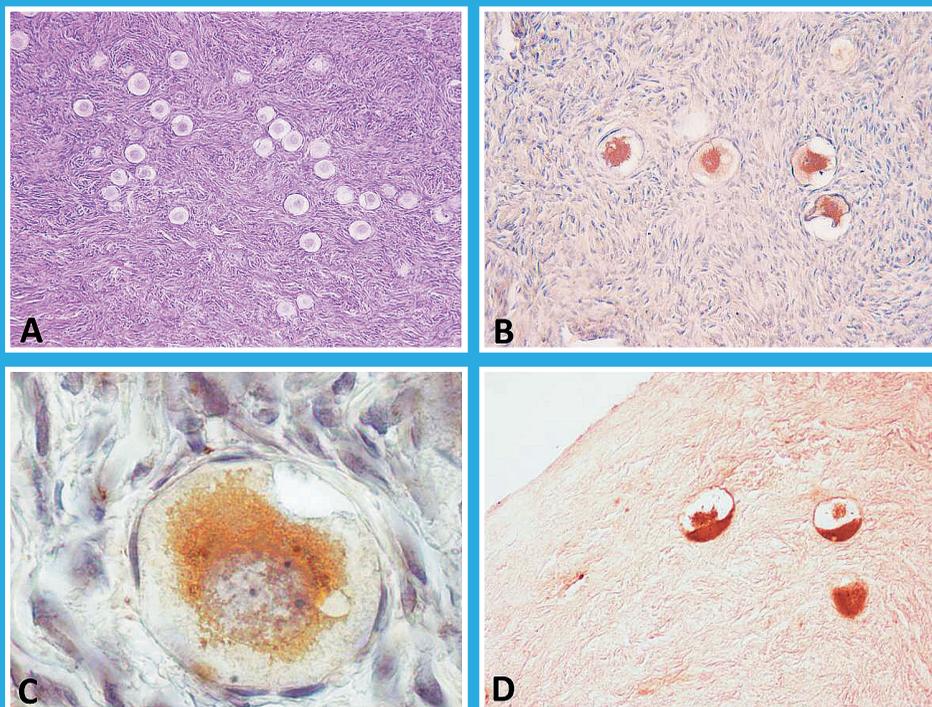


# Revista de la Sociedad Argentina de Endocrinología Ginecológica y Reproductiva



## Contenido de este número:

- Señales de transducción y mecanismos moleculares involucrados en la regulación de la proliferación de la célula de Sertoli
- Disminución en la tasa de embarazo posterior a la lesión endometrial en mujeres que se someten a su primero o segundo intento de fertilización *in vitro*. Un ensayo controlado aleatorizado y multicéntrico
- Criopreservación de tejido ovárico en niñas y adolescentes con cáncer. ¿Todavía una técnica experimental?
- FXYD5/Disadherina, un biomarcador de invasión miometrial y agresividad del cáncer de endometrio. Su relación con las vías TGF- $\beta$ 1 y NF- $\kappa$ B
- Una clínica de fertilidad libre del nuevo coronavirus

# Folitime®

## Folitropina Alfa

300 UI | 450 UI | 900 UI

PARA USO SUBCUTÁNEO

Solución Inyectable



- Elevada tasa de embarazos en tratamientos de fertilización in vitro
- Mayor rendimiento en producción de ovocitos
- Utilización de dosis más bajas de rFSH en comparación con uFSH

