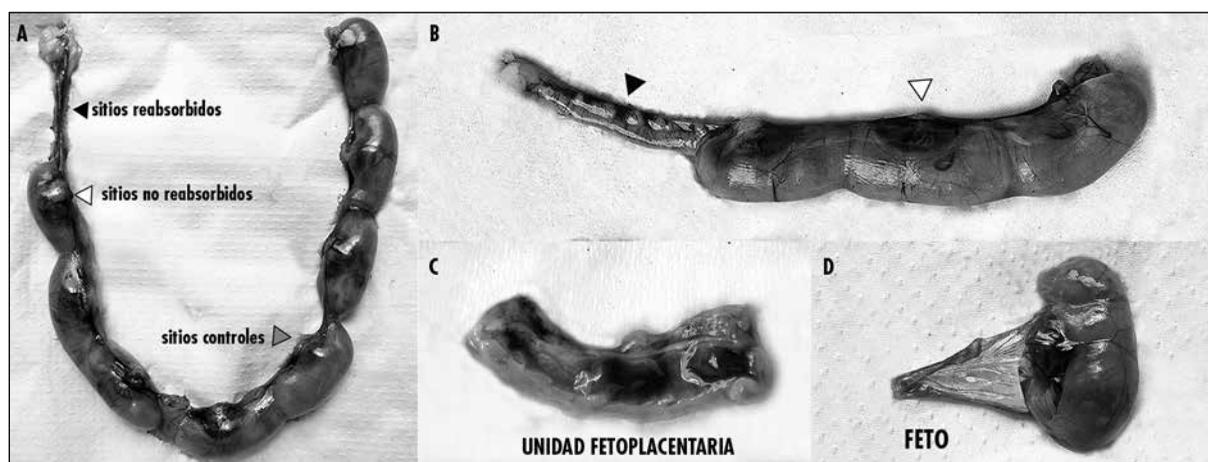
Observamos una disminución significativa en el peso del útero, la placenta y la decidua en los sitios reabsorbidos del cuerno tratado respecto de los sitios de implantación provenientes del cuerno control y de los sitios no reabsorbidos (véase Figura 3;  $p < 0,05$ ).



**Figura 3:** Efecto de la administración intrauterina de DGPP sobre el peso de los úteros, las deciduas y las placentas provenientes del cuerno tratado y control de hembras en el día 21 de preñez. Las hembras en el día 5 de gestación recibieron, por la mañana, 2 µl de DGPP (0,1 mg/kg) en el cuerno uterino izquierdo y 2 µl de vehículo en el cuerno uterino derecho. Las hembras se sacrificaron en el día 21 de gestación ( $n = 4-6$ ). Peso (mg) de los úteros, placentas y deciduas provenientes de sitios de implantación reabsorbidos (R) y no reabsorbidos (NR) de los cuernos tratados con DGPP y de los cuernos control (C). Los resultados representan la media  $\pm$  SEM ( $n = 5$ ). Las letras distintas determinan diferencias significativas entre los tratamientos con  $p < 0,05$  (ANOVA de un factor seguido por un análisis a posteriori de Tukey).

Día 21 de gestación	N° de sitios de implantación	Reabsorción embrionaria (%)
Cuerno de control	5 $\pm$ 2	1 $\pm$ 0,2
Cuerno con DGPP	5 $\pm$ 2	68 $\pm$ 0,5

**Tabla 1:** Número de sitios de implantación y porcentaje de reabsorción embrionaria en el día 21 de gestación.



**Figura 2:** Efecto de la administración intrauterina de DGPP en el día 5 de preñez sobre el desarrollo de la placenta en hembras sacrificadas en el día 21 de gestación. Las hembras en el día 5 de gestación recibieron, por la mañana, 2 µl de DGPP (0,1 mg/kg) en el cuerno uterino izquierdo y 2 µl de vehículo en el cuerno uterino derecho. Las hembras se sacrificaron en el día 21 de gestación ( $n = 4-6$ ). **A)** Vista panorámica de los cuernos uterinos. Las flechas negras indican zonas de reabsorción embrionaria. Las flechas blancas muestran los sitios de implantación de los embriones no reabsorbidos y las flechas grises representan embriones del cuerno de control. **B)** Vista con mayor aumento de los embriones reabsorbidos y no reabsorbidos presentes en el cuerno inyectado con DGPP. Las flechas negras indican los sitios de implantación con embriones reabsorbidos. Las flechas blancas indican embriones no reabsorbidos. **C)** Detalle donde se muestra la unidad fetoplacentaria (UFP) de un sitio reabsorbido. **D)** Feto presente en un sitio no reabsorbido, cuya morfología es semejante al embrión del cuerno control.

En conjunto, estos resultados y los anteriormente descritos demuestran que los efectos por la delección farmacológica del receptor LPA3 no son transitorios, sino que se mantienen y evidencian tanto en las etapas más tempranas (días 8 y 15 de gestación) como en las tardías (día 21) a lo largo de la preñez en la rata.

### Estudios microscópicos

Dado que observamos que el receptor LPA3 participa en los eventos que determinan el espaciamiento de los embriones y la reabsorción embrionaria, realizamos un estudio acerca de la histología de los tejidos descriptos previamente.

En primer lugar, analizamos los cortes histológicos de los úteros (Fig. 4). En este caso, no se observaron diferencias entre los úteros provenientes del cuerno control (Fig. 4A) respecto de los sitios de implantación no reabsorbidos (Fig. 4B) y de los sitios reabsorbidos (Fig. 4C) provenientes del cuerno inyectado con DGPP. En los tres casos, la arquitectura histológica del tejido se mantuvo conservada y se observaron las tres capas típicas del útero gestante: endometrio, decidua, miometrio y las capas musculares (circular y longitudinal).

Cuando analizamos histológicamente la morfología de las placentas observamos diferencias entre aquellas provenientes del cuerno uterino inyectado con DGPP y los tejidos placentarios provenientes del cuerno control. Es importante mencionar en este punto que en el caso de los sitios reabsorbidos se procedió a fijar la UFP completa ya que, debido al avance del proceso de reabsorción, no fue posible separar el feto de la placenta.

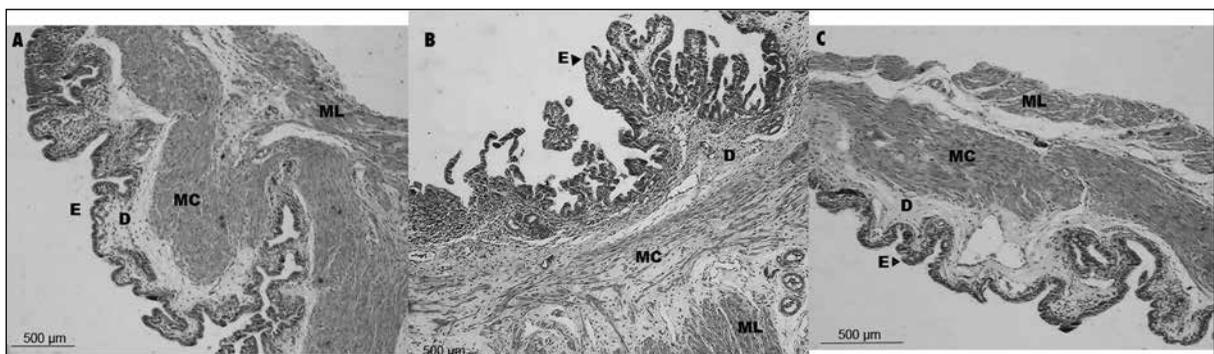
En la Figura 5A se observa, en las placentas provenientes del cuerno control una arquitectura conservada del tejido donde se distinguen las tres zonas características de la placenta de rata a tér-

mino: la decidua basal que contiene las arterias espiraladas, las células gigantes del trofoblasto ubicadas en la zona basal y el laberinto, zona de intercambio entre la sangre materna y la fetal.

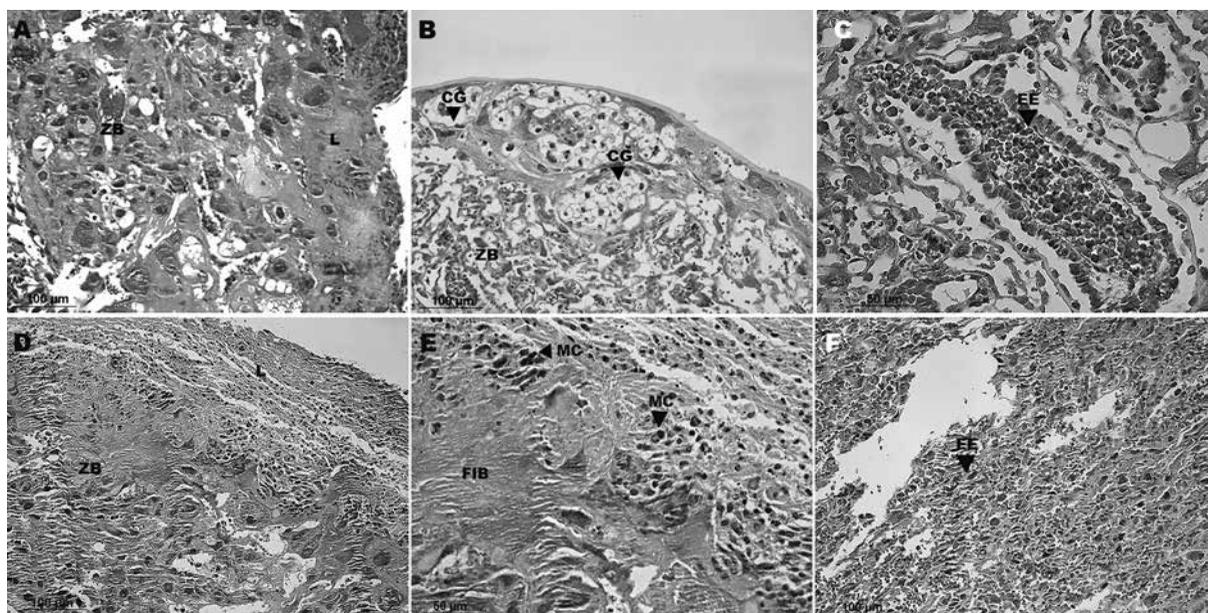
En el caso de las placentas correspondientes a los sitios no reabsorbidos presentes en los cuernos inyectados con DGPP, observamos un engrosamiento de la zona basal con un incremento notable en la cantidad de células trofoblásticas gigantes y de glucógeno (Fig. 5B). Además, distinguimos un aumento importante de la extravasación eritrocitaria presente en la decidua basal (Fig. 5C). La zona basal es rica en células de glucógeno que constituyen una importante fuente de lípidos y azúcares, lo que sugiere que esta alteración podría denotar una respuesta del tejido frente a una injuria con el fin de continuar sufriendo los nutrientes necesarios para el desarrollo y crecimiento del embrión.

Cuando estudiamos la morfología tisular de las UFP provenientes de sitios reabsorbidos en el cuerno tratado con DGPP (Fig. 5D), observamos la pérdida completa de la arquitectura típica placentaria. No fue posible distinguir las tres zonas características de la placenta de rata (decidua basal, zona basal y laberinto). En este caso, las placentas muestran depósitos de fibrina y núcleos picnóticos indicando signos de muerte celular (Fig. 5E). Estas características se ven acompañadas por una infiltración de neutrófilos y extravasación eritrocitaria (Fig. 5F).

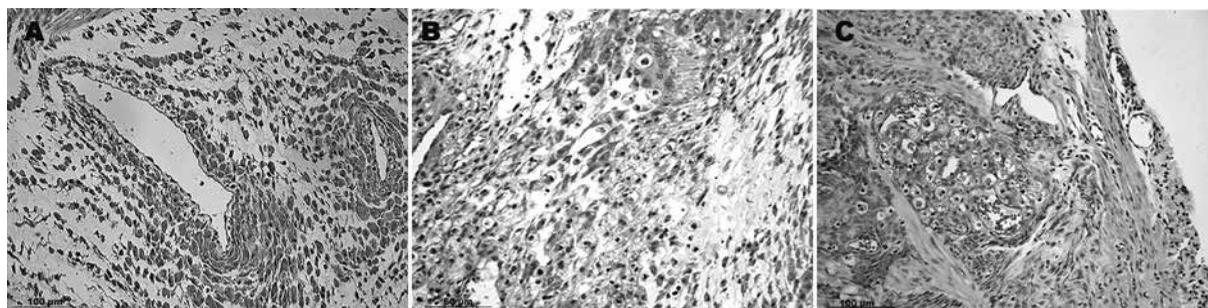
La decidua proveniente del cuerno control presenta una morfología acorde con su edad gestacional (Fig. 6A). Al estudiar las deciduas provenientes del cuerno tratado con DGPP, observamos que presentan signos de daño tisular y una coloración y forma alteradas respecto de las deciduas controles (Fig. 6B y C).



**Figura 4:** Efecto de la administración intrauterina de DGPP sobre la histología del útero. Las hembras en el día 5 de gestación recibieron, por la mañana, 2 µl de DGPP (0,1 mg/kg) en el cuerno uterino izquierdo y 2 µl de vehículo en el cuerno uterino derecho. Las hembras se sacrificaron en el día 21 de gestación ( $n = 4-6$ ). Se muestran cortes transversales de úteros teñidos con hematoxilina y eosina provenientes de sitios de implantación que corresponden a embriones control (A), embriones no reabsorbidos (B) y embriones reabsorbidos (C). E: endometrio, D: decidua, MC: miometrio circular, ML: miometrio longitudinal.



**Figura 5:** Efecto de la administración intrauterina de DGPP sobre la histología de la placenta. Las hembras en el día 5 de gestación recibieron, por la mañana, 2  $\mu$ l de DGPP (0,1 mg/kg) en el cuerno uterino izquierdo y 2  $\mu$ l de vehículo en el cuerno uterino derecho. Las hembras se sacrificaron en el día 21 de gestación ( $n = 4-6$ ). Se muestran cortes transversales de placentas teñidas con hematoxilina y eosina provenientes de sitios de implantación que corresponden a embriones control (A), embriones no reabsorbidos (B y C) y embriones reabsorbidos (D, E y F). L: laberinto, ZB: zona basal, CG: células de glucógeno, FIB: zona de fibrinólisis, MC: muerte celular, EE: extravasación eritrocitaria.



**Figura 6:** Efecto de la administración intrauterina de DGPP sobre la histología de la decidua. Las hembras en el día 5 de gestación recibieron, por la mañana, 2  $\mu$ l de DGPP (0,1 mg/kg) en el cuerno uterino izquierdo y 2  $\mu$ l de vehículo en el cuerno uterino derecho. Las hembras se sacrificaron en el día 21 de gestación ( $n = 4-6$ ). Se muestran cortes transversales de deciduas teñidas con hematoxilina y eosina provenientes de sitios de implantación que corresponden a embriones control (A), embriones no reabsorbidos (B) y embriones reabsorbidos (C).

## DISCUSIÓN

El estudio de los factores involucrados en el éxito de la gestación temprana cobra relevancia si se tiene en cuenta que, a nivel mundial, el 15% de las parejas en edad reproductiva se enfrentan con el riesgo de no poder concebir<sup>29</sup> y que en cada ciclo existe solamente un 30% de posibilidad de embarazo. Además, sólo el 50% de las gestaciones sobrepasa las 20 semanas de gestación<sup>30</sup>. En la actualidad existe un vacío respecto a la terapéutica aplicable en las fallas en la implantación y a los abortos recurrentes, las cuales se asocian no solamente con pérdidas tempranas del embarazo, sino con patologías obstétricas que aparecen más tardíamente.

El blastocisto participa del primer contacto de carácter físico y fisiológico con el útero materno que dará inicio a la implantación<sup>31</sup>. La invasión del trofoblasto en el endometrio involucra el remodelado de las arterias uterinas con el fin de establecer una adecuada perfusión uteroplacentaria. Se informó que deficiencias en esos procesos afectan la implantación y la placentación comprometiendo el avance de la gestación<sup>16,32,33</sup>. En particular, se conoce que hay una correlación entre las alteraciones vasculares durante la implantación y las patologías placentarias que aparecen temprano en la gestación, como las fallas implantatorias o el aborto recurrente y otras que aparecen más avanzado

el embarazo como la preeclampsia y la restricción del crecimiento intrauterino<sup>34,35</sup>.

Nuestro laboratorio investiga el rol de lípidos bioactivos, como el LPA, en la interfase materno-fetal durante las etapas tempranas de la gestación en distintos modelos experimentales. Dado que el estudio de la implantación es limitado en seres humanos debido a razones éticas, en este trabajo utilizamos el modelo de rata preñada. Si bien existen diferencias en los procesos fisiológicos entre las especies, la rata presenta similitudes con el embarazo humano en lo que se refiere al proceso de invasión del citotrofoblasto y al remodelado vascular<sup>36</sup>. Además, la rata al igual que el hombre presenta un desarrollo hemocoriónico altamente invasivo<sup>37</sup> de la placenta. Por lo tanto, la implementación de animales de laboratorio constituye un modelo de estudio valioso para el diseño de estrategias *in vitro* e *in vivo* a fin de descifrar los eventos moleculares y fisiológicos que regulan los procesos de decidualización, remodelado vascular y placentación.

En este sentido, previamente demostramos, en un modelo de implantación *in vitro*, que el LPA actúa como una molécula proimplantatoria en la interfase materno-fetal. La unión del LPA a su receptor LPA3 desencadena cascadas de señalización que regulan tanto el sistema endocanabinoide como las prostaglandinas en el útero de rata, lo que favorece la decidualización y el remodelado de la vasculatura en la ventana de implantación<sup>23</sup>.

Sobre la base de los resultados obtenidos *in vitro*, decidimos poner a punto un diseño experimental *in vivo* que nos permitiera analizar la participación del LPA endógeno y el receptor LPA3 en los procesos que se desencadenan en el inicio de la implantación y que repercutirán en las etapas más tardías de la gestación (días 8, 15 y 21 de preñez).

Previamente describimos que el tratamiento con DGPP produce fallas en la decidualización y en el desarrollo temprano de la placenta (días 8 y 15 de gestación). A su vez, dichos efectos deletéreos se asocian a anomalías en la macrovasculatura y la microvasculatura que irriga los cuernos uterinos<sup>28</sup>. Por lo tanto, en el presente trabajo nos propusimos investigar las etapas más avanzadas del desarrollo placentario. Para ello, las hembras fueron sacrificadas luego de la administración de DGPP en el día 21 de gestación y se realizaron las determinaciones microscópicas y macroscópicas que se detallan en la sección de Materiales y métodos.

Los resultados obtenidos demuestran que el receptor LPA3 participa en el desarrollo de la placenta. Así, la producción endógena de LPA estaría involucrada en la formación de la decidua y en la posterior maduración placentaria. Estos procesos están estrechamente ligados al remodelado de las arterias espiraladas en la interfase materno-fetal. Por otra parte, observamos que el LPA induce la adquisición del fenotipo endovascular del trofoblasto humano del primer trimestre y la interacción entre el trofoblasto endovascular y las células endoteliales promoviendo las adaptaciones vasculares<sup>25,27</sup>. Por lo tanto, los resultados presentados en este trabajo refuerzan la importancia de la señalización del LPA a través del receptor LPA3 en el desarrollo placentario y en la diferenciación vascular del trofoblasto en la interfase materno-fetal durante el primer trimestre.

Las características observadas en el modelo de implantación *in vivo* son similares a las descritas previamente en las hembras *knock out* para el LPA3 (LPA3<sup>-/-</sup>)<sup>16</sup>. Las hembras LPA3<sup>-/-</sup> presentan una reducción significativa del tamaño y el número de fetos a término, lo que se atribuye a un retardo en el inicio de la implantación y a alteraciones en el espaciado de los embriones a lo largo del cuerno uterino. Así, las evidencias moleculares provistas por el grupo de Ye et al., junto con las evidencias farmacológicas detalladas en el presente trabajo de investigación, sugieren que el receptor LPA3 sería el subtipo del receptor de LPA con una función preponderante en la implantación embrionaria. El hecho de que el DGPP desencadene procesos de reabsorción embrionaria señala que el LPA3 está involucrado en los procesos de remodelado vascular y decidualización del estroma endometrial, que son fundamentales y determinantes en el desarrollo normal del embrión y la placenta.

El LPA3 se expresa en el epitelio luminal del útero<sup>23</sup>, la primera barrera de contacto con el trofoectodermo del blastocisto. Dado que el número de sitios de implantación no se modifica por el tratamiento con DGPP, podemos asegurar que la ablación farmacológica del LPA3 tiene consecuencias en los eventos que se producen una vez que ha comenzado la invasión del trofoblasto en el estroma materno. Por tal motivo, proponemos que los efectos del DGPP sobre la implantación podrían deberse, al menos en parte, a la contribución del LPA3 expresado en los tejidos maternos. Si bien no hemos caracterizado la expresión del

LPA3 en los embriones de rata, se describió que estos no expresan el mRNA del LPA3, reforzando la idea de que el efecto del DGPP se debería, probablemente, a su antagonismo sobre los receptores LPA3 localizados en el útero materno. Sin embargo, la línea HTR-8/SVneo de trofoblasto humano de primer trimestre expresa LPA3 y hemos informado que el LPA regula funciones cruciales del trofoblasto<sup>25</sup>. Por lo tanto, no podemos descartar la participación de receptores LPA3 que se encuentren expresados en la placenta de rata sobre los defectos en el proceso de implantación descritos anteriormente. En consecuencia, la reabsorción embrionaria desencadenada por el DGPP podría deberse a fallas en la decidualización y posterior placentación.