### SOLUCIÓN INYECTABLE EN CARTUCHO PRELLENADO

Folitime® en cartucho prellenado. Cada cartucho de Folitime® 300 UI contiene: Folitropina alfa recombinante humana (r-hFSH) 22 microgramos y excipientes: Sacarosa, Di sodio hidrógeno fosfato anhidro, Sodio dihidrogenofosfato monohidrato, L-Metionina, Poloxámero 188, M-Cresol y agua para inyectables c.s.p. 0,5 ml. Cada cartucho de Folitime® 450 UI contiene: Folitropina alfa recombinante humana (r-hFSH) 33 microgramos y excipientes: Sacarosa, Di sodio hidrógeno fosfato anhidro, Sodio dihidrogenofosfato monohidrato, L-Metionina, Poloxámero 188, M-Cresol y agua para inyectables c.s.p. 0,75 ml. Cada cartucho de Folitime® 900 UI contiene: Folitropina alfa recombinante humana (r-hFSH) 66 microgramos y excipientes: Sacarosa, Di sodio hidrógeno fosfato anhidro, Sodio dihidrogenofosfato monohidrato, L-Metionina, Poloxámero 188, M-Cresol y agua para inyectables c.s.p. 1,5 ml.

**Posología y modo de administración:** Tratamiento para anovulación: El inicio del tratamiento puede hacerse con 75-150 UI de FSH diarias y se incrementa en 37,5 ó 75 UI, a intervalos de 7 días o, preferentemente, 14 días, si fuera necesario, para obtener una respuesta adecuada. La dosis máxima diaria no suele ser superior a 225 UI de FSH. Tratamiento de estimulación ovárica para el desarrollo folicular múltiple previo a la fertilización in vitro u otras técnicas de reproducción asistida: La dosis inicial propuesta para inducir superovulación es de 150-225 UI de Folitime® por día, comenzando el día 2 ó 3 del ciclo. Tratamientos en mujeres con déficit severo de hormona luteinizante (LH) y FSH: En las mujeres con deficiencia severa de LH y FSH (hipogonadismo hipogonadotrópico), el objetivo del tratamiento con Folitime® asociado a LH es desarrollar un único folículo de Graaf maduro. Folitime® debe administrarse como un ciclo de inyecciones diarias, junto con LH. Se recomienda comenzar con 75 UI de LH por día junto con 75 - 150 UI de FSH. El tratamiento debe adaptarse a la respuesta individual de la paciente.

Tratamiento en varones hipogonadismo hipogonadotrópico: Se recomienda la administración de Folitime® en dosis de 150 UI tres veces por semana, concomitantemente con Gonadotropina Coriónica humana (hCG), durante un mínimo de 4 meses. **Acción terapéutica:** En mujeres, el efecto más importante de la Hormona Foliculo Estimulante (FSH) es el desarrollo de folículos de Graaf maduros. En mujeres con anovulación: desarrollar un único folículo de Graaf maduro a partir del cual se liberará el óvulo después de la administración de hormona Gonadotropina Coriónica humana (hCG). **Indicaciones:** En mujeres adultas: anovulación sin respuesta al citrato de clomifeno. Estimulación del desarrollo folicular múltiple en mujeres sometidas a superovulación para realizar técnicas de reproducción asistida (TRA). Se recomienda para la estimulación del desarrollo folicular en mujeres con deficiencia severa de LH y FSH. En varones adultos: estimular la espermatogénesis. **Contraindicaciones:** Hipersensibilidad a folitropina alfa, FSH o a cualquiera de los excipientes. Tumores del hipotálamo o de la hipófisis. Aumento del tamaño de los ovarios. Hemorragias ginecológicas de etiología desconocida. Carcinoma ovárico, uterino o mamario. Falta de respuesta en casos de fallo ovárico primario. Malformaciones de los órganos sexuales, incompatibles con el embarazo. Tumores fibroides del útero incompatibles con el embarazo. Fallo testicular primario. **Reacciones adversas:** Síndrome de hiperestimulación ovárica leve o moderado. El síndrome de hiperestimulación ovárica grave es poco frecuente. Quistes ováricos, dolor abdominal, náuseas, vómitos, distensión abdominal, torsión ovárica, troboembolismo. Reacciones alérgicas locales y sistémicas. En varones: ginecomastia, acné, aumento de peso. **Advertencias y precauciones:** Las respuestas a Folitime® debe ser monitoreadas mediante ecografías, determinación de los niveles de estradiol sérico. Los pacientes con porfiria deben controlarse estrechamente. El Síndrome de Hiperestimulación Ovárica (SHO) es distinto del aumento de tamaño ovárico no complicado. Este síndrome puede progresar a un cuadro clínico grave. El SHO leve o moderado generalmente se resuelve de manera espontánea. Si se produce un SHO grave, se recomienda interrumpir el tratamiento con gonadotropinas, hospitalizar a la paciente. Con el uso de Folitime® se eleva la incidencia de embarazos múltiples y del tipo gemelar. Las mujeres que presentan antecedentes tromboembólicos, tienen un mayor riesgo de padecer trombosis. En varones, los niveles elevados de FSH endógena indican fallo testicular primario, lo que impide una respuesta efectiva al tratamiento con FSH/hCG.

\* Referencias: 1. Recombinant versus urinary follicle stimulating hormone for ovarian stimulation in assisted reproduction. Salim Daya, Joanne Gurby Human Reproduction Volume 14, Issue 9 ,1999 Pp. 2207-2215.

2. Human recombinant follicle stimulating hormone (rFSH) compared to urinary human menopausal gonadotropin (hMG) for ovarian stimulation in assisted reproduction: a literature review and cost evaluation. P. E. Levi Setti, C. Alviggi, G. L. Colombo, C. Pisanelli, C. Ripellino, S. Longobardi, P. L. Canonico, G. De Placido. J Endocrinol Invest. 2015; 38(5): 497-503.

# XIV Curso Superior Bianual

EN ENDOCRINOLOGÍA  
GINECOLÓGICA  
Y REPRODUCTIVA.

## BUENOS AIRES 2021-2022

### CONTENIDOS GENERALES

- Anticoncepción
- Reproducción
- Aborto Recurrente
- Climaterio
- Síndrome metabólico
- Sexualidad
- Envejecimiento
- Algoritmos diagnósticos y terapéuticos en Endocrinología Ginecológica y Reproductiva
- Osteoporosis y Metabolismo fosfocálcico
- Imágenes
- Adolescencia
- Síndromes hiperandrogénicos
- Amenorreas
- Laboratorio en Endocrinología Ginecológica y Reproductiva
- Endometriosis
- Psiconeuroinmunoendocrinología

#### REQUISITOS DE INSCRIPCIÓN:

Enviar por correo electrónico a [administracion@saegre.org.ar](mailto:administracion@saegre.org.ar)

CV no mayor a 4 páginas - Fotocopia certificada del título universitario -  
Constancia de Especialista, Residente o Concurrente.

ABIERTA LA INSCRIPCIÓN  
[www.saegre.org.ar](http://www.saegre.org.ar)

# V Curso Universitario Bianual de Especialización en Endocrinología Ginecológica y Reproductiva Córdoba

## SAEGRE 2021 - 2022

1ra y 2da Cátedra de Ginecología  
de la Universidad Nacional de Córdoba

### CONTENIDOS GENERALES

- Anticoncepción
- Reproducción
- Aborto Recurrente
- Climaterio
- Síndrome metabólico
- Sexualidad
- Envejecimiento
- Algoritmos diagnósticos y terapéuticos en Endocrinología Ginecológica y Reproductiva
- Osteoporosis y Metabolismo fosfocálcico
- Imágenes
- Adolescencia
- Síndromes hiperandrogénicos
- Amenorreas
- Laboratorio en Endocrinología Ginecológica y Reproductiva
- Endometriosis
- Psiconeuroinmunoendocrinología

#### REQUISITOS DE INSCRIPCIÓN:

Enviar por correo electrónico a [administracion@saegre.org.ar](mailto:administracion@saegre.org.ar)

CV no mayor a 4 páginas - Fotocopia certificada del título universitario -  
Constancia de Especialista, Residente o Concurrente.