Evidencias experimentales en mujeres embarazadas refuerzan nuestras observaciones y ponen de manifiesto la importancia de la señalización LPA-LPA3 en el establecimiento de la gestación también en los seres humanos. La Lyso-PLD, la principal enzima descrita hasta ahora como responsable de la síntesis de LPA, se expresa en el trofoblasto placentario en los tres trimestres del embarazo<sup>21</sup>. Además, la actividad de esta enzima y la concentración plasmática de LPA aumentan conforme avanza la gestación, y vuelven a niveles similares a los de las mujeres no gestantes luego del alumbramiento de la placenta<sup>19,20</sup>. Se postula que la principal fuente de LPA durante la gestación sería el trofoblasto placentario. Por otro lado, Wei et al.<sup>38</sup> describieron una disminución en los niveles de LPA3 durante la ventana de implantación en el endometrio proveniente de mujeres embarazadas con endometriosis. Esta patología está asociada con una tasa mayor de infertilidad que afecta al 5-10% de las mujeres en edad reproductiva<sup>39</sup>. Además, se observó que la expresión endometrial de LPA3 se encuentra disminuida en las mujeres que presentan fallas implantatorias múltiples luego de ser sometidas a un proceso de fecundación *in vitro*<sup>22</sup>.

La invasión del endometrio materno por el trofoblasto es uno de los eventos que ocurren al comienzo de la gestación y es fundamental para su éxito. Se informó que fallas durante este proceso contribuyen a diferentes complicaciones obstétricas como el aborto recurrente, la preeclampsia y la placenta acreta<sup>9,10</sup>. Aunque numerosos factores han sido implicados en el control de la preñez temprana, los mecanismos moleculares responsables de la invasión embrionaria en los seres humanos permanecen sin conocerse.

En particular, hace ya varios años que se están buscando marcadores relacionados con estos procesos debido a su potencial valor como blancos terapéuticos<sup>40,41</sup>. Es posible que el uso de fármacos que regulen las vías de señalización que desencadenan moléculas lipídicas se transformen en herramientas terapéuticas útiles para el tratamiento de fallas en el proceso de implantación, lo que redundará en el mejoramiento de la tasa de preñez. Los receptores de LPA parecen ser blancos interesantes para la industria farmacéutica, como queda demostrado con el compuesto BMS-986020<sup>42</sup> (Bristol Myers, fase clínica II, NCT01766817), utilizado como antagonista del receptor LPA1 para el tratamiento de la fibrosis pulmonar idiopática. Además, el laboratorio Sanofi comercializa el compuesto SAR100842<sup>43</sup> (fase clínica II, NCT01651143), utilizado como antagonista de los receptores LPA1/LPA3 para el tratamiento de la esclerosis sistémica.

Los conocimientos que se desprenden de las investigaciones sobre el impacto genético y ambiental en la invasión del trofoblasto y el remodelado de las arterias espiraladas en la rata son relevantes en el estudio de otras especies, incluida la humana. Tanto el desarrollo de la placenta humana como su función se hallan regulados por factores maternos<sup>44</sup>. La rata es un modelo experimental que permite estudiar la progresión de una patología obstétrica determinada y los mecanismos que subyacen a la disfunción placentaria. Sin embargo, cabe destacar que la interpretación de los resultados obtenidos debido a alteraciones durante la preñez en la rata puede diferir de lo que sucede en los seres humanos. Estas discrepancias radican principalmente en que la rata, a diferencia del hombre, es una especie múltipara y, por lo tanto, tiene la ventaja de asegurarse que al menos una de sus crías sobrevivirá a los cambios ambientales o a una patología. En estas especies, es posible evadir diferentes tipos de obstáculos redireccionando los nutrientes a un número menor de embriones implantados cuyos trofoectodermos participarán en el desarrollo de la placenta<sup>45</sup>.

Esta situación refleja la importancia de conocer los mecanismos moleculares y fisiológicos que regulan el diálogo en la interfase materno-fetal durante el proceso de implantación, dada la complejidad del abordaje del estudio del aborto recurrente y de otras patologías obstétricas.

## REFERENCIAS

- Inhorn MC, Patrizio P. Infertility around the globe: new thinking on gender, reproductive technologies and global movements in the 21st century. *Hum Reprod Update* 2015;21(4):411-26.
- Kassebaum NJ, López AD, Murray CJ, Lozano R. A comparison of maternal mortality estimates from GBD 2013 and WHO. *Lancet* 2014;384(9961):2209-10.
- Torry DS, Leavenworth J, Chang M, Maheshwari V, Groesch K, Ball ER, Torry RJ. Angiogenesis in implantation. *J Assist Reprod Genet* 2007;24(7):303-15.
- Shimizu T, Hoshino Y, Miyazaki H, Sato E. Angiogenesis and microvasculature in the female reproductive organs: physiological and pathological implications. *Curr Pharm Des* 2012;18(3):303-9.
- Whitley GS, Cartwright JE. Cellular and molecular regulation of spiral artery remodelling: lessons from the cardiovascular field. *Placenta* 2010;31(6):465-74.
- Blois SM, Klapp BF, Barrientos G. Decidualization and angiogenesis in early pregnancy: unravelling the functions of DC and NK cells. *J Reprod Immunol* 2011;88(2):86-92.
- Dey SK, Lim H, Das SK, Reese J, Paria BC, Daikoku T, Wang H. Molecular cues to implantation. *Endocr Rev* 2004;25(3):341-73.
- Fonseca BM, Correia-da-Silva G, Teixeira NA. The rat as an animal model for fetoplacental development: a reappraisal of the post-implantation period. *Reprod Biol* 2012;12(2):97-118.
- Stegers EA, Von Dadelszen P, Duvekot JJ, Pijnenborg R. Pre-eclampsia. *Lancet* 2010;376(9741):631-44.
- Bashiri A, Agarwei A, Harlev A. Recurrent pregnancy loss. *Springer*; 2016:3-18.
- Kobayashi T, Yamano S, Murayama S, Ishikawa H, Tokumura A, Aono T. Effect of lysophosphatidic acid on the pre-implantation development of mouse embryos. *FEBS Lett* 1994;351(1):38-40.
- Kunikata K, Yamano S, Tokumura A, Aono T. Effect of lysophosphatidic acid on the ovum transport in mouse oviducts. *Life Sci* 1999;65(8):833-40.
- Tokumura A, Yamano S, Aono T, Fukuzawa K. Lysophosphatidic acids produced by lysophospholipase D in mammalian serum and body fluid. *Ann N Y Acad Sci* 2000;905:347-50.
- Ye X. Lysophospholipid signaling in the function and pathology of the reproductive system. *Hum Reprod Update* 2008;14(5):519-36.
- Chen SU, Chou CH, Chao KH, Lee H, Lin CW, Lu HF, Yang YS. Lysophosphatidic acid up-regulates expression of growth-regulated oncogene-alpha, interleukin-8, and monocyte chemoattractant protein-1 in human first-trimester trophoblasts: possible roles in angiogenesis and immune regulation. *Endocrinology* 2010;151(1):369-79.
- Ye X, Hama K, Contos JJ, Anliker B, Inoue A, Skinner MK, et al. LPA3-mediated lysophosphatidic acid signalling in embryo implantation and spacing. *Nature* 2005;435(7038):104-8.
- Aoki J, Inoue A, Okudaira S. Two pathways for lysophosphatidic acid production. *Biochem Biophys Acta* 2008;1781(9):513-8.
- Watanabe N, Ikeda H, Nakamura K, Ohkawa R, Kume Y, Tomiya T, et al. Plasma lysophosphatidic acid level and serum autotaxin activity are increased in liver injury in rats in relation to its severity. *Life Sci* 2007;81(12):1009-15.
- Tokumura A, Kanaya Y, Miyake M, Yamano S, Irahara M, Fukuzawa K. Increased production of bioactive lysophosphatidic acid by serum lysophospholipase D in human pregnancy. *Biol Reprod* 2002;67(5):1386-92.
- Tokumura A, Majima E, Kariya Y, Tominaga K, Kogure K, Yasuda K, Fukuzawa K. Identification of human plasma lysophospholipase D, a lysophosphatidic acid-producing enzyme, as autotaxin, a multifunctional phosphodiesterase. *J Biol Chem* 2002;277(42):39436-42.
- Iwasawa Y, Fujii T, Nagamatsu T, Kawana K, Okudaira S, Miura S, et al. Expression of autotaxin, an ectoenzyme that produces lysophosphatidic acid human placenta. *Am J Reprod Immunol* 2009;62(2):90-5.
- Achache H, Tsafirir A, Prus D, Reich R, Revel A. Defective endometrial prostaglandin synthesis identified in patients with repeated implantation failure undergoing in vitro fertilization. *Fertil Steril* 2010;94(4):1271-8.
- Sordelli MS, Beltrame JS, Cella M, Gervasi MG, Pérez Martínez S, Burdet J, et al. Interaction between lysophosphatidic acid, prostaglandins and the endocannabinoid system during the window of implantation in the rat uterus. *PLoS One* 2012;7(9):e46059.
- Beltrame JS, Sordelli MS, Cella M, Pérez Martínez S, Franchi AM, Ribeiro ML. Lysophosphatidic acid increases the production of pivotal mediators of decidualization and vascularization in the rat uterus. *Placenta* 2013;34(9):751-6.
- Beltrame JS, Sordelli MS, Cañumil VA, Franchi AM, Ribeiro ML. Lysophosphatidic acid-triggered pathways promote the acquisition of trophoblast endovascular phenotype in vitro. *J Cell Biochem* 2018;119(1):758-72.
- Beltrame JS, Scotti L, Sordelli MS, Cañumil VA, Franchi AM, Parborell F, Ribeiro ML. Lysophosphatidic acid induces the crosstalk between the endovascular human trophoblast and endothelial cells in vitro. *J Cell Physiol* 2019;234(5):6274-85.
- Beltrame JS, Sordelli MS, Cañumil VA, Alonso CAI, Pérez Martínez S, Ribeiro ML. Steroid hormones induce in vitro human first trimester trophoblast tubulogenesis by the lysophosphatidic acid pathway. *Mol Cell Endocrinol* 2018;478:126-32.
- Sordelli MS, Beltrame JS, Zotta E, Gómez N, Dmytrenko G, Sales ME, et al. Endogenous lysophosphatidic acid participates in vascularisation and decidualisation at the maternal-fetal interface in the rat. *Reprod Fertil Dev* 2017;(11):2112-26.
- Zhang S, Lin H, Kong S, Wang S, Wang H, Wang H, Armant DR. Physiological and molecular determinants of embryo implantation. *Mol Aspects Med* 2013;34(5):939-80.
- Norwitz ER, Schust DJ, Fisher SJ. Implantation and the survival of early pregnancy. *N Engl J Med* 2001;345(19):1400-8.
- Wang H, Dey SK. Roadmap to embryo implantation: clues from mouse models. *Nat Rev Genet* 2006;7(3):185-99.
- Song H, Lim H, Paria BC, Matsumoto H, Swift LL, Morrow J, et al. Cytosolic phospholipase A2alpha is crucial [correction of A2alpha deficiency is crucial] for 'on-time' embryo implantation that directs subsequent development. *Development* 2002;129(12):2879-89.
- Wilcox AJ, Baird DD, Weinberg CR. Time of implantation of the conceptus and loss of pregnancy. *N Engl J Med* 1999;340(23):1796-9.
- Burton GJ, Woods AW, Jauniaux E, Kingdom JC. Rheological and physiological consequences of conversion of the maternal spiral arteries for uteroplacental blood flow during human pregnancy. *Placenta* 2009;30(6):473-82.
- Ball E, Bulmer JN, Ayis S, Lyall F, Robson SC. Late sporadic miscarriage is associated with abnormalities in spiral artery transformation and trophoblast invasion. *J Pathol* 2006;208(4):535-42.
- Soares MJ, Chakraborty D, Kubota K, Renaud SJ, Rumi MA. Adaptive mechanisms controlling uterine spiral artery remodeling during the establishment of pregnancy. *Int J Dev Biol* 2014;58(2-4):211-7.

37. Pijnenborg R, Vercruyse L, Brosens I. Deep placentation. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2011;25(3):273-85.
38. Wei Q, St Clair JB, Fu T, Stratton P, Nieman LK. Reduced expression of biomarkers associated with the implantation window in women with endometriosis. *Fertil Steril* 2009;91(5):1686-91.
39. Bulun SE. Endometriosis. *N Engl J Med* 2009;360(3):268-79.
40. Hyde KJ, Schust DJ. Genetic considerations in recurrent pregnancy loss. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2015;5(3):a023119.
41. Lee SK, Na BJ, Kim JY, Hur SE, Lee M, Gilman-Sachs A, Kwak-Kim J. Determination of clinical cellular immune markers in women with recurrent pregnancy loss. *Am J Reprod Immunol* 2013;70(5):398-411.
42. Palmer SM, Snyder L, Todd JL, Soule B, Christian R, Anstrom K, et al. Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Phase 2 Trial of BMS-986020, a Lysophosphatidic Acid Receptor Antagonist for the Treatment of Idiopathic Pulmonary Fibrosis. *Chest* 2018;154(5):1061-9.
43. Allanore Y, Distler O, Jagerschmidt A, Illiano S, Ledein L, Boitier E, et al. Lysophosphatidic Acid Receptor 1 Antagonist SAR100842 for Patients with Diffuse Cutaneous Systemic Sclerosis: A Double-Blind, Randomized, Eight-Week Placebo-Controlled Study Followed by a Sixteen-Week Open-Label Extension Study. *Arthritis Rheumatol* 2018;70(10):1634-43.
44. Myatt L. Placental adaptive responses and fetal programming. *J Physiol* 2006;572(Pt 1):25-30.
45. Soares MJ, Chakraborty D, Karim Rumi MA, Konno T, Renaud ST. Rat placentation: an experimental model for investigating the hemochorial maternal-fetal interface. *Placenta* 2012;33(4):233-43.

## ACTUALIZACIÓN

# Microbiota, obesidad y dieta

## *Microbiota, obesity and diet*

Fiorella Sabrina Belforte y Alberto Penas Steinhardt

Laboratorio de Genómica Computacional, Departamento de Ciencias Básicas, Universidad Nacional de Luján, Luján, Provincia de Buenos Aires, Argentina

Contacto del autor: Alberto Penas Steinhardt

E-mail: pufetin@gmail.com

Correspondencia: Ruta 5 y Avenida Constitución - (6700) Luján, Provincia de Buenos Aires, Argentina.

Recibido: 20/9/2018 Aceptado: 19/11/2018

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

## Resumen

En las últimas décadas, la prevalencia de la obesidad y de la diabetes mellitus tipo 2 (DM2) se ha incrementado en todo el mundo. Los informes más recientes de la International Diabetes Federation (IDF, Federación Internacional de Diabetes) indican que no solo aumentará la prevalencia de estos trastornos metabólicos en el mundo, sino que se está acelerando su velocidad de aparición. Según su último informe de 2017, se estima que hay 425 millones de personas afectadas por DM2 en el mundo y se proyecta que, para 2045, serán 619 millones las personas diabéticas. La presencia de un estado inflamatorio crónico y subclínico se ha asociado con obesidad, resistencia a la insulina y síndrome metabólico. Los estudios en modelos con animales y en seres humanos demostraron cambios en la respuesta inmunitaria innata involucrados en la patogenia de estos trastornos.

La microbiota humana es el conjunto de microorganismos que viven asociados a distintas partes del cuerpo; en la mayoría de los casos, es una relación simbiótica del comensal con el hospedador. Se comprobó una relación directa entre la disbiosis de las comunidades microbianas y numerosas afecciones, como obesidad, DM2, enfermedades inflamatorias intestinales, cánceres de colon y gástrico, entre otras. El microbioma humano se ve afectado por diversos factores ambientales, como el estilo de vida, la dieta, el uso de antibióticos y el genotipo del hospedador. Por ello, la comprensión de la plasticidad de la microbiota intestinal y su alta sensibilidad de respuesta a los cambios en la dieta y otras influencias ambientales es un campo de amplio estudio actual en todo el mundo.

**Palabras clave:** microbiota, microbioma, metagenómica, obesidad.

Revista de la Sociedad Argentina de Endocrinología Ginecológica y Reproductiva 2019; Vol. XXVI N° 1 Enero - junio de 2019: 11-17

## Abstract

*In recent decades, the prevalence of obesity and diabetes mellitus type 2 (DM2) has increased throughout the world. The latest reports from the International Diabetes Federation (IDF) point out that not only the prevalence of such metabolic disorders will increase in the world, but its speed of appearance is accelerating. In its last report 2017 it is estimated at 425 million people affected by DM2 worldwide and it is projected by 2045, there will be 619 million diabetic people. The presence of a chronic and subclinical inflammatory state has been associated with obesity, insulin resistance and metabolic syndrome. Studies conducted in animal models and humans have shown changes in the innate immune response involved in the pathogenesis of these metabolic disorders.*

*The human microbiota is the set of microorganisms that live associated to different parts of the body, establishing the majority of the cases a symbiotic relationship with the host. A direct relationship has been found between the dysbiosis of the microbial communities and numerous diseases, including obesity, DM2, inflammatory bowel diseases, colon and gastric cancers, among others. The human microbiome is affected by environmental factors, such as lifestyle, diet, the use of antibiotics and the genotype of the host. It is for this reason that understanding the plasticity of the gut microbiota and its high sensitivity in response to changes in diet and other environmental influences, is a field of broad current study worldwide.*

**Key words:** microbiota, microbiome, metagenomics, obesity.

Revista de la Sociedad Argentina de Endocrinología Ginecológica y Reproductiva 2019; Vol. XXVI N° 1 Enero - junio de 2019: 11-17

## Microbiota, obesidad y dieta

En las últimas décadas, la prevalencia de la obesidad y de diabetes mellitus tipo 2 (DM2) se ha incrementado en todo el mundo. Los últimos informes de la Federación Internacional de Diabetes indican que no solo aumentará la prevalencia de estos trastornos metabólicos, sino que también se está acelerando su velocidad de aparición. En particular, en el último informe (IDF 2017) se estima que hay 425 millones de personas afectadas por DM en el mundo y se proyecta que para 2045 serán 619 millones las personas diabéticas<sup>1</sup>. Además, un cuarto de la población occidental tendría alteraciones en la regulación de la glucosa (disglucemias: glucemia en ayunas alterada o tolerancia a la glucosa alterada) o síndrome metabólico<sup>2</sup>.

Según los resultados de la Segunda Encuesta Nacional de Factores de Riesgo para Enfermedades No Transmisibles, del Ministerio de Salud de la Nación de 2011, además de la morbimortalidad, el sobrepeso y la obesidad se asocian con elevados costos económicos, no solo para el sistema de salud, sino para la sociedad en su conjunto. El costo directo para el sistema de salud puede ascender al 5,7% del total del gasto sanitario y, sumando los costos indirectos (p. ej., ausentismo, discapacidad, necesidad de cuidado), puede igualar el costo ocasionado por el consumo de tabaco. El mismo relevamiento informa que la prevalencia nacional de obesidad fue del 18%, significativamente mayor que la cifra informada por la misma encuesta en 2005 (14,6%). Del mismo modo, el autorreporte de diabetes o glucemia elevada se incrementó en forma significativa en 2009 (9,6%) en comparación con 2005 (8,4%).

La presencia de un estado inflamatorio crónico y subclínico se asoció con la obesidad, la resistencia a la insulina, el síndrome metabólico y la DM2<sup>3-5</sup>. Varios estudios realizados tanto en modelos con animales como en seres humanos comprobaron que los cambios en la respuesta inmunitaria innata están involucrados en la patogenia de estos trastornos metabólicos<sup>5-7</sup>.

Más allá del papel en la digestión y la absorción de nutrientes, el tracto gastrointestinal humano contiene una diversa colección de microorganismos que residen, en su mayoría, en el colon. El intestino es el hogar de un complejo consorcio de alrededor de  $10^{13}$  a  $10^{14}$  células bacterianas. Se estima que los microorganismos que viven dentro del ser humano sobrepasan el nú-

mero de células humanas por un factor de 10; el genoma de este microbioma representa más de 100 veces el tamaño del genoma humano<sup>8</sup>. Por todo esto, actualmente la microbiota puede ser considerada como un "órgano microbiano". Esta microbiota participa en numerosas funciones biológicas del intestino, como defensa contra patógenos, inmunidad, desarrollo de la microvellosidad intestinal y degradación de polisacáridos no digeribles, encontrándose así en permanente contacto con los alimentos e interactuando con las células del hospedador<sup>9</sup>. La composición de este complejo ecosistema varía en función de la calidad y cantidad de los alimentos, propiciando una relación directa entre el desarrollo de trastornos metabólicos, la disfunción del sistema inmunitario innato y los cambios en la composición de la microbiota intestinal<sup>10-12</sup>.

Hace poco, se demostró que los ratones criados en ausencia de microorganismos (libres de gérmenes) tenían un 40% menos de grasa corporal total que los ratones con una microbiota intestinal normal. Posteriormente, al introducir en ratones libres de gérmenes la microbiota intestinal proveniente del ciego de ratones normales, se produjo un aumento del contenido de grasa corporal y de la resistencia a la insulina<sup>13</sup>. Asimismo, se observó que los ratones alimentados con una dieta rica en grasa durante solo 2 a 4 semanas exhibían un incremento significativo de lipopolisacárido (LPS) en la sangre<sup>14</sup>. Esto puede considerarse una "endotoxemia metabólica", teniendo en cuenta que las concentraciones plasmáticas de LPS así alcanzadas son mucho menores que las descritas en un estado séptico. Los pacientes con DM2 presentan también altos los niveles de LPS en el suero<sup>15</sup>. El LPS producido dentro del intestino se traslada a los capilares intestinales, es transportado a los tejidos diana, donde se une a los receptores de tipo Toll 4 (TLR4), y activa las moléculas inflamatorias.

Reforzando la relación causal entre el LPS y el desarrollo de enfermedades metabólicas, se demostró que ratones *knock out* para CD14 (el correceptor de TLR4) resultaron completamente resistentes al desarrollo de inflamación y a la resistencia a la insulina inducidas tanto por dietas ricas en grasas como por dosis bajas de LPS<sup>16</sup>. Los estudios anteriores ya habían mostrado este fenotipo resistente a dietas ricas en grasas en ratones C3H/HeJ portadores de una mutación inactivante (Pro 712 His) para el receptor TLR4. En los seres

humanos también se demostró que una comida rica en grasas induce una endotoxemia metabólica suficiente para activar células endoteliales humanas en cultivo, probablemente a través del factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ). La presencia del polimorfismo D299G en el gen TLR4 provoca una disminución de la activación de la traducción de la señal inducida por LPS debida a una deficiencia en el reclutamiento de las proteínas adaptadoras MyD88 (*myeloid differentiation primary response 88*) y TRIF (*TIR-domain-containing adapter-inducing interferon- $\beta$* ). Algunos estudios han evaluado la asociación de ese polimorfismo con la presencia de trastornos metabólicos. En un reciente metanálisis publicado por nuestro grupo, observamos una asociación significativa entre el polimorfismo D299G y el riesgo de trastornos metabólicos (DM2 y síndrome metabólico o Met-S). En particular, los genotipos correspondientes a la variante deficiente en la activación por LPS se asocian con una disminución de esos trastornos<sup>17</sup>.

### Microbiota y sistema inmunitario

En los últimos años, el campo de la inmunología ha sido revolucionado por la creciente comprensión del papel fundamental que cumple la microbiota en la inducción, capacitación y función del sistema inmunitario del hospedador<sup>18</sup>. A cambio, ese sistema ha evolucionado en gran medida como un medio para mantener la relación simbiótica del hospedador con estos microbios altamente diversos y cambiantes. En condiciones favorables, la alianza entre el sistema inmunitario y la microbiota comensal permite la inducción de respuestas protectoras frente a patógenos y el mantenimiento de las vías de regulación implicadas en el sostenimiento de la tolerancia a antígenos inocuos. Sin embargo, los cambios profundos del contexto medioambiental podrían propiciar la selección de una microbiota que carece de la capacidad de recuperación y de la diversidad necesaria para establecer respuestas inmunes equilibradas. Esta hipótesis sugiere que los cambios medioambientales resultantes del estilo de vida moderno darían cuenta del notable aumento de los trastornos autoinmunitarios e inflamatorios crónicos en partes del mundo en las que la relación simbiótica con la microbiota ha sido afectada. En este escenario, emergen numerosas terapias dirigidas a mejorar la microbiota o a utilizarla como un vehículo terapéutico.

### MicroRNA y comunicación interreino

Los microRNA son RNA pequeños no codificantes que regulan la traducción de RNA mensajeros. Estas moléculas desempeñan un papel clave en el sistema inmunitario intestinal y pueden expresarse dentro de las células hematopoyéticas locales en respuesta a las señales inflamatorias de los receptores de reconocimiento de patrones (como los TLR) y de los receptores de antígeno (AR). Así, pueden regular la respuesta inmunitaria, incluida la secreción de citocinas, quimiocinas y anticuerpos, y afectar la homeostasis intestinal. Los microRNA son moléculas cortas de RNA (21-25 nucleótidos). En su forma madura, se unen a un complejo RISC (*RNA induced silencing complex*) y propician el silenciamiento de RNA mensajeros mediante su interacción con su región 3' no traducible (3'UTR), regulando la expresión del mRNA diana mediante la degradación o bloqueo de la traducción. Estos microRNA funcionan ajustando la magnitud de la expresión génica, por lo que garantizan que el sistema inmunitario no produzca respuestas inapropiadamente fuertes, al tiempo que promueve la inmunidad protectora cuando es necesario. Así, se los considera mediadores de la homeostasis, ya que actúan para amortiguar la inflamación.

Por su parte, los microorganismos comensales se ubican sobre una capa de mucina, separados de la superficie apical del epitelio intestinal, por lo que la comunicación directa con el tejido del hospedador resulta improbable. Se considera que la comunicación interreino (*trans-kingdom*) ocurre principalmente a través de moléculas señaladoras secretadas o liberadas como consecuencia de procesos metabólicos o de descomposición bacteriana. En este sentido, las microvesículas (MV) son una forma de comunicación conocida entre el tejido del hospedador y la flora comensal. Las MV son producidas de manera regular por bacterias (grampositivas y gramnegativas) eucariotas y arqueas. Estas MV tienen diversos tamaños y mecanismos de secreción y pueden vehicular pequeñas moléculas como los microRNA en su interior. En este escenario, es un campo de estudio de gran interés actual la comunicación entre la microbiota comensal y las células eucariotas, como un medio de esclarecer los mecanismos que conllevan la modulación de la respuesta del hospedador a su microbiota, en relación con su estado de salud y enfermedad.

## **Establecimiento y modificaciones del microbioma intestinal**

La colonización microbiana es esencial para el desarrollo normal del sistema inmunitario, ya que regula la homeostasis entre la carga antigénica ambiental y la respuesta inmune. A pesar de las nuevas tecnologías moleculares y de secuenciación disponibles, la composición normal de la microbiota del intestino humano todavía se desconoce. De hecho, ciertas situaciones ambientales diferenciales, como el tipo de parto, la falta de lactancia materna y el tipo de dieta en los primeros meses de vida, son factores condicionantes para la colonización microbiana en el intestino, donde una infección aguda o estados inflamatorios de la mucosa intestinal podrían generar las condiciones detonantes para el establecimiento de una cada vez más amplia gama de patologías en individuos genéticamente susceptibles<sup>19</sup>.

Si bien algunos investigadores han comenzado a cuestionar el dogma que define al útero como un ambiente estéril<sup>20</sup>, está claro que el nacimiento desencadena una transformación radical en el intestino del bebé. La colonización del intestino comienza cuando el bebé abandona el vientre de la madre; en el caso de un parto vaginal, se encontrará con microorganismos de la vagina de su madre durante el parto y esta es la flora inicial que se establecerá en su intestino. En caso de producirse el nacimiento mediante una cesárea, serán las bacterias residentes en la piel (manos y pechos) las que colonizarán el intestino del recién nacido. Esta dicotomía en el inicio de la vida dejará una marca en la estructura del microbioma durante toda la vida<sup>21</sup>. En los siguientes días de vida, a medida que el bebé toma el pecho, recoge más microbios de la piel de su madre. Algunos autores proponen que el niño también consume microbios del intestino de su madre, que se infiltran en la leche de esta<sup>22</sup>. Un nuevo punto de quiebre se establece entonces en aquellos bebés que, por diversos motivos, deben consumir leche de fórmula, la cual no solo carece de esas bacterias, sino que no presenta la misma riqueza nutricional. La leche materna contiene una abundancia y diversidad inesperada de oligosacáridos complejos aparentemente indigeribles para el lactante en crecimiento y, en su lugar, dirigidos a alimentar y seleccionar su microbiota gastrointestinal<sup>23</sup>. Durante el desarrollo, los niños siguen coleccionando nuevos integrantes en este rico ecosistema intestinal al

interactuar con su entorno; llevan todas las cosas a su alcance hacia la boca, juegan con el perro o el gato de la familia, etc. Finalmente, se puede observar el impacto negativo producido por la alteración del microbioma durante los primeros meses de vida vinculado al consumo inadecuado de antibióticos. En un estudio realizado con 64 580 niños, la exposición repetida a los antibióticos de amplio espectro entre las edades de 0 a 23 meses se asoció con un aumento significativo de la obesidad infantil<sup>24</sup>. Considerando que las infecciones infantiles más comunes se relacionan con cuadros virales, la prescripción de antibióticos de amplio espectro, sin estudios bacteriológicos que los demanden, es innecesaria. Por ello, la modificación del uso inapropiado de antibióticos es crucial para prevenir un factor de riesgo potencialmente modificable para luchar contra la obesidad infantil.

## **Disbiosis intestinal y obesidad**

A mediados del siglo pasado, debido al ya notorio incremento de la incidencia de la obesidad, surgió una de las primeras hipótesis formuladas para explicar las raíces genéticas de este fenómeno. Planteada a principios de la década de 1960 por el genetista estadounidense James Neel, se conoce hoy como la hipótesis del “genotipo ahorrador” (*thrifty genotype*)<sup>25</sup>. Esta sugiere que la obesidad en los países industrializados es una herencia de los antepasados, poseedores de genes que favorecen el almacenamiento de energía.

El genotipo ahorrador habría sido beneficioso para las poblaciones de cazadores-recolectores, ya que les habría permitido ganar peso rápidamente en tiempos de abundancia y estar mejor adaptados para sobrevivir en tiempos de escasez de alimentos. Esta hipótesis se basa en la idea, ampliamente generalizada, de que las sociedades de cazadores-recolectores sufrieron hambrunas más frecuentes que las sociedades con otros modos de subsistencia (agricultores) y debieron adaptarse a períodos de escasez de alimentos. Esa capacidad genética presentaría ahora su contracara desfavorable propiciando la actual epidemia de obesidad en poblaciones en las que esa escasez alimenticia ya no existe. Sin embargo, algunos estudios respaldan la afirmación de que los cazadores-recolectores padecieron más hambre que otras sociedades. Una investigación reciente sugiere que, en realidad, habrían sufrido

sustancialmente menos hambrunas, si se considera igual calidad de hábitat como punto de partida de un análisis comparativo<sup>26</sup>. Este hallazgo desafiaba algunas de las suposiciones subyacentes a las explicaciones sobre la relación entre la dieta y la evolución humana y, en particular, pone en cuestionamiento la hipótesis del genotipo ahorrador como origen del fenómeno.

Ahora se entiende que la obesidad es el resultado de las interacciones entre la información genética tanto del organismo (genoma) como de su microbiota asociada (metagenoma) y el ambiente (actividad física, consumo de drogas y antibióticos, estrés, cantidad y calidad de los alimentos ingeridos, tabaco, alcohol, hábitos de higiene, etc.). Al considerar las influencias ambientales sobre el microbioma intestinal, la dieta es uno de los factores más importantes que afectan a los miembros de la comunidad microbiana, la diversidad y su estructura, lo que impacta de manera directa en la respuesta metabólica del hospedador. Las dietas ricas en grasas han mostrado alterar la composición y la riqueza de la microbiota intestinal<sup>27</sup>. Además, muchos estudios indican que el metabolismo microbiano de componentes no digeribles provenientes de la dieta produce una variedad de metabolitos microbianos con funciones biológicas<sup>28-30</sup>. Si bien algunos metabolitos microbianos, como los ácidos grasos de cadena corta y los ácidos biliares secundarios con propiedades bioactivas, junto con las cepas bacterianas asociadas, se estudiaron ampliamente, muchos otros aún están poco explorados<sup>31,32</sup>. Cabe destacar que la microbiota intestinal no solo repercute en la adiposidad y el sobrepeso al afectar las rutas metabólicas e inflamatorias del hospedador, sino que altera su comportamiento al intervenir en el eje cerebro-intestino<sup>33</sup>.

En conjunto, estas observaciones revelan que los efectos inducidos por la dieta en los microbios intestinales son profundos, con un impacto duradero en el fenotipo del hospedador. En los seres humanos, los efectos de estas investigaciones se han limitado a estudios transversales que no pueden establecer la causalidad debido a la gran variabilidad en los metadatos interindividuales, así como a la dificultad del muestreo<sup>34,35</sup>.

Se sabe que, en individuos genéticamente susceptibles, los cambios en la microbiota intestinal pueden dar lugar a patologías de desregulación inmunitaria, incluidas las enfermedades inflamatorias crónicas del intestino, la diabetes y la obe-

sidad, en las que el sistema inmunitario reacciona exageradamente frente a antígenos microbianos no nocivos.

Desde un punto de vista fisiológico, la grasa corporal actúa como depósito de energía primaria. En este sentido, se encuentra estrechamente vinculada a la regulación fisiológica de la ingesta de alimentos (asociados con los impulsos apetitivos y hedónicos) y al gasto energético (GE) (principalmente por termogénesis). La obesidad se ha interpretado como una desviación del balance energético normal que podría tratarse solo reduciendo la relación consumo y gasto energético (CE/GE). Sin embargo, cada vez más evidencia indica que CE y GE están altamente interconectados y regulados por mecanismos complejos y coordinados con influencia hipotalámica, límbica, del tronco cerebral y otros centros del sistema nervioso central para regular la ingesta de alimentos y el GE. Por lo tanto, hay múltiples hormonas y circuitos neuronales que regulan el balance energético, como leptina (y su circuito tejido adiposo-hipotálamo), grelina (secretada por la mucosa gástrica), GLP-1, PYY y otros péptidos intestinales, así como varios neuropéptidos reguladores del apetito. En la obesidad, las señales inhibitorias de la ingesta están debilitadas por la resistencia a la leptina, lo que deriva en hiperfagia a pesar de los niveles elevados de leptina circulante<sup>35,36</sup>. Diferentes estudios que examinaron los efectos de los procedimientos quirúrgicos bariátricos demostraron que estos no cambian la respuesta fisiológica a la restricción calórica. Por el contrario, cambian la relación entre la masa grasa y sus respuestas fisiológicas asociadas<sup>37,38</sup>. Los procedimientos quirúrgico-metabólicos comparten la característica de cambiar los contenidos lumbales en todo el intestino, y estos contenidos alterados podrían ser la fuente proximal de los cambios posoperatorios en las señales metabólicas que emanan del tracto gastrointestinal después de la cirugía bariátrica. Estos cambios lumbales incluyen cambios profundos y específicos en la composición de la microbiota, que son específicos del tipo de procedimiento quirúrgico y no de la pérdida de peso asociada. Los experimentos de transferencia de materia fecal humana a ratones libres de gérmenes demuestran que pueden transmitir muchos de los fenotipos inducidos por la cirugía, lo que señala la contribución funcional de la microbiota en la regulación del balance energético y la masa de grasa corporal<sup>39</sup>.

Las estrategias de restricción dietética para el tratamiento de la obesidad tienden a mostrar fallas a largo plazo, ya que el organismo puede restaurar la masa grasa predieta (anormalmente elevada)<sup>40</sup>. Los procedimientos quirúrgicos bariátricos que provocan una pérdida considerable de masa grasa proporcionan un buen marco para estudiar los estados de energía alterados.

Lo cierto es que en los estudios en modelos con animales de estas operaciones, aquellos animales restringidos en calorías para perder peso adicional posoperatorio a los que luego se les permite comer *ad libitum* se comportan como si no hubieran sido operados<sup>37,38</sup>. Por su parte, la experiencia general en estudios de intervención dietética es que han sido difíciles de realizar y desafiantes de interpretar<sup>41</sup>. Muchos de ellos han fallado a largo plazo en poblaciones de vida libre, en las que históricamente las fallas se atribuyeron a una adherencia inadecuada del sujeto. Sin embargo, se observa que la amplia variabilidad interindividual en su respuesta a las dietas y la capacidad de perder peso no se pueden explicar fácilmente por la mera falta de conformidad, mientras que la heterogeneidad en la regulación y la actividad de los mecanismos derivados del huésped son una contribución más probable. Por ello, la comprensión de la plasticidad de la microbiota intestinal y su alta sensibilidad de respuesta a los cambios en la dieta y otras influencias ambientales es un campo de amplio estudio en todo el mundo.

### Probióticos y alimentos funcionales

La mayoría de las especies probióticas empleadas en la industria alimentaria han sido aisladas de la microbiota humana. Esta microbiota ejerce una función crucial en la salud, no solo debido a su participación en el proceso de digestión, sino también en la funcionalidad del tracto digestivo y del sistema inmunitario<sup>42</sup>; además, constituye la interfase entre la matriz alimentaria y las células intestinales. Consumir probióticos asegura una flora intestinal adecuada por el efecto de recambio permanente de microorganismos vivos y por el efecto prebiótico que implica la ingesta de metabolitos producidos durante un proceso fermentativo del alimento que los contiene<sup>18</sup>. La presencia y la composición de la microbiota son determinantes del estado fisiológico y de la salud del hospedador. La disbiosis, estado alterado de la microbiota comensal, está

vinculada a estados de enfermedad. Por lo tanto, el entendimiento de la comunicación microbiota intestinal-hospedador es un importante tema de investigación.

El microambiente intestinal es dependiente de la interacción microbiota-hospedador: *Lactobacillus* es el género dominante en el intestino delgado y *Bifidobacterium* lo es en el intestino grueso. Las bacterias intestinales participan en el metabolismo de carbohidratos, lípidos, proteínas, vitaminas, etc.; a su vez, algunos productos de estos procesos metabólicos regulan el metabolismo bacteriano, la composición de la comunidad y la asimilación intestinal.

Entre los productos metabólicos intercambiados se encuentran moléculas de RNA como los microRNA<sup>43,44</sup>. Se demostró que estos modulan diversos procesos biológicos críticos, que incluyen diferenciación celular, apoptosis, proliferación, respuesta inmunitaria y mantenimiento de la integridad de células y tejidos<sup>45</sup>. La producción por parte de microorganismos probióticos de moléculas recombinantes dirigidas específicamente contra genes blanco del hospedador podría utilizarse para regular la respuesta inflamatoria frente a fenómenos de disbiosis. Esto propone que el uso de RNA sintéticos podría representar una novedad para el entendimiento de la comunicación probiótico-hospedador, propiciando implicaciones biotecnológicas concretas que vinculen la ciencia y la tecnología de alimentos funcionales al servicio de mejorar la calidad de vida.

### REFERENCIAS

1. International Diabetes Federation. IDF Diabetes Atlas. Bruselas, Bélgica; 2017.
2. Zimmet P. The burden of type 2 diabetes: are we doing enough? *Diabetes Metab* 2003;29:6S9-18.
3. Shoelson SE. Inflammation and insulin resistance. *J Clin Invest* 2006;116:2308.
4. Duncan BB, Schmidt MI. The epidemiology of low-grade chronic systemic inflammation and type 2 diabetes. *Diabetes Technol Ther* 2006;8:7-17.
5. Chen L, Chen R, Wang H, Liang F. Mechanisms linking inflammation to insulin resistance. *Int J Endocrinol* 2015;2015:1-9.
6. Gallagher EJ, LeRoith D, Karnieli E. The metabolic syndrome-from insulin resistance to obesity and diabetes. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2008;37:559-79, vii.
7. Hotamisligil GS. Inflammation and metabolic disorders. *Nature* 2006;444:860-7.
8. Xu J, Gordon JI. Honor thy symbionts. *Proc Natl Acad Sci* 2003;100:10452-9.
9. Hooper LV, Xu J, Falk PG, Midtvedt T, Gordon JI. A molecu-

- lar sensor that allows a gut commensal to control its nutrient foundation in a competitive ecosystem. *Proc Natl Acad Sci* 1999;96:9833-8.
10. Vijay-Kumar M, Aitken JD, Carvalho FA, Cullender TC, Mwangi S, Srinivasan S, et al. Metabolic syndrome and altered gut microbiota in mice lacking Toll-like receptor 5. *Science* 2010;328:228-31.
  11. Moreno-Indias I, Cardona F, Tinahones FJ, Queipo-Ortuño MI. Impact of the gut microbiota on the development of obesity and type 2 diabetes mellitus. *Front Microbiol* 2014;5:190.
  12. Boutagy NE, McMillan RP, Frisard MI, Hulver MW. Metabolic endotoxemia with obesity: Is it real and is it relevant? *Biochimie* 2016;124:11-20.
  13. Backhed F, Ding H, Wang T, Hooper LV, Koh GY, Nagy A, et al. The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2004;101:15718-23.
  14. Cani PD, Amar J, Iglesias MA, Poggi M, Knauf C, Bastelica D, et al. Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. *Diabetes* 2007;56:1761-72.
  15. Creely SJ, McTernan PG, Kusminski CM, Fisher M, Da Silva NF, Khanolkar M, et al. Lipopolysaccharide activates an innate immune system response in human adipose tissue in obesity and type 2 diabetes. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2007;292:E740-7.
  16. Tsukumo DML, Carvalho-Filho MA, Carvalheira JBC, Prada PO, Hirabara SM, Schenka AA, et al. Loss-of-function mutation in Toll-like receptor 4 prevents diet-induced obesity and insulin resistance. *Diabetes* 2007;56:1986-98.
  17. Belforte FS, Coluccio Leskow F, Poskus E, Penas Steinhardt A. Toll-like receptor 4 D299G polymorphism in metabolic disorders: a meta-analysis. *Mol Biol Rep* 2013;40:3015-20.
  18. Belkaid Y, Hand TW. Role of the microbiota in immunity and inflammation. *Cell* 2014;157:121-41.
  19. Jostins L, Ripke S, Weersma RK, Duerr RH, McGovern DP, Hui KY, et al. Host-microbe interactions have shaped the genetic architecture of inflammatory bowel disease. *Nature* 2012;491:119-24.
  20. Gohir W, Ratcliffe EM, Sloboda DM. Of the bugs that shape us: maternal obesity, the gut microbiome, and long-term disease risk. *Pediatr Res* 2015;77:196-204.
  21. Dominguez-Bello MG, Costello EK, Contreras M, Magris M, Hidalgo G, Fierer N, et al. Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. *Proc Natl Acad Sci USA*;2010;107:11971-5.
  22. McGuire MK, McGuire MA. Got bacteria? The astounding, yet not-so-surprising, microbiome of human milk. *Curr Opin Biotechnol* 2017;44:63-8.
  23. Zivkovic AM, German JB, Lebrilla CB, Mills DA. Human milk glycobiome and its impact on the infant gastrointestinal microbiota. *Proc Natl Acad Sci* 2010;108:4653-8.
  24. Bailey LC, Forrest CB, Zhang P, Richards TM, Livshits A, DeRusso PA. Association of antibiotics in infancy with early childhood obesity. *JAMA Pediatr* 2014;168:1063-9.
  25. Neel JV. Diabetes mellitus: a "thrifty" genotype rendered detrimental by "progress"? *Am J Hum Genet* 1962;14:353-62.
  26. Pontzer H, Raichlen DA, Wood BM, Mabulla AZP, Racette SB, Marlowe FW. Hunter-gatherer energetics and human obesity. *PLoS One* 2012;7:e40503.
  27. Martinez KB, Leone V, Chang EB. Western diets, gut dysbiosis, and metabolic diseases: Are they linked? *Gut Microbes* 2017;8:130-42.
  28. Bennett BJ, De Aguiar Vallim TQ, Wang Z, Shih DM, Meng Y, Gregory J, et al. Trimethylamine-N-oxide, a metabolite associated with atherosclerosis, exhibits complex genetic and dietary regulation. *Cell Metab* 2013;17:49-60.
  29. Sonnenburg JL, Bäckhed F. Diet-microbiota interactions as moderators of human metabolism. *Nature* 2016;535:56-64.
  30. Wu GD, Compher C, Chen EZ, Smith SA, Shah RD, Bittinger K, et al. Comparative metabolomics in vegans and omnivores reveal constraints on diet-dependent gut microbiota metabolite production. *Gut* 2016;65:63-72.
  31. Donia MS, Fischbach MA. Human microbiota. Small molecules from the human microbiota. *Science* 2015;349:1254766.
  32. Guo C-J, Chang F-Y, Wyche TP, Backus KM, Acker TM, Funabashi M, et al. Discovery of reactive microbiota-derived metabolites that inhibit host proteases. *Cell* 2017;168:517-26.e18.
  33. Bauer PV, Hamr SC, Duca FA. Regulation of energy balance by a gut-brain axis and involvement of the gut microbiota. *Cell Mol Life Sci* 2016;73:737-55.
  34. Carmody RN, Gerber GK, Luevano JM, Gatti DM, Somes L, Svenson KL, et al. Diet dominates host genotype in shaping the murine gut microbiota. *Cell Host Microbe* 2015;17:72-84.
  35. Rosenbaum M, Leibel RL. 20 years of leptin: Role of leptin in energy homeostasis in humans. *J Endocrinol* 2014;223:T83-T96.
  36. Rosenbaum M. Low-dose leptin reverses skeletal muscle, autonomic, and neuroendocrine adaptations to maintenance of reduced weight. *J Clin Invest* 2005;115:3579-86.
  37. Stefater MA, Pérez-Tilve D, Chambers AP, Wilson-Pérez HE, Sandoval DA, Berger J, et al. Sleeve gastrectomy induces loss of weight and fat mass in obese rats, but does not affect leptin sensitivity. *Gastroenterology* 2010;138:2426-24.e3.
  38. Hao Z, Mumphy MB, Townsend RL, Morrison CD, Münzberg H, Ye J, et al. Reprogramming of defended body weight after Roux-En-Y gastric bypass surgery in diet-induced obese mice. *Obesity* 2016;24:654-60.
  39. Liou AP, Paziuk M, Luevano J-M Jr, Machineni S, Turnbaugh PJ, Kaplan LM. Conserved shifts in the gut microbiota due to gastric bypass reduce host weight and adiposity. *Sci Transl Med* 2013;5:178ra41.
  40. Blundell JE, Caudwell P, Gibbons C, Hopkins M, Näslund E, King NA, et al. Body composition and appetite: fat-free mass (but not fat mass or BMI) is positively associated with self-determined meal size and daily energy intake in humans. *Br J Nutr* 2012;07:445-9.
  41. Alhassan S, Kim S, Bersamin A, King AC, Gardner CD. Dietary adherence and weight loss success among overweight women: results from the A TO Z weight loss study. *Int J Obes* 2008;32:985-91.
  42. Du X, Poltorak A, Silva M, Beutler B. Analysis of Tlr4-mediated LPS signal transduction in macrophages by mutational modification of the receptor. *Blood Cells Mol Dis* 1999;25:328-38.
  43. Iborra M, Bernuzzi F, Invernizzi P, Danese S. MicroRNAs in autoimmunity and inflammatory bowel disease: crucial regulators in immune response. *Autoimmun Rev* 2012;11:305-14.
  44. Runtzsch MC, Round JL, O'Connell RM. MicroRNAs and the regulation of intestinal homeostasis. *Front Genet* 2014;5:347.
  45. Treiber T, Treiber N, Meister G. Regulation of microRNA biogenesis and its crosstalk with other cellular pathways. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2019;20(1):5-20.