**ABIERTA LA INSCRIPCIÓN - INICIO ABRIL 2021**  
[www.saegre.org.ar](http://www.saegre.org.ar) - [congresosaegre@gmail.com](mailto:congresosaegre@gmail.com)

# EXCLUSIVO SOCIOS SAEGRE



¡Asociate y  
Disfruta de todos  
nuestros  
beneficios!

Acceso a:  
Webinarios, Sesiones  
científicas, Publicaciones  
y comentarios de  
expertos y más.

Descuentos en  
nuestros cursos  
de formación  
continua.

Volvé a ver:  
Jornadas Conjuntas ACOG-  
SAEGRE/SAEGRE-ACOG y los  
Highlights en Ginecología  
Endocrinológica

[administracion@saegre.org.ar](mailto:administracion@saegre.org.ar)

facebook  
@saegre

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

SOCIEDAD ARGENTINA DE  
ENDOCRINOLOGÍA GINECOLÓGICA Y REPRODUCTIVA

# Programa de formación continua

ABIERTA LA INSCRIPCIÓN A LOS  
CURSOS BREVES ONLINE

- SOP - Síndrome de Ovario Poliquístico.
- CLIMATERIO- Abordaje integral en prevención y tratamiento.
- INFERTILIDAD PRÁCTICA - Para tocoginecólogos.
- OSTEOPOROSIS - Diagnóstico y manejo práctico.
- LABORATORIO- En Endocrinología Ginecológica y Reproductiva.
- AMENORREAS - Manejo práctico de las alteraciones del ciclo y amenorreas.
- PATOLOGÍA TIROIDEA - Las enfermedades tiroideas en el ciclo de la mujer.
- ADOLESCENCIA - Actualización en adolescencia.
- ENDOCRINOPATÍAS - Endocrinopatías y embarazo.
- ANTICONCEPCIÓN - Lo que necesitas saber.

**Modalidad online.**  
**Totalmente autoadministrados.**

Los cursos otorgan créditos para la certificación del Título Especialista  
en Endocrinología Ginecológica y Reproductiva.



**INSCRIBITE  
AHORA**

administracion@saegre.org.ar  
[www.saegre.org.ar](http://www.saegre.org.ar)

# 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 27 • Volumen XXVII • N° 1 • Suplemento 1 • Enero - junio de 2020 • ISSN 1515-8845 (impresa) ISSN 2469-0252 (en línea)

## COMISIÓN DIRECTIVA 2018

**Presidenta:** **Dra. Sandra Demayo**  
**Vicepresidenta:** **Dr. Domingo Mugnolo**  
**Secretaria:** **Dra. Adriana Monastero**  
**Prosecretaria:** **Dra. Karina Tozzi**

**Profesora:** **Dra. Laura Mitelberg**  
**Vocales Titulares:** **Dra. Lorena Giannoni - Dra. Constanza Franco - Dra. Karina Sternberg - Dra. Alicia Jawerbaum**

## COMISIÓN REVISORA DE CUENTAS

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

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

## COMITÉ EDITORIAL

**Directora de Publicaciones:**

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

**Colaboradoras:**

**Dra. Dalhia Abramovich**, Bioquímica y Farmacéutica, Universidad de Buenos Aires (UBA), Doctora en Ciencias Biológicas, Universidad de Buenos Aires (UBA), Investigadora Adjunta del CONICET, Laboratorio de Estudios de la Fisiopatología Ovárica, IBYME-CONICET.

**Dra. Yanina Azas**, Médica Especialista en Ginecología y Obstetricia (UBA), Especialista en Endocrinología Ginecológica y Reproductiva, Especialista en Medicina Reproductiva. Docente auxiliar UBA. Médica de planta Ginecología Htal. M. V. de Martínez. Staff Halitus Instituto Médico.