# Cribado de portadores de enfermedades monogénicas Asesoramiento genético preconcepcional

## Preconception carrier screening for monogenic disorders

Laura Igarzábal

Sección Genética, Centro de Educación Médica e Investigaciones Clínicas (CEMIC), Hospital Universitario, PREGNA, Medicina Reproductiva, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

Contacto de la autora: Laura Igarzábal

E-mail: mligarzabal@gmail.com

Correspondencia: Juncal 3490, C1428AYV, CABA.

Recibido: 24/10/2018

Aceptado: 22/1/2019

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

### Resumen

El cribado de portadores o *carriers* de enfermedades monogénicas es una estrategia de cribado genético preconcepcional que busca identificar a los individuos o parejas con mayor riesgo de transmitir enfermedades monogénicas a la descendencia, principalmente, de herencia mendeliana autosómica recesiva o ligada al cromosoma X. La mayoría de las parejas portadoras de enfermedades recesivas no tienen historia familiar de la enfermedad ni conocimiento de su estado de portador hasta el nacimiento de un hijo con la patología. De aquí la importancia de este estudio, que tiene como objetivo principal evaluar e informar a un individuo o pareja sobre el riesgo de enfermedades monogénicas en la descendencia y, de este modo, ampliar sus opciones reproductivas.

El cribado de portador de enfermedades monogénicas puede estar orientado por la ascendencia u origen étnico (cribado basado en la ascendencia u origen étnico), o aplicarse a toda la población (cribado universal). Se puede optar por la estrategia de evaluar las enfermedades recesivas más prevalentes en determinado grupo étnico, o elegir paneles ampliados que incluyan cientos de enfermedades, preferentemente aquellas consideradas graves y frecuentes (cribado ampliado). El momento ideal para realizar el cribado es en el período preconcepcional.

Si cada miembro de una pareja es portador de la misma enfermedad recesiva, la probabilidad de descendencia afectada con esa enfermedad es del 25% en cada embarazo. Si cada miembro de una pareja (o donante de gametos) es portador de una enfermedad distinta, la probabilidad de descendencia con esas enfermedades es baja. Un estudio negativo no elimina el riesgo de que la descendencia esté afectada, solo lo disminuye. Para la mayoría de las enfermedades, ser portador no tiene consecuencias clínicas para el individuo.

Cada país, región, institución o profesional toma la decisión de implementar (o no) el cribado de portador de enfermedades monogénicas y la estrategia de acuerdo con la presencia (o no) de políticas de salud o las guías de las sociedades científicas.

**Palabras clave:** asesoramiento genético preconcepcional, cribado genético, portador.

Revista de la Sociedad Argentina de Endocrinología Ginecológica y Reproductiva 2019; Vol. XXVI N° 1 Enero - junio de 2019: 18-29

### Abstract

*The screening of carriers of monogenic diseases is a preconceptional genetic screening strategy that seeks to identify individuals or couples with increased risk of transmitting monogenic diseases to the descendants, mainly of autosomal Mendelian inheritance recessive or linked to the X chromosome. Most of the couples carrying recessive diseases have no history family member of the disease or knowledge of his condition carrier until the birth of a child with the pathology. Of here the importance of this study, which aims to principal evaluate and inform an individual or couple about the risk of monogenic diseases in the offspring and, this way, expand your reproductive options.*

*The screening of carriers of monogenic diseases may be oriented by descent or ethnic origin (screening based on descent or ethnic origin), or applied to the entire population*

*(universal screening). You can choose the strategy to assess the most prevalent recessive diseases in a given ethnic group, or choose expanded panels that include hundreds of diseases, preferably those considered serious and frequent (expanded screening). The ideal time to perform the screening is in the preconceptional period.*

*If each member of a couple is a carrier of the same recessive disease, the probability of affected offspring with that disease is 25% in each pregnancy. If each member of a couple is a carrier of the same recessive disease, the probability of affected offspring with that disease is 25% in each pregnancy. A negative study does not eliminate the risk of offspring being affected, only decreases it. For most diseases, being a carrier does not have clinical consequences for the individual.*

*Each country, region, institution or professional makes the decision to implement (or not) the screening of disease carriers monogenic and the strategy according to the presence (or not) of health policies or guides of scientific societies.*

**Key words:** preconceptional genetic counseling, genetic screening, carrier.

Revista de la Sociedad Argentina de Endocrinología Ginecológica y Reproductiva 2019; Vol. XXVI N° 1 Enero - junio de 2019: 18-29

### INTRODUCCIÓN

Se denomina cuidado o control preconcepcional a una serie de intervenciones de prevención y tratamiento que tienen como objetivo

identificar y modificar los riesgos médicos, de comportamiento y sociales que pueden comprometer la salud de la embarazada o el resultado de la gestación. Este control se apoya, princi-

palmente, en cuatro pilares: 1) examen clínico (antecedentes personales y familiares, examen físico, estudios complementarios pertinentes); 2) vacunación; 3) cribado o pesquisa (*screening*) genético; 4) asesoramiento de riesgos. El cribado genético preconcepcional hace referencia a cualquier proceso que trate de identificar a individuos o parejas con mayor riesgo de transmitir enfermedades de origen genético a su descendencia<sup>1</sup>.

El cribado de portadores o *carriers* de enfermedades monogénicas es una estrategia de cribado genético preconcepcional que busca identificar a los individuos o parejas con mayor riesgo de transmitir enfermedades monogénicas a la descendencia, principalmente, de herencia mendeliana autosómica recesiva o ligada al cromosoma X. En la actualidad, muchos laboratorios ofrecen estudios que incluyen enfermedades con otros tipos de herencia<sup>2</sup>.

### Breve introducción a la genética

Cuando se habla de genoma se alude a toda la información genética contenida en la célula. Se estima que hay alrededor de 22.000 genes empaquetados en forma de 46 cromosomas, y si bien el genoma humano ha sido secuenciado, sólo se conoce la función de un pequeño porcentaje de genes. Todos los genes de un individuo se presentan de a pares (excepto en los gametos): una copia de cada gen proveniente del óvulo y la otra del espermatozoide que le dio origen. Por lo tanto, un embrión recibe la mitad de sus genes de cada gameto. La mayor parte de esta información genética es idéntica entre las personas (más del 99%), pero existen ciertas variaciones esperables en la secuencia del genoma. Algunas de estas variaciones se traducirán en enfermedad, del individuo o de su descendencia, son las denominadas variantes patogénicas (antes llamadas mutaciones); otras no producirán alteración en el fenotipo (variantes benignas); y una tercera clase, denominadas variantes de significado incierto (*variants of uncertain significance*, VUS), son aquellas sobre las cuales, hasta el momento, no hay información suficiente como para determinar con precisión su patogenicidad (podrán reclasificarse en benignas o patogénicas si surge información que lo avale)<sup>3</sup>.

Las anomalías genéticas causadas por variaciones patogénicas en genes únicos (enferme-

dades monogénicas) se transmiten siguiendo patrones de herencia clásicos o mendelianos (herencia autosómica dominante, autosómica recesiva, ligada al cromosoma X). Existen otros mecanismos de herencia no clásicos para anomalías génicas, como la herencia mitocondrial y la disomía uniparental.

Las enfermedades monogénicas autosómicas dominantes se expresan con una sola copia del gen anormal y se transmiten al 50% de la descendencia de un individuo afectado. Las enfermedades recesivas solo se manifiestan cuando ambas copias del gen presentan variantes patogénicas (estado homocigoto = misma variante patogénica; o heterocigoto compuesto = dos variantes patogénicas distintas). Los individuos afectados proceden de progenitores portadores en estado heterocigoto. En las enfermedades con herencia recesiva ligada al cromosoma X, las mujeres son casi siempre portadoras asintomáticas (o menos a menudo con afectación leve), y la mitad de su descendencia masculina estará afectada. Las enfermedades con herencia dominante ligada al cromosoma X afectan a las mujeres ya que, en líneas generales, son letales para los varones<sup>3</sup>.

Se estima que cada individuo posee, en promedio, 2 a 3 variantes patogénicas en genes de enfermedades recesivas<sup>4,5</sup>. Para estas enfermedades, el individuo es portador o *carrier*, generalmente asintomático, ya que posee el otro alelo (copia del gen) normal. Ahora bien, si tanto el varón que aporta el espermatozoide como la mujer que aporta el óvulo son ambos portadores de la misma enfermedad recesiva, el riesgo de tener a un recién nacido afectado con esa patología es del 25% (1 de 4) en cada concepción. Se describieron, hasta el momento, alrededor de 1.300 enfermedades recesivas (autosómicas o ligadas al cromosoma X) y se calcula que la probabilidad de que ambos miembros de una pareja de la población general sean portadores de la misma enfermedad recesiva es de 1-2%<sup>6</sup>. Este riesgo aumenta en determinadas etnias o en parejas consanguíneas. Por el contrario, si solo un miembro de la pareja es portador (o cada uno es portador de una enfermedad distinta), el riesgo de un recién nacido afectado para esa enfermedad es improbable.

La mayoría de las parejas portadoras de enfermedades recesivas no tienen historia familiar de la enfermedad ni conocimiento de su estado de portador hasta el nacimiento de un hijo con

la patología. De ahí la relevancia del cribado de portadores de enfermedades monogénicas.

## CRIBADO DE PORTADOR O CARRIER DE ENFERMEDADES MONOGÉNICAS

El cribado de portador de enfermedades monogénicas es un estudio genético realizado en un individuo sano (asintomático) y sin historia familiar de las patologías evaluadas, para determinar si posee, o no, una variante patogénica en un gen asociado a una enfermedad monogénica, que evidencia un incremento del riesgo de descendencia afectada por esa patología. Este riesgo para la descendencia dependerá del estado de portador de su pareja (o donante de gametos). El objetivo principal del estudio es evaluar e informar a un individuo o pareja sobre el riesgo de enfermedades monogénicas en la descendencia y, de este modo, ampliar sus opciones reproductivas<sup>7</sup>.

Cuando se implementa una estrategia de cribado de portador de enfermedades monogénicas se deben tener en cuenta las siguientes variables:

- A qué población está dirigido: de acuerdo con la ascendencia u origen étnico, o en forma universal.
- La cantidad de enfermedades evaluadas: el estudio puede evaluar una patología genética específica, un grupo pequeño de enfermedades o múltiples condiciones de forma simultánea.
- El tipo de enfermedades incluidas en el estudio.
- Si se evalúa a un individuo o a la pareja, en forma consecutiva o simultánea.
- El momento para realizarlo: en el período preconcepcional o prenatal.
- La técnica molecular utilizada.

### A qué población está dirigido

El cribado de portador de enfermedades monogénicas puede ofrecerse de acuerdo con la ascendencia u origen étnico, o en forma universal a cualquier individuo, con independencia de la etnia.

En ausencia de historia familiar, la probabilidad de identificar a un individuo portador de una patología depende de la prevalencia de esta en la población estudiada. Cuanto más frecuentemente se observa una enfermedad genética recesiva en una población, mayor es la frecuencia de ser portador de esta (Tablas 1 y 2)<sup>8</sup>. Algu-

nas patologías son prevalentes en la población general (p. ej., atrofia muscular espinal) y otras son más comunes en determinados grupos étnicos. Este hecho ha guiado, históricamente, la práctica médica de ofrecer el cribado a aquellos grupos étnicos considerados de alto riesgo para sufrir determinadas enfermedades (p. ej., fibrosis quística en los caucásicos o en los judíos ashkenazis; beta talasemia en las personas de ascendencia griega e italiana; alfa talasemia en los individuos del sudeste asiático; enfermedad de Tay-Sachs, enfermedad de Canavan y disautonomía familiar en los judíos ashkenazis). Esta estrategia se conoce como cribado basado en la ascendencia u origen étnico<sup>9</sup>.

La definición de etnia es controvertida, ya que varía ampliamente si se clasifica de acuerdo con la autopercepción, las características lingüísticas-culturales-históricas o los marcadores alélicos de origen étnico. En las sociedades actuales, el incremento de parejas de orígenes diversos y los movimientos migratorios, hacen cada vez más difícil determinar con precisión la ascendencia de un individuo. Esto también tiene como consecuencia que la probabilidad pre test de ser portador de una enfermedad específica no coincida con las presunciones previas sobre la prevalencia de esa patología en el grupo étnico con el que se identifica un individuo.

En cuanto a la población sudamericana, es frecuente asociarla con los términos hispano o latino. Se considera que es una población con alto grado de mezcla étnica y, por lo tanto, no pueden tomarse estos términos como equivalentes para todas las regiones. Hispano se refiere a aquellas personas que hablan el idioma español; nativo puede utilizarse para marcar el origen amerindio, aunque con contribución española y portuguesa entre los siglos XVI y XVIII; por últi-

Grupo étnico	Enfermedades prevalentes
Caucásicos	Fibrosis quística
Afroamericanos	Talasemia Anemia de células falciformes
Judíos ashkenazis	Fibrosis quística Tay-Sachs Disautonomía familiar Enfermedad de Gaucher Enfermedad de Canavan
Asiáticos	Alfa talasemia

**Tabla 1:** Ejemplos de enfermedades prevalentes en determinados grupos étnicos.

Enfermedad monogénica	Frecuencia de portador de acuerdo con ascendencia - etnia - raza					
	Ashkenazi	Caucásica	Hispana	Afroamericana	Asiática	Panétnica
Fibrosis quística	1 en 24	1 en 25	1 en 58	1 en 64	1 en 88	1 en 45
Atrofia muscular espinal	1 en 41	1 en 35	1 en 91	1 en 71	1 en 53	-
Alfa talasemia		1 en 500		1 en 30	1 en 20	1 en 48
Tay-Sachs	1 en 30					1 en 300
Enfermedad de Canavan	1 en 45					1 en 159
Disautonomía familiar	1 en 32					1 en 500
Enfermedad de Gaucher	1 en 18					1 en 158

**Tabla 2:** Frecuencia de portador de enfermedades monogénicas de acuerdo con la ascendencia-origen étnico<sup>8</sup>.

mo, el término latino incluye, hablando estrictamente, a todos los sudamericanos. Dado que, en las zonas urbanas de Sudamérica, la ascendencia se define como una mezcla trihíbrida, con contribución europea (principalmente españoles e italianos, menor de alemanes y franceses), americana nativa (amerindios con europeos) y africana<sup>10,11</sup>, es impreciso asignar el término hispano a toda esa población.

Esta dificultad para definir correctamente el origen étnico de los individuos y el hecho de que las enfermedades genéticas no afectan solo a determinados grupos han llevado a considerar como alternativa el cribado universal (no dirigido), independiente de la ascendencia/etnia/raza, sin restringirlo a ningún subgrupo en particular<sup>7,12</sup>. En los Estados Unidos, por ejemplo, se recomienda el cribado para fibrosis quística, atrofia muscular espinal y talasemia a todas las parejas en edad reproductiva.

### Cantidad de enfermedades evaluadas

En sus inicios, el cribado de portador de enfermedades monogénicas se concentró en la evaluación de patologías con herencia autosómica recesiva, prevalentes en determinados grupos étnicos y asociadas a una morbimortalidad significativa. Algunos países comenzaron, en la década de 1970, a realizar la detección sistemática de una o dos enfermedades en grupos étnicos definidos. Por ejemplo, en los Estados Unidos se inició el cribado de portador para la enfermedad de Tay-Sachs en la comunidad judía ashkenazi, para talasemia en la población de ascendencia mediterránea, y tiempo más tarde, para fibrosis quística en los individuos de ascendencia caucásica<sup>7</sup>.

En la actualidad, casi todos los países que tienen estrategias de cribado de portador como

parte de sus políticas de salud evalúan una a tres enfermedades en forma universal y/o un grupo de patologías de acuerdo con la ascendencia<sup>6</sup>.

En los últimos años, la evolución exponencial en el desarrollo de las técnicas moleculares y la disminución del costo de la secuenciación y análisis del DNA han posibilitado la evaluación simultánea de una gran cantidad de enfermedades. Aplicada al cribado de portador de enfermedades monogénicas, esta estrategia se llama cribado ampliado (*expanded carrier screening*, ECS). Los estudios denominados ECS incluyen la posibilidad de evaluar desde 5 o 10 enfermedades hasta cientos de patologías de manera simultánea por el mismo costo. La mayoría de los paneles de ECS que ofrecen los laboratorios incluyen cientos de enfermedades monogénicas con distintos tipos de herencia (incluso autosómica dominante), elegidas en forma arbitraria y más allá de las recomendadas por las sociedades científicas de su país de origen.

Hasta el momento, ninguna sociedad científica internacional ha recomendado el ECS como práctica clínica de rutina, pero lo consideran una opción válida<sup>6,8,12</sup>. En este sentido, como se verá a continuación, si bien no promueven estudiar todas las enfermedades técnicamente disponibles, la posibilidad de evaluar un grupo más amplio de enfermedades recesivas graves y frecuentes es atractiva.

### Tipo de enfermedades incluidas

Cuando se utiliza un panel de ECS se debe considerar el tipo de enfermedades que evalúa en relación con la gravedad, la edad de aparición y la variabilidad de su expresión fenotípica. En la actualidad, se discute sobre cuáles son las patologías que deben incluirse en los paneles, con una posición conservadora, que apoya la

idea de evaluar solo las afecciones frecuentes, graves y tratables; y otra que propone evaluar todo lo que pueda ser evaluado. Si bien no hay una posición única, la mayoría de las sociedades científicas sugieren excluir (o hacer opcional) aquellas enfermedades con fenotipo leve, presentación en la edad adulta o baja penetrancia<sup>6,7,9,12,13,15-18</sup>.

En 2013, el Colegio Americano de Genética Médica y Genómica publicó los criterios que deberían cumplir las enfermedades para ser incluidas en un ECS y desalentó la posición de “evaluar tantos trastornos como sea posible”<sup>16</sup>. Estos criterios fueron corroborados por un trabajo y posterior publicación conjunta de siete sociedades científicas de los Estados Unidos, entre ellas: Colegio Americano de Genética Médica y Genómica (ACMG), Colegio Americano de Ginecología y Obstetricia (ACOG), Sociedad Nacional de “Counselors” Genéticos (NSGC) y Sociedad Americana de Medicina Materno-Fetal (SMFM)<sup>12</sup>. Este consenso sugiere incluir patologías que cumplan los siguientes criterios:

- Enfermedades graves: aquellas asociadas a un efecto deletéreo en la calidad de vida, discapacidad física o cognitiva, que requieran cirugía o intervención médica y de comienzo temprano.
- Fenotipo de la enfermedad bien definido.
- Conocimiento de la prevalencia de la enfermedad.
- Conocimiento de los genes causantes, tipos y frecuencia de variantes patogénicas en la población estudiada.
- Frecuencia de portador superior o igual a 1 en 100.
- Conocimiento de la tasa de detección con la técnica utilizada.
- Ser factibles de diagnóstico prenatal o intervención intraútero que mejore el resultado perinatal.

Por lo tanto, se recomienda evaluar las enfermedades monogénicas graves y frecuentes, para las cuales haya conocimiento sobre genes, variantes patogénicas y capacidad diagnóstica del estudio molecular, de forma de poder calcular el riesgo residual luego de un resultado negativo, para lograr un asesoramiento preciso. Según la ACOG, sólo 22 enfermedades monogénicas cumplirían con estos criterios: fibrosis quística, atrofia muscular espinal, hemoglobinopatías, síndrome

del cromosoma X frágil, síndrome de Smith-Lemli-Opitz, fenilcetonuria, galactosemia, enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce 1A y 1B, hiperinsulinismo familiar, síndrome de Joubert, mucopolidosis IV, enfermedad de Nieman-Pick A, enfermedad de Gaucher, anemia de Fanconi de tipo C, síndrome de Bloom, enfermedad de Canavan, glucogenosis 1A, disautonomía familiar, enfermedad de Tay-Sachs, déficit de acil-CoA deshidrogenasa de cadena media. Asimismo, se sugiere excluir enfermedades poco frecuentes, de comienzo en la vida adulta (p. ej., genes *BRCA* que confieren un aumento del riesgo de padecer cáncer de mama o de ovario), o fenotipo leve y variable (p. ej., deficiencia de metilentetrahidrofolato reductasa, hemocromatosis).

Una de las limitaciones de esta propuesta es la subjetividad en cuanto a la medida de gravedad de las patologías tanto por parte de los profesionales como de los pacientes. Para ello, un grupo de expertos diseñó una escala para clasificar las enfermedades de acuerdo con el grado de gravedad y facilitar así la elección de las enfermedades por evaluar y el asesoramiento de los pacientes (Tabla 3)<sup>19</sup>. No obstante, en el momento de considerar un panel de ECS es difícil determinar cuáles son las patologías que deben incluirse en el amplio menú de opciones, con enfermedades con distintos tipos de herencia, gravedad y frecuencia variables.

Escala de gravedad	Características de la enfermedad
Profunda	Retraso madurativo y acortamiento de la expectativa de vida en la infancia
Grave	Retraso madurativo o acortamiento de la expectativa de vida en la infancia; malformaciones físicas
Moderada	Alguno de los siguientes: malformaciones físicas, limitación de la movilidad, ceguera, sordera. Capacidad intelectual y expectativa de vida normales
Leve	Comienzo en la vida adulta. Leves o tratables. Algunas asintomáticas

**Tabla 3:** Escala de gravedad de las enfermedades monogénicas<sup>19</sup>.

### Evaluar a la pareja en forma consecutiva o simultánea

Se pueden evaluar ambos miembros de una pareja de forma simultánea, o hacerlo de manera consecutiva (a partir de los resultados de un individuo se estudian, en la pareja o donante de

gametos, las patologías de las que el primero es portador). Ambas estrategias son aceptables y, hasta el momento, no se ha demostrado que una sea superior a la otra en cuanto a la eficacia de la detección. La elección dependerá de diversas variables: de tiempo, económicas, decisiones personales o de la institución médica.

Si la opción es estudiar primero a un individuo y es portador de una enfermedad genética, se informa a la pareja (o donante de gametos) la posibilidad de estudiar su estado de portador para esa patología. Asimismo, se invita a comunicar el resultado a familiares que pudieran ser portadores y la disponibilidad de realizar el cribado. Debe quedar claro que la información brindada por el estudio es personal y no puede revelarse sin autorización del paciente<sup>13</sup>.

### Momento para realizarlo

El objetivo del cribado genético es proveer a los individuos de información que pueda guiar la planificación familiar de acuerdo con sus deseos y valores personales. Idealmente, debería realizarse en el período preconcepcional, para que el individuo o la pareja puedan recibir información del riesgo para la descendencia antes del embarazo y ampliar sus opciones reproductivas<sup>14</sup>. Estas incluyen, entre otras: realizar el diagnóstico prenatal; optar por técnicas de reproducción asistida que incluyan el diagnóstico preimplantación o la donación de gametos; no realizar estudios complementarios y asumir el riesgo para la descendencia, preparándose ante la posibilidad de un recién nacido afectado; optar por no tener hijos; o la adopción. Si se realiza durante el embarazo, permite acceder al diagnóstico prenatal. En ambos casos, posibilita recibir asesoramiento e información en relación con el manejo futuro de un recién nacido afectado<sup>6</sup>.

Además, el cribado de portador podría contribuir a la aplicación temprana de intervenciones terapéuticas para determinadas enfermedades en el período neonatal, si bien hasta el momento este no se considera un objetivo principal del estudio.

Cabe destacar que el cribado de portador de enfermedades genéticas no reemplaza el cribado neonatal para enfermedades metabólicas, que tiene como objetivo el diagnóstico temprano de recién nacidos afectados por las patologías evaluadas. Este cribado neonatal tampoco reemplaza la información brindada por el cri-

bado de portador en cuanto al riesgo para la descendencia<sup>13</sup>.

### Técnica de estudio molecular

Los estudios de cribado de portador de enfermedades monogénicas utilizan alguna de las siguientes estrategias: a) análisis de un grupo predeterminado de variantes patogénicas (o probablemente patogénicas) con asociación válida a determinada patología (*genotyping* o *target*); b) secuenciación del/los gen/es, aplicando la denominada secuenciación de próxima generación (*next generation sequencing*, NGS).

La primera estrategia, que evalúa un grupo predeterminado de variantes asociadas a una patología, se basa en el hecho de que las enfermedades monogénicas son causadas por variantes patogénicas, algunas de ellas frecuentes y recurrentes en toda la población o en ciertos grupos étnicos. Esta estrategia permite identificar un porcentaje variable de parejas portadoras (que va a estar determinado por la prevalencia de la enfermedad, la cantidad de variantes evaluadas y la frecuencia de estas en la población estudiada). O sea, se deben conocer *a priori* la frecuencia de portador de la enfermedad y la tasa de detección de ese grupo de variantes en la población estudiada. Esta información permite calcular el *riesgo residual* (la probabilidad de ser portador luego de un resultado negativo) y, así, interpretar el estudio y asesorar correctamente (Tabla 4)<sup>9</sup>. Además, se sugiere estudiar las variantes que tengan una relación conocida y clara con el fenotipo, no así las variantes asociadas a un fenotipo variable o variantes benignas.

Los laboratorios que ofrecen ECS difieren en la cantidad y el tipo de variantes que evalúan. Por ejemplo, para la fibrosis quística se describieron más de 2000 variantes en el gen *CFTR*, algunas de ellas asociadas a un fenotipo variable o leve. El ACMG recomienda estudiar un grupo de 23 variantes patogénicas que van a detectar al 95% de los portadores de ascendencia ashkenazi, pero solo el 50% de los portadores asiáticos. Esto es así porque esas variantes son más frecuentes en la ascendencia ashkenazi. Muchos laboratorios ofrecen paneles de varias decenas de variantes para fibrosis quística, aumentando poco la tasa de detección en la población general (ya que la mayoría son muy poco frecuentes), y con la desventaja de evaluar variantes asociadas a un fenotipo variable o desconocido<sup>16</sup>.

Origen étnico	Frecuencia de portador	Tasa de detección	Riesgo residual luego de un estudio negativo
Caucásicos	1 en 24	88%	1 en 200
Judíos ashkenazis	1 en 25	94%	1 en 380
Asiáticos	1 en 88	49%	1 en 180
Afroamericanos	1 en 64	64%	1 en 170
Hispanos	1 en 58	72%	1 en 200

**Tabla 4:** Riesgo residual de ser portador de fibrosis quística luego del resultado negativo de un panel de 23 variantes patogénicas (ACMG) según el grupo étnico y la tasa de detección<sup>13</sup>.

Esta metodología, si bien tiene menor tasa de detección que la secuenciación completa del gen, es menos costosa y laboriosa porque no necesita evaluar la información obtenida y el análisis de variantes nuevas descubiertas con secuenciación.

Como desventaja, puede desencadenar interpretaciones erróneas o inciertas frente a un resultado negativo de la prueba si se estudian variantes patogénicas prevalentes en otro grupo étnico, diferente de la población en estudio; o en el contexto de patologías poco frecuentes. Por ejemplo, si se realiza el cribado de portador de la enfermedad de Tay-Sachs evaluando las tres variantes patogénicas más frecuentes en la población judía ashkenazi (las tres variantes corresponden al 90% del total de variantes observadas en este grupo), un resultado negativo va a disminuir considerablemente el riesgo residual de ser portador de Tay-Sachs en un individuo con este origen étnico, no así para otras ascendencias (donde las tres variantes solo representan el 35% del total de variantes halladas en Tay-Sachs). Por otro lado, puede resultar difícil el asesoramiento posterior al test cuando se evalúan patologías extremadamente raras, de las que se tiene poco o ningún conocimiento de la tasa de portador o de la frecuencia de las variantes analizadas.

La segunda estrategia consiste en la secuenciación completa de los genes. Con esta metodología se pueden identificar modificaciones en la secuencia normal del gen y, así, diagnosticar tanto variantes patogénicas como benignas o de significado incierto. Si bien con NGS es posible detectar cualquier tipo de variante, a los efectos de realizar el cribado de portador se utilizan filtros bioinformáticos para la interpretación de los datos genómicos, y se informan solo sobre las variantes patogénicas o probable-

mente patogénicas. Los laboratorios difieren en la interpretación de los resultados. Cuando se aplican protocolos rigurosos de laboratorio y la evaluación manual de todas las variantes nuevas potencialmente patogénicas y relevantes, la secuenciación permite identificar, de manera fiable, una mayor cantidad de parejas portadoras<sup>20</sup>. Debe quedar claro que, a pesar de utilizar una técnica de secuenciación, siempre hay cierto riesgo residual de que haya una variante patogénica no diagnosticada, ya sea por limitaciones técnicas en la cobertura del gen o porque no se informan variantes de significado incierto que a futuro sean reclasificadas como patogénicas<sup>19-22</sup>.

El consenso conjunto realizado por varias sociedades científicas internacionales sobre el ECS<sup>12</sup> advierte acerca del uso de rutina de la secuenciación debido a la dificultad para interpretar variantes raras o nuevas, y a la mayor tasa de detección de portadores de enfermedades poco frecuentes. Respecto de la identificación de variantes raras o nuevas, en muchos casos es imposible su categorización debido a la escasa información. La falta de rigurosidad en esta evaluación por parte de algún laboratorio puede llevar a clasificarlas como patogénicas y, por consiguiente, informarlas (en lugar de asignarles significado incierto y no reportarlas). Por otro lado, los paneles de ECS que se ofrecen en la actualidad suelen evaluar cientos de patologías, muchas de ellas poco frecuentes y con ningún conocimiento de la tasa de portador en la población general. La identificación de portadores de enfermedades poco prevalentes lleva al estudio de la pareja sin un conocimiento real del rédito diagnóstico de esta estrategia.

El otro punto para tener en cuenta es considerar cuál es el mejor método de cribado para determinadas enfermedades. Por ejemplo, para algunas patologías incluidas en los paneles de

ECS, como la enfermedad de Tay-Sachs y la beta talasemia, la prueba bioquímica es el mejor método en la población general, con mayor tasa de detección de portadores que el estudio molecular. Para otras enfermedades, es necesario aplicar técnicas moleculares adicionales. Por ejemplo, para evaluar las deleciones exónicas en la atrofia muscular espinal, se debe utilizar la técnica MLPA, y para determinar la cantidad de tripletes en el gen asociado al síndrome del cromosoma X frágil, la PCR cuantitativa.

En resumen, el cribado de portador de enfermedades monogénicas puede estar orientado por la ascendencia u origen étnico (cribado basado en la ascendencia u origen étnico), o aplicarse a toda la población (cribado universal). Se puede optar por la estrategia de evaluar las enfermedades recesivas más prevalentes en determinado grupo, o elegir paneles ampliados que incluyan cientos de enfermedades, preferentemente aquellas consideradas graves y frecuentes (cribado ampliado). El momento ideal para realizar el cribado es en el período preconcepcional.

### Asesoramiento pre-test

El asesoramiento pre-test les permite a los individuos tomar decisiones informadas. Este proceso incluye asesorar con la mejor evidencia disponible (en relación con el cribado), y un intercambio de ideas con el individuo o la pareja que facilite la toma de decisiones (realizar o no el test) de forma autónoma y congruente con sus valores y expectativas. Para los individuos que finalmente eligen realizar el cribado, el asesoramiento pre-test facilitará la consulta posterior al estudio<sup>23,24</sup>.

En primer lugar, como en toda consulta de asesoramiento, se debe obtener la historia familiar y personal del individuo o de la pareja y construir el árbol genealógico. Se incluye también la ascendencia u origen étnico y la presencia de consanguinidad, y se interroga sobre los antecedentes de malformaciones, enfermedades de posible origen genético, retraso madurativo, muerte fetal o neonatal, o en la infancia. Esta es la primera herramienta de asesoramiento genético de riesgo, ya que permite determinar la presencia de enfermedades de probable origen genético y el mecanismo de herencia en la familia<sup>1</sup>.

Si hay antecedentes de una enfermedad monogénica determinada, el asesoramiento y la evaluación deben seguir los pasos habituales:

confirmación de la enfermedad y variante patogénica en la familia. Idealmente, si se ha determinado el origen génico de esa patología, o sea, si se ha determinado la variante patogénica en el familiar afectado, es necesario verificar que el estudio de portador incluya la evaluación o el informe de esa variante. En caso contrario, se debe ofrecer el estudio de la patología familiar en cuestión.

En relación con el asesoramiento del cribado de portador, hay que considerar las variables ya detalladas: la población a la que pertenece el individuo o pareja que se desea estudiar (o donante de gametos), las enfermedades y el tipo de metodología que se usa. Se debe explicar el propósito del estudio, los beneficios, limitaciones, posibles resultados e implicaciones, y aclarar sobre la posibilidad de hallazgos secundarios (p. ej., diagnóstico de portador de enfermedad ligada al cromosoma X).

En síntesis, es necesario incluir los siguientes conceptos<sup>25-27</sup>:

- El estudio es electivo y es válido aceptarlo o rechazarlo.
- Las enfermedades incluidas en los distintos paneles de ECS varían en cantidad y gravedad.
- Cuantas más enfermedades incluya el estudio, más probable es encontrar un portador. Por otro lado, es posible que los ECS con cientos de patologías evalúen algunas con fenotipo variable o leve, o con poco conocimiento sobre la prevalencia de portador.
- Si cada miembro de una pareja es portador de la misma enfermedad recesiva, la probabilidad de que la descendencia padezca esa enfermedad es del 25% en cada embarazo. Mencionar las opciones reproductivas.
- Si cada miembro de una pareja (o donante de gametos) es portador de una enfermedad distinta, la probabilidad de descendencia con esas enfermedades es baja.
- Un estudio negativo no elimina el riesgo de que la descendencia esté afectada, lo disminuye.
- Para la mayoría de las enfermedades, ser portador no tiene consecuencias clínicas para el individuo.
- Algunos paneles ampliados estudian enfermedades ligadas al cromosoma X o dominantes, y por lo tanto, un individuo puede descubrir que tiene alguna de estas enfermedades en estadio presintomático (p. ej., enfermedad de Fabry,

hemocromatosis, síndrome del cromosoma X frágil).

- Existe la posibilidad de tener que realizar estudios posteriores a un resultado positivo (p. ej., secuenciación de genes únicos).

- No es necesario detallar específicamente las características clínicas de todas las enfermedades evaluadas en el ECS, sino una descripción genérica sobre distintos grados de gravedad<sup>23</sup>.

### Asesoramiento post-test

El asesoramiento genético posterior al estudio es de suma importancia para una correcta interpretación y, por consiguiente, para los pasos por seguir. Se pueden plantear las siguientes situaciones clínicas: 1) ambos miembros de la pareja son portadores de la misma enfermedad monogénica; 2) ambos miembros de la pareja (o receptor y donante de gametos) no son portadores de ninguna de las enfermedades monogénicas evaluadas; 3) un individuo es portador de una/s enfermedad/es monogénica/s; 4) un individuo no es portador de ninguna de las enfermedades monogénicas evaluadas<sup>25-28</sup>.

1) Si ambos miembros de una pareja (o receptor y donante de gametos) son portadores de la misma enfermedad autosómica recesiva se informa sobre la probabilidad de descendencia afectada del 25% en cada embarazo. Se explican en detalle las características de esa patología. Se informa sobre las opciones reproductivas: realizar el diagnóstico prenatal; optar por las técnicas de reproducción asistida que incluyan el diagnóstico preimplantación o la donación de gametos; no realizar los estudios complementarios y asumir el riesgo para la descendencia, preparándose ante la posibilidad de un recién nacido afectado; optar por no tener hijos; o la adopción. Se reafirma que, para la mayoría de las enfermedades, ser portador no tiene consecuencias clínicas para el individuo.

2) Si la pareja (o receptor y donante de gametos) no es portadora de ninguna de las enfermedades monogénicas evaluadas, se informa que el riesgo de descendencia afectada con esas enfermedades es bajo. Se aclara que un estudio negativo no elimina este riesgo, pero lo disminuye. La disminución de riesgo va a depender de la metodología utilizada en el estudio y de la tasa de detección para cada una de las patologías.

3) Si un individuo es portador de una variante patogénica de una o más enfermedades re-

cesivas, el riesgo de que la descendencia esté afectada dependerá del estado de portador de su pareja (o donante de gametos), por lo que se ofrece realizar el estudio. Se puede optar por el cribado ampliado con un grupo predeterminado de variantes, o por secuenciación con NGS; o realizar la pesquisa sólo para la patología en cuestión. Se debe recordar que siempre hay un riesgo residual de ser portador, aunque mínimo, luego de un estudio de cribado negativo. La disminución del riesgo va a depender de la metodología utilizada en el estudio y de la tasa de detección para cada una de las patologías. Es posible una mayor reducción del riesgo a través de la secuenciación del gen único, pero esta no es una estrategia que se recomienda de rutina<sup>9,12,18,26</sup>.

Algunos especialistas proponen informar sólo los resultados si ambos miembros de la pareja son portadores de la misma enfermedad<sup>30</sup>.

4) Si un individuo ha sido estudiado y no es portador de ninguna de las enfermedades monogénicas evaluadas, es válido no evaluar al otro miembro de la pareja. Informar, igualmente, sobre la posibilidad de hacerlo.

Al realizar un cribado de portador para múltiples enfermedades, existe la posibilidad de que un individuo descubra que es portador de una enfermedad dominante o ligada al cromosoma X en estado presintomático. Por ejemplo, las mujeres portadoras de una premutación causante del síndrome del cromosoma X frágil tienen riesgo de insuficiencia ovárica primaria.

En el contexto de una pareja en la que uno de sus miembros es portador de una enfermedad monogénica y el otro tiene un cribado negativo para esta, es importante calcular el riesgo residual de ser portador y, por lo tanto, de que la descendencia esté afectada. Algunos laboratorios ofrecen ECS por NGS, con una excelente evaluación de los datos bioinformáticos y, por consiguiente, con un riesgo residual mínimo luego de un estudio negativo. Para los ECS con otro tipo de metodología, es fundamental considerar la capacidad diagnóstica de la prueba.

El riesgo residual es función de la frecuencia de portador y de la tasa de detección de la prueba para determinada patología. La frecuencia de portador se estima de acuerdo con la prevalencia de la enfermedad en una población determinada (corregido por la ecuación de Hardy-Weinberg). Algunas de estas estimaciones son derivadas,

también, de estudios moleculares. La tasa de detección va a depender de la cantidad de variantes patogénicas consideradas y del porcentaje de portadores con estas variantes. En las enfermedades raras, la prevalencia de la enfermedad, la frecuencia de las mutaciones y la tasa de detección son imprecisas, y por lo tanto, las estimaciones de riesgo residual no son fiables. Lo mismo sucede cuando se extrapolan datos de un grupo étnico a otro, o a la población general<sup>17,27-29</sup>.

Por último, aunque los laboratorios conocen la forma de clasificar las variantes (criterios internacionales), no hay una regulación para establecer que las variantes identificadas y reportadas sean validadas. Cuando las variantes son raras, son muy difíciles de categorizar. Si un resultado es confuso, se debe contactar al laboratorio para obtener mayor información<sup>23</sup>.

### **Beneficios y desventajas del cribado ampliado**

Como ya se dijo, el desarrollo de nuevas técnicas de secuenciación genómica ha permitido realizar el cribado de portador para una gran cantidad de patologías de forma simultánea y eficiente. El estudio de variantes patogénicas para dos o tres enfermedades monogénicas tiene, en la actualidad, un costo similar a estudiar cientos de patologías a la vez. Aunque muchas de estas condiciones son frecuentes, graves y tienen un fenotipo bien definido, otras no lo son tanto. El número de genes y variantes evaluadas es función de los laboratorios y no hay restricciones impuestas; solo depende de lo que se quiera ofrecer y de la capacidad técnica para realizarlo<sup>7,14,31,32</sup>.

Si bien puede parecer atractivo detectar muchas patologías con una sola prueba, el ECS tiene limitaciones y desventajas.

Los argumentos a favor de realizar el ECS son los siguientes: 1) se pueden evaluar cientos de enfermedades monogénicas a un costo similar a evaluar una o dos de ellas; 2) en la sociedad actual, es imposible definir con certeza la ascendencia de un individuo y, por consiguiente, las enfermedades más prevalentes de acuerdo con su grupo étnico; 3) no limitar la información que pueda recibir un individuo o pareja a las decisiones de expertos sobre lo que es suficientemente grave que justifique un estudio; 4) la mayoría de los portadores no tienen historia clínica de la enfermedad<sup>28</sup>.

Las desventajas de utilizar el ECS son las siguientes: 1) algunas pruebas incluyen patologías para las cuales no se recomienda realizar el cribado poblacional, según las guías de práctica clínica de las sociedades científicas internacionales (p. ej., hemocromatosis, factor V de Leiden); 2) con el incremento en el volumen de datos de secuenciación se necesita destreza en el uso de las herramientas bioinformáticas para clasificar una variante de acuerdo con la evidencia disponible; 3) a medida que aumenta la cantidad de patologías evaluadas, se incrementa la proporción de individuos con resultados positivos y, por lo tanto, también el tiempo y el dinero destinados a estudios posteriores para condiciones muy raras, leves o con baja tasa de detección; 4) para las patologías raras, la relación entre una variante genética dada y el fenotipo para el niño puede no ser clara<sup>25,34-36</sup>.

Como se mencionó, hasta el momento ninguna sociedad científica internacional ha recomendado el ECS como práctica clínica de rutina, pero se considera una opción válida<sup>6,8,12</sup>.

### **CONCLUSIONES**

Cada país, región, institución o profesional toma la decisión de implementar (o no) el cribado de portador de enfermedades monogénicas y la estrategia de acuerdo con la presencia (o no) de políticas de salud o las guías de las sociedades científicas (Tabla 5). En países como la Argentina, donde se carece de pautas oficiales que guíen la práctica médica, cada especialista o institución elige la opción que cree más adecuada para el medio local. Una de las principales limitaciones es la falta de datos sobre la prevalencia de las enfermedades en la población, para estudiar aquellas que sean más frecuentes y calcular correctamente el riesgo residual luego de un resultado negativo. La otra es el alto costo de los estudios<sup>37</sup>. Idealmente, se podría brindar información a los pacientes sobre la disponibilidad del cribado de enfermedades monogénicas en el período preconcepcional. Algunos desearán obtener la máxima información (la mayoría de los genes o condiciones y la mayoría de las variantes), mientras que otros optarán por no realizar el cribado.

Se necesitan estudios futuros que exploren la validez y utilidad clínica del ECS, y que incluyan los costos del asesoramiento genético, los estudios de la pareja y la posibilidad del diagnóstico preimplantación o durante el embarazo.

País - Sociedad Científica	Screening universal	Por grupo étnico	Otros
ACOG <sup>13</sup>  Informar sobre <i>screening</i> de portador a todas las mujeres en edad reproductiva	- Fibrosis quística - Atrofia muscular espinal - Hemoglobinopatías (Hto; VCM y HCM)	Judíos ashkenazis: - Tay-Sachs - Enfermedad de Canavan - Disautonomía familiar Es posible considerar: - Síndrome de Bloom - Hiperinsulinemia familiar - Anemia de Fanconi - Enfermedad de Gaucher - Glucogenosis I - Síndrome de Joubert - Enf. jarabe de arce - Mucopolidosis IV - Enfermedad de Niemann-Pick - Síndrome de Usher  Ascendencia procedente del Mediterráneo, África, Sudeste Asiático, Medio Oriente, India: - Hemoglobinopatías (electroforesis de la Hb)	Frágil X: antecedentes familiares de trastornos relacionados con síndrome de X frágil, o discapacidad intelectual sugestiva de síndrome de X frágil, o mujeres con antecedentes personales de insuficiencia ovárica o ↑ FSH antes de los 40 años
ACMG <sup>16</sup>  Informar sobre <i>screening</i> de portador a todas las mujeres en edad reproductiva	- Fibrosis quística - Atrofia muscular espinal	Judíos ashkenazis: - Tay-Sachs - Enfermedad de Canavan - Disautonomía familiar - Síndrome de Bloom - Anemia de Fanconi - Enfermedad de Gaucher - Mucopolidosis IV - Enfermedad de Niemann-Pick	Frágil X: antecedentes familiares de trastornos relacionados con síndrome de X frágil, o discapacidad intelectual sugestiva de síndrome de X frágil, o mujeres con antecedentes personales de insuficiencia ovárica
SOGC-CCMG <sup>38</sup>  Informar sobre <i>screening</i> de portador a todas las mujeres en edad reproductiva		Caucásicos y región de Saguenay-Lac-Saint-Jean y Charlevoix: - Fibrosis quística  Ascendencia procedente del Mediterráneo, África, Sudeste Asiático, Medio Oriente, India: - Hemoglobinopatías (electroforesis de la Hb)  Judíos ashkenazis: - Tay-Sachs - Enfermedad de Canavan - Disautonomía familiar	Frágil X: antecedentes familiares de trastornos relacionados con síndrome de X frágil, o discapacidad intelectual sugestiva de síndrome de X frágil, o mujeres con antecedentes personales de insuficiencia ovárica
NHS <sup>39</sup>	Talasemia y anemia de células falciformes en embarazadas		

**Tabla 5:** Recomendaciones de cribado de portador de enfermedades monogénicas en otros países. ACOG: Colegio Americano de Ginecología y Obstetricia; ACMG: Colegio Americano de Genética Médica y Genómica; SOGC: Sociedad de Ginecología y Obstetricia de Canadá; CCMG: Comité Canadiense de Genética Médica; NHS: Servicio Nacional de Salud de Inglaterra; Hto: hematócrito; VCM: volumen corpuscular medio; HCM: hemoglobina corpuscular media; Hb: hemoglobina.

## REFERENCIAS

- Wilson RD. Woman's pre-conception evaluation: genetic and fetal risk considerations for counselling and informed choice. J Obstet Gynaecol Can 2018;40(7):935-49.
- Dungan J. Expanded carrier screening: what the reproductive endocrinologist needs to know. Fertil Steril 2018;109(2):183-9.
- COG Technology Assessment in Obstetrics and Gynecology No. 4 Summary: Modern Genetics in Obstetrics and Gynecology. Obstet Gynecol 2018;132(3):807-8.
- Bell CJ, Dinwiddie DL, Miller NA, Hateley SL, Ganusova EE, Mudge J, et al. Carrier testing for severe childhood recessive diseases by next-generation sequencing. Sci Transl Med 2011;3(65):65ra4.
- Abecasis GR, Auton A, Brooks LD, DePristo MA, Durbin RM, Handsaker RE, et al. An integrated map of genetic variation from 1.092 human genomes. Nature 2012;491:56-65.
- Henneman L, Borry P, Chokoshvili D, Cornel MC, Van El CG, Forzano F, et al, on behalf of the European Society of Human Genetics (ESHG). Responsible implementation of expanded carrier screening. Eur J Hum Genet 2016;24:e1-e12.
- Gregg AR. Expanded carrier screening. Obstet Gynecol Clin N Am 2018;45:103-12.
- King JR, Klugman S. Ethnicity-based carrier screening. Obstet Gynecol Clin N Am 2018;45: 83-101.
- ACOG Committee Opinion No. 691: Carrier screening for genetic conditions. Obstet Gynecol 2017;129(3):e41-e55.
- Martínez Marignac VL, Bertoni B, Parra EJ, Bianchi NO. Characterization of admixture in an urban sample from Buenos Aires, Argentina, using uniparentally and biparentally inherited genetic markers. Hum Biol 2004;76(4):543-57.
- López-Camelo J, Cabello PH, Dutra MG. A simple model for the estimation of congenital malformation frequency in racially mixed populations. Braz J Genet 1996;19(4):659-63.
- Edwards J, Feldman G, Goldberg J, Gregg A, Norton M, Rose

- NC, et al. Expanded Carrier Screening in Reproductive Medicine—Points to Consider. A Joint Statement of the American College of Medical Genetics and Genomics, American College of Obstetricians and Gynecologists, National Society of Genetic Counselors, Perinatal Quality Foundation, and Society for Maternal-Fetal Medicine. *Obstet Gynecol* 2015;0:1-10.
13. ACOG Committee Opinion No. 690: Carrier screening in the age of genomic medicine. *Obstet Gynecol* 2017;129(3):e35-e40.
  14. Ioannides AS. Preconception and prenatal genetic counselling. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2017;42:2-10.
  15. Harper JC, Aittomäki K, Borry P, Cornel MC, Wert G, Dondorp W, et al, on behalf of the European Society of Human Reproduction and Embryology and European Society of Human Genetics. Recent developments in genetics and medically assisted reproduction: from research to clinical applications. *Eur J Hum Genet* 2018;26(1):12-33.
  16. Grody WW, Barry TH, Gregg AR, et al. ACMG position statement on prenatal/pre- conception expanded carrier screening. *Genet Med* 2013;15(6):482-3.
  17. Stevens B, Krstic N, Jones M, Murphy L, Hoskovec J. Finding Middle Ground in Constructing a Clinically Useful Expanded Carrier Screening Panel. *Obstet Gynecol* 2017;0:1-6.
  18. Lazarin GA, Goldberg JD. Current controversies in traditional and expanded carrier screening. *Curr Op Obstet Gynecol* 2016;28(2):136-41.
  19. Lazarin A, Haque IS. Expanded carrier screening: A review of early implementation and literature. *Semin Perinatol* 2016;40:29-34.
  20. Chokoshvili D, Borry P. Expanded carrier screening for monogenic disorders: where are we now? *Prenatal Diagnosis* 2018;38:59-66.
  21. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Grody WW, et al. ACMG Laboratory Quality Assurance Committee. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med* 2015;17(5):405-24.
  22. Terhaar C, Teed N, Allen R, Dohany L, Settler C, Holland C, Longman R. Clinical experience with multigene carrier panels in the reproductive setting. *Prenat Diagn* 2018;38:572-7.
  23. Hoskovec JM, Stevens BK. Genetic Counseling Overview for the Obstetrician-Gynecologist. *Obstet Gynecol Clin N Am* 2018;45:1-12.
  24. Gilmore MJ, Schneider J, Davis JV, Kauffman TL, Leo M, Bergen K, et al. Reasons for Declining Preconception Expanded Carrier Screening Using Genome Sequencing. *J Genet Couns* 2017;26(5):971-9.
  25. Patch C, Middleton A. Genetic counselling in the era of genomic medicine. *British Medical Bulletin* 2018;126:27-36.
  26. Norton M. Expanded carrier screening. A rational approach to screening for rare diseases. *Obstet Gynecol* 2017;130(2):260-1.
  27. Gregg AR, Lindheim SR. Reproductive genetics: bringing clarity to a foreign language. *Fertil Steril* 2018;109(2):181-2.
  28. Langlois S, Benn P, Wilkins-Haug L. Current controversies in prenatal diagnosis 4: pre-conception expanded carrier screening should replace all current prenatal screening for specific single gene disorders. *Prenat Diagn* 2015;35:23-8.
  29. Molster CM, Lister K, Metternick-Jones S, Baynam G, Clarke AJ, Straub V, et al. Outcomes of an international Workshop on pre-conception expanded Carrier screening: some Considerations for Governments. *Front Public Health*, 24 February 2017.
  30. Gil-Arribas E, Herrero R, Serna J. Pros and cons of implementing a carrier genetic test in an infertility practice. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2016;28:172-7.
  31. Chokoshvili D, Borry P, Vears DF. A systematic analysis of online marketing materials used by providers of expanded carrier screening. *Genet Med* 2017 Dec 14.
  32. Harper JC, Aittomäki K, Borry P, Cornel MC, Wert G, Dondorp W, et al, on behalf of the European Society of Human Reproduction and Embryology and European Society of Human Genetics. Recent developments in genetics and medically assisted reproduction: from research to clinical applications. *Eur J Hum Genet* 2018;26(1):12-33.
  33. Vaz-de-Macedo C, Harper J. A closer look at expanded carrier screening from a PGD perspective. *Hum Reprod* 2017;1-6.
  34. Franasiak JM, Olcha M, Bergh PA, Hong KH, Werner MD, Forman EJ, et al. Expanded carrier screening in an infertile population: how often is clinical decision making affected? *Genet Med* 2016;18(11):1097-101.
  35. McClatchey T, Lay E, Strassberg M, Van den Veyver I. Missed opportunities: unidentified genetic risk factors in prenatal care. *Prenat Diagn* 2018;38:75-9.
  36. Regier DS, Ferreira CR, Hart S, Hardley DW, Muenke M. Medical genetics and genomic medicine in the United States. Part 2: Reproductive genetics, newborn screening, genetic counseling, training, and registries. *Mol Genet Genomic Med* 2017;5:621-30.
  37. Zhong A, Darren B, Loiseau B, Betty He LQ, Chang T, Hill J, Dimaras H. Ethical, social, and cultural issues related to clinical genetic testing and counseling in low- and middle-income countries: a systematic review. *Genet Med* 2018 Aug 3. doi: 10.1038/s41436-018-0090-9.
  38. Wilson D, De Bie I. Joint SOGC-CCMG Opinion for Reproductive Genetic Carrier Screening: An Update for All Canadian Providers of Maternity and Reproductive Healthcare in the Era of Direct-to-Consumer Testing. *J Obstet Gynaecol Can* 2016;38(8):742-62.
  39. NHS. Sickle cell and thalassaemia screening: programme overview. Consultado en: <https://www.gov.uk/guidance>.

## ANÁLISIS CRÍTICO

# Reconstrucción unicelular de la interfaz materno-fetal temprana en seres humanos

## *Single-cell reconstruction of the early maternal-fetal interface in humans*

Roser Vento-Tormo et al.

Nature 2018;563(7731):347-53

## RESUMEN

En los seres humanos, durante el embarazo temprano, la mucosa uterina se transforma en la decidua, en la que se implantará la placenta fetal y, así, las células trofoblásticas placentarias se entremezclan y se comunican con las células maternas.

Las interacciones trofoblásticas-deciduals constituyen la base de patologías comunes del embarazo como la preeclampsia y la muerte fetal. Aquí evaluamos el perfil transcriptómico de 70.000 células individuales de placentas del primer trimestre apareadas con el de la sangre materna y el de las células deciduales.

La composición de la decidua humana revela subpoblaciones de células perivasculares y estromales que se ubican en distintas capas deciduales.

Principalmente, hay tres subpoblaciones de células NK (*natural killer cells* o asesinas naturales) deciduales con perfiles distintivos de inmunomoduladores y quimiocinas. A través de interacciones moleculares desarrollamos un repositorio de complejos ligando-receptor y una herramienta estadística para predecir la comunicación célula-célula según la especificidad del tipo celular. Nuestros datos identifican muchas interacciones reguladoras para prevenir respuestas inmunitarias innatas o adaptativas dañinas en este ambiente. Nuestro atlas unicelular de la interfaz materno-fetal revela la organización celular de la decidua y la placenta, y de aquellas interacciones críticas para la placentación y el éxito reproductivo.

---

## Comentario

*Dra. Claudia Pérez Leirós*

Directora del Laboratorio de Inmunofarmacología IQUIBICEN, UBA-CONICET, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

El presente artículo constituye un valioso atlas de las células y moléculas expresadas en placentas del primer trimestre que reconstruye la interacción materno-placentaria humana.

La gestación promueve, en la mujer, una condición inmunitaria singular que varía desde la implantación hasta el parto. Esta condición dinámica representa un desafío médico en el momento de tomar decisiones sobre cómo abordar, prevenir y tratar las infecciones en cada etapa, y también para el tratamiento de trastornos con componente inmunitario, tanto crónicos como adquiridos, que afectan a las mujeres durante el embarazo.

Desde un punto de vista inmunológico, la gestación representa una situación única: a pesar de que los tejidos fetales expresan antígenos tanto de origen materno como paterno y antígenos menores de histocompatibilidad, no se genera una respuesta de rechazo. En la evolución de la placentación en mamíferos euterios se desarrollaron mecanismos activos que previenen esa respuesta inmunitaria y favorecen el crecimiento fetal. Entre los mecanismos más destacados demostrados en diversas especies, incluidos los seres humanos, el desarrollo de una respuesta de tolerancia inmunitaria mediada por células T reguladoras maternas cumple un papel fundamental en el control de la homeostasis. Distintos laboratorios, como el del profesor Gil Mor de la Universidad de Yale, en los Estados Unidos, han ido más allá al proponer que un “diálogo adecuado” entre el trofoblasto y el sistema inmunitario materno, al que describen como un estado de inmunocooperación materno-placentaria, es clave para mantener la homeostasis y favorecer el crecimiento fetal.

Hay mucho interés en conocer cuáles son los mediadores de ese “diálogo” entre la placenta y el sistema inmunitario de la madre, en particular, comprender cuáles son las moléculas y los mecanismos que participan en la interacción del trofoblasto con los leucocitos maternos en las primeras etapas del embarazo. Su identificación podría ser un aporte valioso para la determinación de biomarcadores o el desarrollo de tratamientos tempranos contra diversas complicaciones gestacionales asociadas a defectos en la placentación que se diagnostican hacia el final del embarazo, como la preeclampsia y la restricción del crecimiento intrauterino, que pueden tener serias consecuencias para la salud materna y neonatal.

Los abordajes experimentales para demostrar cuáles son las células y moléculas implicadas en la interacción materno-placentaria fueron perfeccionándose con los años y recientemente se ha producido un salto cualitativo en estas investigaciones con la aparición de las *omics*, tecnologías de secuenciación masiva y análisis bioinformático, las cuales han podido adaptarse al estudio de modelos y tejidos humanos. Un ejemplo es la metagenómica, que identifica todas las especies microbianas presentes en un tejido y que, aplicada a la gestación humana, aportó evidencias sobre el microbioma de la placenta a término y confirmó las observaciones previas de que no es un sitio estéril<sup>1</sup>. Por otro lado, la

transcriptómica, a través de la secuenciación del ARN, revela todos los genes que se expresan en un tejido en una condición determinada. Más aún, se ha logrado realizar la secuenciación del ARN de células a nivel individual aisladas de un tejido, lo que ofrece una notable cantidad de información sobre qué genes se expresan en cada célula individualmente y también de las posibles interacciones célula-célula entre las poblaciones celulares presentes en un tejido.

Empleando la técnica de secuenciación del ARN de las células a nivel individual (scRNAseq, *single cell RNA sequencing*), un grupo de investigadores del Reino Unido, España y Alemania publicó este artículo que intenta trazar el mapa de las células que se encuentran en la placenta del primer trimestre y sus interacciones a nivel individual. Los autores realizaron primero la secuenciación del ARN de alrededor de 70.000 células aisladas de muestras de placenta y decidua del primer trimestre. Luego, mediante un análisis computacional, obtuvieron información sobre los posibles complejos ligando-receptor específicos de cada tipo celular y, finalmente, integraron esas predicciones en un análisis espacial *in situ* de las muestras que les permitió construir un mapa molecular y celular de la interfaz placenta-decidua humana.

El equipo de investigadores, liderado conjuntamente por Muzlifah Haniffa, Ashley Moffett y Sarah A. Teichmann, de *Wellcome Sanger Institute, University of Cambridge, Newcastle Hospitals NHS Foundation Trust y Newcastle University* en el Reino Unido, concluye que este *Atlas* revela la organización celular de la decidua y la placenta, y las interacciones que son críticas para la placentación y el éxito del embarazo. El valor de su trabajo no solo se debe al enorme caudal de información que ofrecen (los autores comparten en un repositorio público los datos obtenidos), sino también al hecho de que logran validar, desde el punto de vista fisiológico, el modelo y el estudio al analizar distintas interacciones célula-célula y marcadores ampliamente reconocidos, y cuya participación en los embarazos normales y patológicos quedó demostrada por laboratorios de referencia internacional. El estudio les da la oportunidad de mostrar los estados de diferenciación de las células trofoblásticas y señalar nuevas moléculas involucradas en la transformación vascular y en la interacción trofoblasto-leucocitos maternos. En el trabajo se pone especial atención

en las moléculas que intervienen en el control de la respuesta inflamatoria: se presenta información original acerca de nuevas subpoblaciones de leucocitos deciduales, en particular de subpoblaciones de células NK deciduales (dNK1, dNK2 y dNK3) que difieren en su perfil metabólico, como también de las interacciones de estas con células trofoblásticas, combinando datos fenotípicos y funcionales/metabólicos como no se había realizado en placentas humanas hasta ahora.

Este doble propósito de ofrecer toda la información de los genes que se expresan a nivel de cada célula con la predicción de interacciones en su localización espacial y, a la vez, la validación de ciertas interacciones que ya se han demostrado ampliamente, constituye una proyección muy valiosa de este trabajo. Podría decirse, incluso, que su mayor valor no es lo que muestran en el trabajo que, excepto lo ya comentado sobre las células NK y su perfil metabólico, es en su mayoría la confirmación de observaciones hechas en seres humanos por otras técnicas, sino lo que ofrece el diseño y la metodología empleados para generar una base pública de genes expresados en placentas del primer trimestre y su interactoma. Esta información podría ser de enorme utilidad para los grupos que estudian ciertas interacciones célula-célula o mediadores que los autores del trabajo no enfocaron aquí, u otras moléculas e interacciones que quizá ningún investigador se las ha planteado aún. También podrá dar soporte empírico en la placenta humana a, por ejemplo, alguna interacción que solo se ha podido demostrar en sistemas *in vitro* o en modelos con animales.

La relevancia y proyección de este trabajo es indudable, si bien enfrenta las limitaciones obvias de la investigación en la gestación humana que no admiten un análisis temporal longitudinal. Las muestras empleadas corresponden a finalizaciones electivas del embarazo entre las semanas 6 y 14, por consiguiente, se tratan en forma equivalente condiciones distintas de nutrición del feto –histiotrófica a hemotrófica– y no se estudian fenómenos más tempranos en el desarrollo embrionario.

El presente trabajo reúne y organiza, a modo de un atlas, la información sobre los genes que se expresan en distintas poblaciones celulares (trofoblásticas, vasculares, estromales deciduales, leucocitarias maternas) en la interfaz materno-fetal en el primer trimestre. Tanto por el abordaje con tecnologías *omics* y el procesamiento de los datos con nuevas estrategias computacionales

como por el diseño experimental para validar las interacciones célula-célula ya descritas, esta investigación es un aporte notable para los investigadores en el campo de la reproducción humana, en especial aquellos interesados en el proceso de placentación y en los mecanismos de reconocimiento y respuesta del sistema inmunitario en la gestación temprana.

### Agradecimientos

Expreso mi agradecimiento a los integrantes del Laboratorio de Inmunofarmacología con quienes

analizamos y discutimos este trabajo en el marco de las líneas de investigación que llevamos adelante, financiadas por el CONICET a través de los cargos de los investigadores, becas y funcionamiento del Instituto, la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica y la Universidad de Buenos Aires.

### REFERENCIAS

1. Aagaard K, Ma J, Antony KM, Ganu R, Petrosino J, Versalovic J. The placenta harbors a unique microbiome. *Sci Transl Med* 2014 May; 6(237):237ra65.

### COMENTARIO BIBLIOGRÁFICO

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

### *Recurrent pregnancy loss. Guideline of the European Society of Human Reproduction and Embryology. November 2017*

ESHRE Early Pregnancy Guideline Development Group

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

### ALCANCE DE LA GUÍA

El objetivo general de esta Guía es proporcionar a los proveedores de atención médica la mejor evidencia disponible para la investigación y el tratamiento de las mujeres con pérdida recurrente del embarazo (PRE). Esta se define como la pérdida de dos o más embarazos, excluidos el embarazo ectópico y el embarazo molar.

La Guía ofrece una descripción general de los tratamientos sugeridos contra la PRE y cuáles de ellos se aconsejan. Se hacen recomendaciones sobre las investigaciones que podrían ser útiles para identificar el origen de las pérdidas del embarazo y las posibles terapéuticas.

Además, se escriben pautas sobre la organización de la atención para las parejas que se enfrentan con esa pérdida.

Las malformaciones uterinas han suscitado un alto grado de controversias en las que el acuerdo, a veces, dista de alcanzarse. Las Guías de la *European Society of Human Reproduction and Embryology* (ESHRE) no han estado ajenas a esta situación.

La primera controversia que se plantea es concebir las “malformaciones adquiridas”, miomas, pólipos, sinequias, etc., como verdaderas malformaciones.

La Real Academia Española, en la novena edición de su *Diccionario de la Lengua Española*, define la malformación como una “deformación o defecto congénito en alguna parte del organismo”. Por lo tanto, la patología uterina adquirida no debe considerarse una malformación, sino una distorsión de la anatomía.

Con respecto a los métodos diagnósticos, el artículo es muy ambiguo. Comienza alabando como método de referencia la histeroscopia combinada con laparoscopia y luego, un par de párrafos más adelante, no la considera tan exacta como la histerosonografía, arrogándole mayor sensibilidad y especificidad. Además, destaca que este método hace innecesario el uso de la laparoscopia o la histerosalpingografía para el diagnóstico del útero septado.

### Comentario bibliográfico del capítulo Investigaciones anatómicas

Dr. Guillermo Marconi

Médico Ginecólogo, Especialista en Reproducción Humana, Director Médico de IVI

Podría decirse que el ordenamiento de métodos de diagnóstico que se tienen al alcance para definir el tipo de malformación es el siguiente:

- Ecografía 3D: describe el contorno del útero y el aspecto de su cavidad y permite realizar mediciones de las deformaciones que ayudarán al futuro tratamiento quirúrgico.

- Resonancia magnética: es un método de primera línea si se especifica exactamente que lo que se pretende evaluar es el útero y su cavidad, indicándole al imagenólogo lo que se desea estimar.

- Ecografía transvaginal 2D: si bien su sensibilidad es menor que la de la ecografía 3D, en manos avezadas es también útil.

- Histerosalpingografía: aporta datos limitados para definir con exactitud cuál es la malformación encontrada.

- Laparoscopia en conjunto con histeroscopia: otorgan un diagnóstico preciso. Por tratarse de un método invasivo, no se utilizan como primera elección. La diferencia en cuanto al diagnóstico con la ecografía transvaginal 3D o la resonancia magnética es mínima y a favor de estos últimos estudios.

En cuanto al diagnóstico de las mal llamadas “malformaciones uterinas adquiridas”, se puede sintetizar de la siguiente forma:

- Ecografía transvaginal 2D o 3D: miomas y pólipos.

- Histerosalpingografía o histerosonografía: miomas, pólipos y sinequias.

Con respecto al tratamiento, el criterio es más homogéneo en el artículo y los conceptos son más concordantes.

En el útero septado el tabique debe researse mediante resectoscopia, una cirugía ambulatoria que permite corregir, con cierta facilidad, este defecto congénito. El control laparoscópico mientras se realiza la sección del tabique ha perdido vigencia al ser remplazado por la ecografía abdominal. Mientras el cirujano secciona la malformación, un asistente lo guía con el ecógrafo a través de un transductor abdominal indicándole cuándo se acerca a la pared uterina. Este método combinado es también muy útil para resear un mioma submucoso (malformación adquirida).

La metroplastia del útero bicorne en la mayoría de los casos no está indicada, pero si la paciente ha sufrido varios abortos tardíos (más de dos), podría considerarse su realización. Con técnicas y materiales apropiados para microcirugía, la probabilidad de afectar la fertilidad es baja.

La resolución de las sinequias uterinas, según su extensión y conformación, puede transformarse en una pesadilla. El grado de recidiva es alto y, en múltiples oportunidades, el destino es el fracaso. Es obvio que no nos referimos a las sinequias columnares delgadas, sino a aquellas cavidades seriamente ocluidas por un proceso cicatricial importante. Hoy se está experimentando en el uso de células madre de médula ósea<sup>1</sup> para lograr la recuperación de la cavidad uterina.

Es notable que se trate en este capítulo la incompetencia del orificio cervical interno. Si bien es verdad que puede ser una malformación congénita o una secuela adquirida, su prevención mediante la realización del cerclaje, a pesar de que los metanálisis son ambiguos, suele evitar la pérdida del embarazo, ya sea como aborto tardío o parto prematuro.

En esta Guía, lo aconsejan una vez producida la dilatación con el embarazo en curso. Lo ideal es diagnosticarlo con anterioridad en la paciente que ha padecido pérdidas de embarazos tardíos y tiene una prueba de bujías de Hegar mayor de 8 o una histerosalpingografía donde la dilatación del cuello supera los 10 mm. El cerclaje debe efectuarse en el embarazo temprano, es decir, por debajo de las 12 semanas.

De esta manera el cuello aún conserva su estructura y puede realizarse un cerclaje alto, cercano a la altura del orificio cervical interno, con resultados excelentes.

## REFERENCIAS

1. Santamaria X, Cabanillas S, Cervelló I, Arbona C, Raga F, Ferrero J, Palmero J, Remohí J, Pellicer A, Simón C. Autologous cell therapy with CD133+ bone marrow-derived stem cells for refractory Asherman's syndrome and endometrial atrophy: a pilot cohort study. *Hum Reprod* 2016;31(5):1087-96.

## Comentario bibliográfico de los capítulos: Factor masculino y Tratamiento para la pérdida recurrente del embarazo con factor masculino

*Dr. Gastón Rey Valzacchi*

Jefe de Andrología y Reproducción, Servicio de Urología, Hospital Italiano de Buenos Aires

Profesor Adjunto de Clínica Quirúrgica, Instituto Universitario del Hospital Italiano

Hasta no hace mucho, el estudio de la pérdida recurrente del embarazo (PRE) se centraba en la mujer y se consideraba que si un hombre era capaz de fecundar a una mujer, sus gametos posiblemente eran normales. Sin embargo, hoy sabemos que con este enfoque, 40-50% de las PRE quedan sin una causa clara. Asimismo,

conocemos que el espermatozoide influye en el desarrollo embrionario temprano y que algunas características paternas pueden incidir en el desarrollo posnatal. Por estas razones, es importante el estudio del factor masculino en la PRE.

Clásicamente, el único estudio que se efectuaba en el hombre era el cariotipo, que permitía definir posibles alteraciones estructurales cromosómicas (translocaciones recíprocas, robertsonianas, inversiones, etc.) como causa del aborto<sup>1</sup>.

Esta Guía muestra que el riesgo de PRE se incrementa significativamente cuando en el hombre se superponen el consumo de cigarrillo y de alcohol y la exposición a factores ambientales ocupacionales (OR 11,965; IC 95%: 1,49 a 95,62).

En relación con la calidad espermática, si bien los datos de la bibliografía no son concluyentes, la mayoría muestra que los hombres de parejas con PRE, en comparación con los controles fértiles, tienen significativamente reducidas la viabilidad, la morfología y la movilidad progresiva espermática<sup>2</sup>.

Algunas evidencias señalan que podría haber una asociación entre la PRE y el incremento de la fragmentación del ADN espermático. Una revisión sistemática de 16 estudios de cohorte (2969 parejas, 14 de los 16 estudios prospectivos y 15 de los 16 en parejas que realizaron ICSI/FIV) mostró un incremento significativo en la tasa de aborto en los hombres con un incremento del daño en el ADN espermático en comparación con el bajo daño (OR 2,16; IC 95%: 1,54 a 3,03)<sup>3</sup>. Un análisis de subgrupo mostró que la asociación con el aborto es más fuerte para la prueba de TUNEL (OR 3,94; IC 95%: 2,45 a 6,32). Dos trabajos recientes también hallaron un incremento significativo del daño en el ADN espermático en parejas que sufrieron la PRE después de una concepción natural<sup>4</sup>.

Se sabe que la causa principal del daño en el ADN espermático es el incremento en la producción de radicales libres y, por lo tanto, deben evaluarse factores que pueden producirlo, como tabaquismo, obesidad, exposición a tóxicos o presencia de varicocele.

Sobre esta base, la recomendación de la Guía es:

- En una pareja con PRE, evaluar en el hombre los factores del estilo de vida (consumo de alcohol, cigarrillo, ejercicio excesivo, peso corporal). (Buena práctica: *good point practice*, GPP).

- La evaluación de la fragmentación del ADN espermático puede considerarse con fines explicativos, basada en evidencias indirectas (evidencia moderada, recomendación condicional).

Desde el punto de vista terapéutico, el análisis de la bibliografía muestra que no hay evidencias si la corrección de factores (cigarrillo, peso, alcohol) se asocia beneficiosamente con un impacto en la tasa de nacidos vivos en las parejas con PRE, aunque hay evidencias de su efecto perjudicial.

En cuanto a la corrección del varicocele, algunos estudios muestran mejoría en la fragmentación del ADN espermático; sin embargo, no hay estudios relacionados con la PRE<sup>5</sup>.

Respecto de las técnicas de selección espermática, no se han realizado trabajos sobre su uso en parejas con PRE, por lo que no es posible recomendarlas.

El uso de antioxidantes ha mostrado ser efectivo para incrementar la tasa de embarazo en las parejas infértiles, pero no hay trabajos en las parejas con PRE<sup>6</sup>.

A partir de lo dicho, la Guía señala, desde el punto de vista terapéutico:

- Sugerir la cesación de posibles factores tóxicos (buena práctica GPP).

- No hay evidencias de que el uso de antioxidantes ayude a las parejas con PRE. Una revisión Cochrane mostró que el uso de antioxidantes en parejas en plan de FIV mejora las tasas de embarazo, aunque no disminuye el riesgo de aborto (por esto sugiere una recomendación condicional con poca evidencia).

## REFERENCIAS

1. Franssen MT, Korevaar JC, Leschot NJ, Bossuyt PM, Knegt AC, Gerssen-Schoorl KB, Wouters CH, Hansson KB, Hochstenbach R, Madan K, et al. Selective chromosome analysis in couples with two or more miscarriages: case-control study. *BMJ* 2005;331:137-41.
2. Ruixue W, Hongli Z, Zhihong Z, Rulin D, Dongfeng G, Ruizhi L. The impact of semen quality, occupational exposure to environmental factors and life style on recurrent pregnancy loss. *J Assist Reprod Genet* 2013;30:1513-8.
3. Robinson L, Gallos ID, Conner SJ, Rajkhowa M, Miller D, Lewis S, Kirkman-Brown J, Coomarasamy A. The effect of sperm DNA fragmentation on miscarriage rates: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod* 2012;27:2908-17.
4. Zidi-Jrah I, Hajlaoui A, Mougou-Zerelli S, Kammoun M, Meniaoui I, Sallem A, Brahem S, Fekih M, Bibi M, Saad A, et al. Relationship between sperm aneuploidy, sperm DNA integrity, chromatin packaging, traditional semen parameters, and recurrent pregnancy loss. *Fertil Steril* 2016;105:58-64.
5. Wang YJ, Zhang RQ, Lin YJ, Zhang RG, Zhang WL. Relationship between varicocele and sperm DNA damage and the effect of varicocele repair: a meta-analysis. *Reprod Biomed Online* 2012;25:307-14.
6. Showell MG, Mackenzie-Proctor R, Brown J, Yazdani A, Stankiewicz MT, Hart RJ. Antioxidants for male subfertility. *Cochrane Database Syst Rev* 2014:CD007411.

## Comentario bibliográfico del capítulo Pesquisa de factores genéticos

Dra. Liliana Alba

Médica Genetista

Consultorios de Genética Médica

Asesora Ad Honorem, Asociación Argentina de X Frágil

Exdirectora del Centro Nacional de Genética Médica

### *Cariotipo en el tejido de material de aborto*

La prevalencia de anomalías cromosómicas en el tejido de material de aborto espontáneo del primer trimestre varía según las publicaciones. Los índices se encuentran entre el 57,2% en el material de aborto de las mujeres menores de 35 años hasta el 82,3% en las mujeres mayores de esa edad<sup>1,2</sup>. La mayoría de las anomalías detectadas corresponden a las trisomías autosómicas, seguidas de la monosomía del cromosoma X y de las poliploidías.

Si bien y, en coincidencia con las recomendaciones de la *European Society of Human Reproduction and Embryology* (ESHRE), la identificación de la etiología del aborto espontáneo no parece modificar el pronóstico para los futuros embarazos, el conocimiento del diagnóstico puede beneficiar a las mujeres que han sufrido fallas reproductivas de repetición.

Estas mujeres suelen presentar cuadros depresivos y tener sentimientos de culpa, por lo que el conocimiento de la causa de la pérdida puede ayudarlas en la elaboración y el manejo del duelo<sup>3</sup>.

Por otra parte, los programas de pesquisa del primer trimestre para aneuploidías permiten incorporar el antecedente de trisomías previas al cálculo de riesgo, lo cual es importante para el asesoramiento genético de las parejas.

El cariotipo convencional en cultivo del material de aborto espontáneo sigue siendo el método de referencia para el diagnóstico, ya que permite la visualización de todos los cromosomas y, por lo tanto, identificar las anomalías estructurales, pero tiene ciertas limitaciones, pues requiere un cultivo de largo término, la tasa de fracasos en el cultivo es alta y no puede discernir entre contaminación materna y feto femenino cromosómicamente normal.

En aquellos casos en los que se detecta un embarazo detenido por ecografía, tenemos la oportunidad de tomar una muestra por punción de las vellosidades coriónicas para obtener el cariotipo fetal, dado que da una mayor posibilidad de lograr resultados que el cultivo del material de aborto.

En nuestro medio, puede complementarse con la realización de una QF-PCR, ya que tiene una gran utilidad clínica por su alta sensibilidad y especificidad en la detección de las principales anomalías cromosómicas, con un valor predictivo positivo del 100% y un valor predictivo negativo del 99,8%.

La QF-PCR permite la detección de aneuploidías, triploidía y disomía uniparental mediante la amplificación de secuencias de ADN altamente polimórficas presentes en todos los cromosomas (y distribuidas a lo largo de todo el cromosoma) conocidas como regiones microsátélites o STR (*short tandem repeats*).

La ESHRE sugiere realizar un *array-CGH* (hibridación genómica comparativa basada en micromatrices) como el estudio de primera elección en el tejido de material de aborto. Si bien se evita la contaminación materna, es un estudio difícilmente accesible en nuestro medio y, al igual que la QF-PCR, no detecta anomalías cromosómicas estructurales ni mosaicismos menores del 20%.

La detección de una anomalía cromosómica en el tejido de material de aborto posibilita utilizar la información en los programas de pesquisa del primer trimestre para aneuploidías, incorporándola al cálculo de riesgo en caso de un nuevo embarazo.

Cabe destacar que un correcto diagnóstico habilita un asesoramiento genético acertado y oportuno.

### *Cariotipos parentales*

Es muy importante la búsqueda de antecedentes familiares en las parejas con fallas reproductivas recurrentes, de modo de identificar a aquellas con mayor riesgo de ser portadoras de anomalías cromosómicas, en coincidencia con la recomendación de la ESHRE.

Se han publicado diversos estudios cromosómicos realizados a parejas con antecedentes reproductivos adversos y la prevalencia de reordenamientos detectada es de 6-8%, según los diferentes autores<sup>4,6</sup>.

Si bien la posibilidad de detectar una anomalía en alguno de los miembros es baja, confirmar que uno es portador implica un alto riesgo reproductivo, que puede ser tanto para lograr un nuevo embarazo como la posibilidad de tener a un recién nacido vivo con un desbalance cromosómico y anomalías congénitas.

En la Argentina, a diferencia de lo que sucede en otros países, el cariotipo es accesible y está incluido en el plan médico obligatorio.

Arribar a un diagnóstico de certeza permite ofrecer un asesoramiento genético que incluya todas las opciones reproductivas disponibles, de modo que cada pareja pueda decidir la que se adecue mejor a sus deseos, creencias y posibilidades.

### *Tratamiento de las pérdidas recurrentes del embarazo de causa genética*

- Prueba genética preimplantatoria para pérdidas recurrentes del embarazo de causa desconocida.
- Prueba genética preimplantatoria para pérdidas recurrentes del embarazo de causa genética.

Acordamos con las propuestas de la ESHRE en cuanto a las opciones de tratamiento reproductivo para ambos grupos de parejas con pérdidas reproductivas de repetición tanto de causa desconocida como de causa genética.

Solo agregaríamos las opciones de ovodonación o espermodonación para aquellas parejas en las que se ha detectado una anomalía cromosómica estructural, dado que disminuye mucho la posibilidad de obtener un número de embriones balanceados para lograr un embarazo que llegue al término.

## REFERENCIAS

1. Alonso López A, Bermejo Huerta S, Hernández Galven R, Ayala Posadas R, González del Ángel A, González PG. Cytogenetic diagnosis of first trimester spontaneous abortion. *Ginecol Obstet Mex* 2011;79(12):779-84.
2. Hogge WA, Byrnes AL, Linasa MC, Surti V. The clinical use of karyotyping in spontaneous abortions. *Am J Obstet Gynecol* 2003;189(2):397-400; discussion, 400.
3. Nikcevic AN, Tunkel SA, Kuczmiarczyk AR, Nicolaidis KH. Investigation of cause of miscarriage and its influence on women's psychological distress. *Br J Obst Gynecol* 1999;106(8):808-13.
4. El-Dahtory FA. Chromosomal abnormalities as a cause of recurrent abortions in Egypt. *Indian J Hum Genet* 2011(2):82-4.
5. Fryns JP, Van Buggenhout G. Structural chromosome rearrangements in couples with recurrent fetal wastage. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1998;81:171-6.
6. Makino T, Tabush T, Nakada K, Iwasaki K, Tamura S, Iizuka R. Chromosomal analysis in Japanese couples with repeated spontaneous abortions. *Int J Fertil* 1990;35:266-70.

## **Comentario bibliográfico del capítulo Tratamiento de la pérdida recurrente del embarazo y la trombofilia**

*Dra. Beatriz E. Grand*

Docente Autorizada de Hematología y Medicina, Facultad de Medicina, UBA  
Doctora en Medicina. Facultad de Medicina, UBA  
Médica Hematóloga, Departamento Materno Infantil, Hospital Juan A. Fernández, Ciudad Autónoma de Buenos Aires  
Coordinadora del Grupo de Trabajo Hemostasia y Trombosis en la Mujer del Grupo CAHT

## *Introducción*

El objetivo de este artículo es hacer un comentario desde la hematología de la Guía de la *European Society of Human Reproduction and Embryology* (ESHRE) de pérdida recurrente del embarazo, publicada en 2017<sup>1</sup>. Consideramos importante, desde un punto de vista hematológico, una breve introducción al tema. El embarazo es un estado protrombótico y el incremento patológico de esta hipercoagulabilidad se ha vinculado con frecuencia a las pérdidas del embarazo y a las complicaciones mediadas por la placenta. Las primeras descripciones de los hematólogos sobre la relación de una prueba de coagulación con complicaciones obstétricas llevan más de 40 años. En 1975, Nilsson et al. describieron la asociación entre las muertes fetales intrauterinas y la presencia de un anticoagulante circulante que llamaron "antitromboplastina". Surgió la hipótesis, entonces, de que los abortos y otras complicaciones obstétricas podrían ser una expresión más de la tendencia trombótica. En la placenta de las pacientes se observaron infartos extensos, necrosis fibrinoide, ateromatosis aguda y trombos intraluminales en las arterias espirales. Como consecuencia de la lesión vascular, había alteración del flujo placentario y daño fetal. Muchas de estas mujeres habían tenido también como manifestación clínica una trombosis venosa. Esta asociación de una trombosis o una complicación obstétrica con una alteración de laboratorio, que es la presencia de anticuerpos antifosfolípidicos, se definió por primera vez en 1983 como síndrome antifosfolípídico (SAF). El SAF fue reclasificado en 2004 en Sydney y publicado por Miyakis en 2006. Estos criterios todavía lo definen. Hasta ese momento, la trombosis era la base fisiopatológica que explicaba las complicaciones obstétricas y los abortos recurrentes. Sobre esta hipótesis trombótica inicial se basaron los primeros tratamientos con heparina en mujeres con anticuerpos antifosfolípidicos. Rosove et al. reportaron varios casos de tratamiento con heparina no fraccionada (HNF) en 1990.

¿Cuándo se habla por primera vez de trombofilia? El término trombofilia lo introdujo Egeberg en 1965 cuando se descubrió la antitrombina y lo hizo en su trabajo "Trombofilia causada por una deficiencia de antitrombina sanguínea". Luego se descubrieron otras trombofilias hereditarias, como la deficiencia de las proteínas S y C. En 1994, se descubrió el factor V Leiden (FVL) y, dos años después, la mutación en el gen de la protrombina G20210A (PTG20210A). El término trombofilia

se utilizó para relacionar el incremento del riesgo trombotico venoso asociado a la deficiencia o mutación de un componente sanguíneo.

En la actualidad, se define la trombofilia como una condición de la sangre que predispone a la trombosis y que puede ser hereditaria o adquirida. Los estudios incluidos para la evaluación de la trombofilia, cuando hay indicación, son: 1. Trombofilia hereditaria: proteínas S y C, antitrombina, mutación del gen PTG20210A y FVL (se pide la resistencia a la proteína C activada y, si está alterada, se solicita FVL); 2. Trombofilia adquirida: anticoagulante lúpico, anticuerpos anticardiolipina IgG e IgM y anticuerpos anti- $\beta_2$  glucoproteína I ( $\alpha\beta_2$ GPI) IgG e IgM.

Es importante tener en claro que nunca hubo una evidencia firme de que las trombofilias hereditarias eran la causa de las complicaciones gestacionales ni se contaba con estudios aleatorizados adecuados que confirmaran la eficacia de la heparina en la trombofilia hereditaria como para universalizar ese tratamiento. El paradigma trombotico como causa de complicaciones gestacionales, en el caso de las trombofilias hereditarias, creció sobre bases empíricas y con estudios epidemiológicos metodológicamente malos hasta 2010<sup>2</sup>.

Luego de esta introducción, veremos los aportes de la reciente actualización de la Guía ESHRE con respecto al tema de las trombofilias. Esta actualización era una asignatura pendiente tanto para los profesionales relacionados con el tema como para las mismas pacientes, quienes cada vez más nos exigen saber “por qué perdieron su embarazo”. La última versión databa de 2006.

Como sugiere la ESHRE, usaremos la terminología de pérdida recurrente del embarazo (PRE). Sabemos que uno de los mayores problemas sobre la PRE es su definición. No vamos a referirnos a este tema puntual, dado que no es terreno de la hematología, pero sí resaltaremos que uno de los cambios incorporados en la versión 2017 fue iniciar el estudio de las PRE a partir de dos pérdidas.

### *Comentarios editoriales desde la hematología*

La trombofilia es una condición hereditaria o adquirida que predispone a las mujeres con PRE a la tromboembolia venosa (TEV): trombosis venosa o tromboembolia pulmonar, por ejemplo.

### *Trombofilia hereditaria*

Se identificaron algunas causas genéticas que predisponen a la TEV y se estudian en las pacien-

tes con TEV o en miembros de su familia. Aun en el contexto de un evento de TEV, el valor del estudio genético es controvertido (Bates et al.)<sup>3,5</sup>. Los factores incluidos son las proteínas C y S, la antitrombina, la mutación del gen PTG20210A y el genotipo del FVL.

### *Evidencia*

**Mutación del factor V Leiden (FVL):** los revisores informaron sobre una asociación del genotipo FVL con la PRE (OR 2,02; IC 95%: 1,60 a 2,55) basados en 33 estudios de casos y controles, y con el riesgo de pérdida del embarazo en un siguiente embarazo (OR 1,93; IC 95%: 1,21 a 3,09), según cuatro cohortes prospectivas. El portador de la mutación del FVL tendría más posibilidad de sufrir una pérdida subsiguiente del embarazo en relación con el que no es portador, de acuerdo con ocho estudios de cohortes. Sobre la utilidad clínica de esta mutación, los revisores concluyeron que la presencia de una prueba positiva no está asociada con una mejoría en un nuevo embarazo en las parejas; esto está basado en la ausencia de efecto del tratamiento antitrombotico durante la gestación. A su vez, falta evidencia sobre el beneficio en otros aspectos, como el de aportar alguna información sobre la causa de las PRE. Además, hay ciertos daños asociados con su estudio que incluyen riesgos maternos de ser tratados con anticoagulantes, costos y falta de indicación de tratamiento luego de una prueba positiva.

**Mutación de protrombina A20210G (PTG20210A):** algunas revisiones muestran una asociación e incremento del riesgo de PRE (OR 1,81; IC 95%: 1,26 a 2,60) con base en 37 estudios de casos y controles. Otros autores encontraron una asociación con dos abortos antes de la semana 13, pero no con tres abortos (OR 2,32; IC 95%: 1,12 a 4,79), en cuatro estudios. La asociación con la presencia de la mutación y la subsiguiente pérdida del embarazo no fue significativa. Su utilidad clínica, similar a lo mencionado para el FVL, es mínima y el daño de solicitar estos estudios supera su beneficio.

**Proteínas C y S y deficiencia de antitrombina:** son trombofilias menos frecuentes, pero su asociación con la TEV es más fuerte que con el FVL y la PTG20210A. No se reportó asociación fuerte entre estas trombofilias y la PRE.

**Mutación metilentetrahidrofolato reductasa (MTHFR):** el polimorfismo de la MTHFR,

históricamente clasificado como un factor de trombofilia hereditaria, no se considera ahora un factor de riesgo trombótico. No se detectó asociación con la PRE.

#### RECOMENDACIÓN

- Para las mujeres con PRE no se sugiere el estudio de la trombofilia hereditaria, sino solo en el contexto de investigación o si hay factores de riesgo adicionales como la TEV.
- Los factores de riesgo adicionales que podrían considerarse para estudiar la trombofilia hereditaria son antecedentes familiares de trombofilia hereditaria o TEV previa. En el caso de los trabajos de investigación, como se verá en el tratamiento, es válido su estudio.

**Justificación:** no está clara o no hay asociación, no se cuenta con un tratamiento establecido y podría solicitarse en caso de TEV.

Comentarios sobre el estudio de la trombofilia hereditaria

Los aportes de la Guía en este punto sobre la trombofilia hereditaria confirman lo que se ha venido diciendo durante todos estos años. No se produjeron novedades. Si bien hay una asociación leve, sí observamos que los *odds ratios* (OR) son cercanos a 2 y con amplios intervalos de confianza (IC) en algunos estudios. La asociación no significa causalidad ni que responda al tratamiento antitrombótico. Por lo tanto, no está recomendado su estudio en la PRE y su tratamiento no ha mostrado ser beneficioso, como veremos en el apartado sobre el tratamiento. Lo importante es que lo que la Guía ESHRE expresa, actualizando su versión previa, está en concordancia con lo que todas las sociedades científicas nacionales e internacionales siguen publicando en sus guías recientes. Cabe destacar que manifiestan claramente que se causa un daño a la persona en quien se estudia la trombofilia hereditaria (con un potencial resultado positivo) que supera cualquier beneficio. En caso de requerirse su estudio, como la TEV, los factores incluidos son las proteínas C y S, la antitrombina, la mutación de PTG20210A y la mutación del FVL. No se considera que la MTHFR sea un marcador de trombofilia.

#### Trombofilia adquirida

Se refiere a los anticuerpos antifosfolípidicos (AAF). Los AAF bien caracterizados y relevantes que forman parte de los criterios de laboratorio para definir el síndrome antifosfolipídico (SAF) son tres: el anticoagulante lúpico, los anticuerpos anticardiolipina IgG e IgM y los anticuerpos  $\alpha\beta_2$ GPI IgG e IgM. Los criterios de SAF de Miyakis (2006) incluyen la asociación de tres o más pérdidas recurrentes de embarazos consecutivos asociadas con alguno de los antifosfolípidos mencionados. Los estudios posteriores mostraron que no había diferencia entre el número de pérdidas, la edad materna y la secuencia de embarazos en las mujeres con SAF y PRE no explicadas. Con este dato los autores sugieren ofrecer el estudio de AAF a partir de dos o más PRE, consecutivas o no.

**Otros AAF:** no está recomendado su estudio en la práctica clínica.

#### RECOMENDACIÓN

- Para las mujeres con dos o más PRE, recomendamos el estudio del anticoagulante lúpico y anticuerpos anticardiolipina IgG e IgM y considerar los anticuerpos  $\alpha\beta_2$ GPI IgG e IgM. Estos últimos son una recomendación del grupo de consenso, al igual que el estudio de los anticuerpos a partir de dos PRE.

**Justificación:** el estudio de los anticuerpos antifosfolípidicos puede aportar información sobre el diagnóstico del SAF y su posible tratamiento. Es de valor para la mujer con PRE porque le ofrece una posible causa de la pérdida y su prevención. También sería de utilidad para la prevención de otras complicaciones vasculoplacentarias.

Se recomienda el estudio de los anticuerpos  $\alpha\beta_2$ GPI IgG e IgM para mejorar los conocimientos. Un estudio reciente (Song et al., 2017) señala que el descenso de los anticuerpos  $\alpha\beta_2$ GPI IgM con el tratamiento anticoagulante se correlacionó con una mejor evolución del embarazo. Se recomienda el estudio de los anticuerpos antifosfolípidicos 6 semanas después de la pérdida, aunque no se conocen datos al respecto. Es recomendable repetir la prueba al cabo de 12 semanas para confirmar el diagnóstico (Miyakis et al., 2006).

El grupo de investigación sugiere el estudio de anticuerpos antifosfolípidicos a partir de dos pérdidas y recomienda promover el estudio de los

criterios clínicos para el diagnóstico de SAF (edad, número de pérdidas, consecutivas o no, etc.).

Comentarios sobre el estudio de la trombofilia adquirida

No hay mayores aportes a lo que ya conocemos como definición de SAF y este criterio de tres abortos consecutivos lleva más de 10 años. La Guía sí aporta observaciones posteriores sobre las PRE. No hay diferencia clínica entre estudiar dos o tres abortos, consecutivos o no, y propone estudiar los AAF a partir de dos pérdidas. Este dato debe tenerse en cuenta cuando se retome el tema en el apartado sobre el tratamiento. Cabe recordar que siguen sin tener importancia clínica otros AAF diferentes de los mencionados.

### Tratamiento

¿Qué intervención terapéutica se debe ofrecer a las parejas con PRE y trombofilia con el objetivo de aumentar la posibilidad de tener a un recién nacido?

En algunas mujeres con trombofilia está indicada la prescripción del tratamiento anticoagulante con el objetivo de prevenir la TEV y se lo hace según las guías basadas en la evidencia<sup>3,4</sup>.

En las mujeres con trombofilia y PRE, se presume que el tratamiento podría prevenir la trombosis placentaria (anticoagulantes y aspirina) o suprimir el sistema inmunitario (tratamiento inmunológico), lo que sugiere que esas intervenciones terapéuticas podrían mejorar el resultado final del embarazo.

Los agentes antitrombóticos investigados para el manejo de las PRE son la aspirina y la heparina, tanto la heparina no fraccionada (HNF) como la heparina de bajo peso molecular (HBPM).

Tratamiento de las mujeres con PRE y trombofilia hereditaria. Evidencia

**Anticoagulantes:** una revisión sistemática reciente reportó que el uso de HBPM no fue beneficioso para prevenir la pérdida del embarazo en las mujeres con trombofilia hereditaria y antecedentes de una pérdida tardía (más de 10 semanas) del embarazo (HBPM contra no HBPM; OR 0,81; IC 95%: 0,38 a 1,72 en cinco estudios aleatorizados que incluyeron 308 pacientes) o recurrente (menos de 10 semanas) (HBPM contra no HBPM; OR 0,97; IC 95%: 0,80 a 1,19 en dos estudios aleatorizados que incluyeron 66 pacientes; Skeith et al.)<sup>6</sup>. Una revisión Cochrane, que incluyó a 1128 pacientes

con PRE, evaluó el tratamiento anticoagulante en mujeres con trombofilia hereditaria y sin ella. Los revisores informaron que el efecto del tratamiento (aspirina, HBPM, HBPM más aspirina) no fue beneficioso respecto del observado con el placebo.

**Esteroides y gammaglobulina intravenosa:** no se encontraron estudios sobre PRE y trombofilia hereditaria.

**Ácido fólico y vitaminas:** se informó su uso en el caso de la mutación del gen MTHFR o hiperhomocisteinemia con mejoría en el 75%, pero sin datos sobre el impacto en un nuevo embarazo. No se observaron malformaciones, eventos trombóticos ni sangrado en la madre.

### RECOMENDACIÓN

- Para las mujeres con trombofilia hereditaria e historia de PRE, se sugiere no usar tratamiento antitrombótico para su prevención, salvo en el contexto de un estudio de investigación o cuando esté indicado para la prevención de la TEV.

**Justificación:** no hay evidencias sobre el beneficio del tratamiento en mujeres con trombofilia hereditaria y PRE. Está en marcha un estudio aleatorizado que recluta a pacientes para dar más información sobre este tema: el estudio ALIFE 2, NTR: 3361<sup>6</sup>.

Comentarios sobre el tratamiento de la trombofilia hereditaria en las mujeres con pérdida recurrente del embarazo

Las Guías claramente dejan establecido que, hasta la fecha, no hay evidencia de que el tratamiento de la trombofilia hereditaria con anticoagulantes mejore el pronóstico de un nuevo embarazo en mujeres con PRE y no recomiendan su uso. No dejan lugar a dudas.

Tratamiento de las mujeres con PRE y síndrome antifosfolipídico. Evidencia

**Anticoagulantes:** la revisión de Ziakas et al. (2010) informa sobre el beneficio del uso de HNF y HBPM más aspirina frente a la aspirina sola en las mujeres con PRE del primer trimestre y SAF, revisión de cinco estudios aleatorizados que incluyeron a 398 pacientes (OR 0,39; IC 95%: 0,24 a 0,65; número necesario para tratar: 5). Mak et al. (2010), en estudios similares, encontraron también beneficio, con un número necesario para tratar de 5,6.

El beneficio observado de HBPM más aspirina contra aspirina sola no alcanzó un nivel significativo para PRE y estuvo ausente cuando se evaluó la HBPM solo para pérdidas tardías. Los autores refieren importantes sesgos en los estudios incluidos. No hay trabajos que avalen el beneficio del uso solo de aspirina en la PRE por SAF.

La revisión Cochrane de 2005 no había sido actualizada hasta la fecha en la que salieron estas Guías, pero un trabajo de Zhang et al. (2015) sobre un análisis bayesiano no encontró beneficio significativo con el uso de HBPM, aspirina, aspirina más HBPM, aspirina más HNF en PRE y SAF. Este estudio incluyó a 543 mujeres con PRE y SAF en un total de seis estudios. Los estudios eran pequeños y este tipo de evaluación es indirecto, basado en la comparación teórica de los estudios.

Para el manejo de la prevención de la TEV se sugiere el uso de HBPM por sobre la HNF, por menor trombocitopenia y osteoporosis (Bates et al., 2012). En la práctica, si bien se prescribe la HBPM en el SAF, no se cuenta con evidencia de su eficacia en la PRE.

**Justificación:** si bien se han publicado diversas revisiones, la calidad de la evidencia es baja.

#### RECOMENDACIÓN 1

- Para las mujeres que cumplen los criterios de SAF y tienen una historia de tres o más pérdidas del embarazo, recomendamos el uso de baja dosis de aspirina (75 a 100 mg/día), iniciando antes de la concepción, y dosis profilácticas de HNF o HBPM cuando se obtenga una prueba positiva de embarazo.

#### RECOMENDACIÓN 2

- El grupo que desarrolló la Guía (GDG, Guideline Development Group) sugiere ofrecer tratamiento anticoagulante a las mujeres con dos pérdidas de embarazo y SAF solo en el contexto de un estudio de investigación. Lo considera un punto de buena práctica clínica (GPP: *good point practice*).

La evidencia actual sugiere que la combinación de heparina (más para HNF que para HBPM) y aspirina mejora la tasa de recién nacidos en las mujeres con SAF y tres o más abortos recurrentes. Hay una amplia heterogeneidad en las

poblaciones estudiadas. El grupo de trabajo ha preferido no hacer más comentarios sobre otras intervenciones, excepto sobre el uso de hidroxilcloroquina con fines de investigación, que ha mostrado ser efectiva para prevenir las complicaciones obstétricas en mujeres con SAF y que no ha sido investigada en SAF y PRE.

Comentarios sobre el tratamiento del SAF con pérdida recurrente del embarazo

El detalle con el que la Guía ESHRE se refiere al tema relacionado con los anticuerpos antifosfolipídicos es sumamente importante, sobre todo para el especialista en medicina reproductiva, quien siempre ha dado un papel protagónico a esta determinación a la hora de evaluar y tratar las PRE. Explicita la baja calidad de los estudios y la escasa evidencia sobre el beneficio del tratamiento, ya que faltan informes que evalúen la eficacia de la HBPM. Es cierto que en la práctica se usa, por las razones mencionadas, la HBPM sobre la HNF. Es difícil que, en un futuro, se realicen ensayos clínicos aleatorizados acerca de este tema, pero como sucede en las especialidades en las que la evidencia es escasa o de mala calidad, es necesario manejarse con las herramientas disponibles.

¿Qué nos aporta la Guía ESHRE sobre el tema? Que la trombofilia adquirida entra en los estudios de PRE y su tratamiento se realiza a partir de tres pérdidas con dosis profilácticas desde el momento de la confirmación de la prueba positiva de embarazo. Si bien los tratamientos para las mujeres con dos abortos y anticuerpos antifosfolipídicos quedan dentro de los estudios de investigación, probablemente este sea un motivo de debate futuro. En la práctica diaria ya fue incluido, por la misma Guía ESHRE 2017, el estudio de las mujeres a partir de dos abortos.

#### Comentarios finales

Esta Guía aporta al especialista en medicina reproductiva en particular, al médico en general y a la paciente, la evidencia actual del papel de la trombofilia tanto en el diagnóstico de las PRE como en el potencial beneficio de mejorar los resultados en un nuevo embarazo con el uso de heparina. Los datos hasta la fecha, y en concordancia con toda la literatura médica mundial, nos informan que no hay evidencia clara de que la trombofilia hereditaria sea la causa de las PRE y de que el tratamiento anticoagulante haya mostrado beneficios en mejorar el resultado en un

nuevo embarazo. Como dijimos, hay un estudio sobre PRE y trombofilia hereditaria en curso (ALIFE 2). En cuanto al SAF y las PRE, claramente confirma la debilidad de los estudios disponibles y sugiere el tratamiento con aspirina y heparina en dosis profilácticas y a partir de las tres pérdidas. Acepta los estudios y tratamientos en caso de dos pérdidas en el contexto de la investigación, lo que ellos llaman una buena práctica recomendada por expertos (GPP: *good point practice*; GDG: *Guideline Development Group*).

Un aspecto muy importante para destacar, sobre el cual la Guía ESHRE hace referencia, es el daño que causa en la paciente la solicitud de estudios de trombofilia hereditaria. Debemos tener siempre presente que la trombofilia hereditaria tiene una prevalencia en la población normal, puede dar positivo y no estar relacionada con la causalidad de la PRE, con la consiguiente generación de un daño y de un sobretratamiento innecesarios.

## REFERENCIAS

1. Guideline of the European Society of Human Reproduction and Embryology. ESHRE Early Pregnancy Guideline Development Group 2017.
2. Grand BE. Complicaciones gestacionales y trombofilia. *Hematología* 2016;20(1):70-98.
3. Bates SM, Greer I, Middeldorp S, et al. Venous thromboembolism, thrombophilia, antithrombotic therapy and pregnancy. *American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines*. 9th edition. Chest 2012;141:e691S-736S.
4. Bates SM, Middeldorp S, Rodger M, James A, Greer I. Guidance for the treatment and prevention of obstetric-associated venous thromboembolism. *J Thromb Thrombolysis* 2016;41:92-128.
5. Skeith L, Carrier M, Kaaja R, et al. A meta-analysis of low-molecular-weight heparin to prevent pregnancy loss in women with inherited thrombophilia. *Blood* 2016;127(13):1650-5.
6. De Jong P, Quenby S, Bloemenkamp K, et al. ALIFE 2 study: Low molecular weight heparin for women with recurrent miscarriage and inherited thrombophilia- study protocol for a randomized controlled trial. *Trials* 2015;16:208.

---

## NOVEDAD BIBLIOGRÁFICA

### Microbiota cervicovaginal, salud de la mujer y resultados reproductivos

#### *Cervicovaginal microbiota, women's health, and reproductive outcomes*

Samuel Kroon, Jacques Ravel y Wilhelmina Huston  
*Fertility Sterility* 2018;110(3):327-36.

#### Resumen

El proyecto del microbioma humano ha mostrado una destacable diversidad de ecología microbiana dentro del cuerpo humano. La microbiota vaginal es única y, en muchas mujeres, suele estar dominada por especies de *Lactobacillus*. Sin embargo, en algunas mujeres carece de estas últimas y está compuesta por una amplia gama de anaerobios estrictos y facultativos, un estado que se correlaciona ampliamente con mayor riesgo de infección y enfermedad, y malos resultados reproductivos y obstétricos. El nivel de protección contra las infecciones puede también variar por

especies y cepas de *Lactobacillus*, y algunas especies, aunque son dominantes, no son siempre óptimas. Esto influye en el riesgo de contraer enfermedades de transmisión sexual y, posiblemente, en la aparición de resultados reproductivos adversos como la infertilidad por factor tubárico. La composición y función de la microbiota vaginal parece desempeñar un papel importante en el embarazo y los resultados de los tratamientos de fertilidad. La investigación futura en este campo arrojará un mayor entendimiento mecanístico traslacional sobre la interacción de la microbiota vaginal con la salud y la reproducción de la mujer.

# Importancia de evaluar la microbiota uterina en la infertilidad

## *Relevance of assessing the uterine microbiota in infertility*

Inmaculada Moreno y Carlos Simon  
Fertility Sterility 2018; 110(3):337-43.

### Resumen

Los avances técnicos en la secuenciación masiva en paralelo han permitido la caracterización del microbioma del tracto reproductivo completo en todos los compartimientos, más allá de la vagina. La microbiota de la cavidad uterina parece ser un continuo de la microbiota de la vagina, aunque varios trabajos hallaron diferencias significativas entre la microbiota vaginal y la endometrial. Esto destaca la importancia de evaluar la microbiota del tracto genital superior para comprender mejor los roles potenciales de las bacterias en los procesos fisiológicos y patológicos

que tienen lugar en la cavidad uterina, incluidos la implantación embrionaria, el mantenimiento del embarazo y otras enfermedades ginecológicas. Sin embargo, el estudio de la microbiota endometrial, así como el de otros microbiomas de biomasa baja, presenta obstáculos importantes porque, debido a la poca cantidad de material de partida, son fácilmente contaminados por ADN bacterianos exógenos. Por esta razón, la investigación cuidadosa y apropiada de la microbiota endometrial tiene una importancia excepcional para detectar disbiosis que pueden afectar la función reproductiva.