**Dra. Mariela Bilotas**, Doctora en Ciencias Biológicas (UBA), Investigadora Adjunta del CONICET, Laboratorio de Inmunología de la Reproducción, IBYME-CONICET.

**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. 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.

**Dra. S. Judith Setton**, Médica especialista en Endocrinología, Universidad de Buenos Aires (UBA). Médica del staff Halitus Instituto Médico.

## Propietaria:

Asociación Civil Sociedad Argentina de Endocrinología Ginecológica y Reproductiva

## Domicilio Legal de la Revista:

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

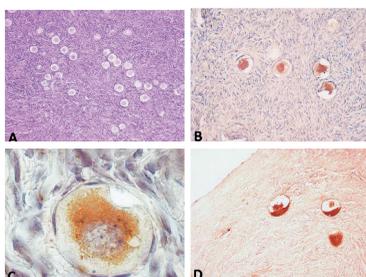
## Edita:

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

Año 27 • Volumen XXVII • N° 1 Suplemento 1 • Enero - junio de 2020

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

## Tapa



Ovarios de pacientes prepuberales y adolescentes oncológicas que preservaron su fertilidad por criopreservación de tejido. **A)** Vista panorámica de corteza ovárica de pacientes de 16 años teñida con hematoxilina-eosina. Se observan abundantes folículos primordiales (100X). **B)** Inmunolocalización de la proteína pro-apoptótica BAX en citoplasma de folículos primordiales en ovario de pacientes de 16 años (400X). **C)** Inmunolocalización de la proteína antiapoptótica BCL2 en citoplasma de folículo primordial en ovario de paciente de 16 años (1000X). **D)** Inmunolocalización de la proteína CASPASA-3 clivada en citoplasma de folículos primordiales en ovario de paciente de 9 años (400X). Autora: Dra. María Itatí Albamonte.

# Revista de la Sociedad Argentina de Endocrinología Ginecológica y Reproductiva



Año 27 • Volumen XXVII • N° 1 • Suplemento 1 • Enero - junio de 2020 • ISSN 1515-8845 (impresa) ISSN 2469-0252 (en línea)

## Comité Científico

### Presidente

Dr. Gabriel Fiszbajn

### Integrantes

Dr. Manuel Nölting

Dr. Sebastián Gogorza

Dra. Nora Moses

Dra. Alicia Jawerbaum

Dr. Domingo Mugnolo

## Directores de Cursos

### Capacitación Superior Buenos Aires

Dr. Sandra Demayo

Dra. Laura Mitelberg

Dra. Gabriela Pundyk

Dra. Karina Sternberg

### Capacitación Superior Córdoba

Dr. Natalio Kuperman

Dra. Viviana Mesch

Dra. Mónica Ñáñez

Dra. Lorena Giannoni

### I Curso Anual de Endocrinología

#### Ginecológica y Reproductiva

#### Ushuaia - Río Grande

Dr. Fabián Gomez Giglio

Dra. Adriana Monastero

Dra. Karina Tozzi

Dra. Carolina Yulán

## Coordinadores de Cursos

### De Buenos Aires

Dra. Yamile Mocarbel

Dra. María Alejandra Palma Landeau

Dra. Valeria Servetti

### De Ushuaia- Río Grande

Dra. Gisela Di Pietro

Dra. María Fernanda González de Chazal

Dra. Valeria Servetti

### De Córdoba

Dra. Vanina Drappa

Dra. Mariana Angeloni

## Comité de Certificación y Recertificación

### Coordinadoras

Dra. Alicia Jawerbaum

Dra. Laura Mitelberg

### Miembros

Dr. Manuel Nölting

Dra. María Belén Perez Lana

## Comunicación Institucional

Dra. Lorena Giannoni

Dra. Valeria Servetti

## Filiales

### Filial Sur

Directores:

Dr. Fabián Gómez Giglio

Dra. María José Iturria

### Filial NOA

Directores:

Dr. Néstor Zurueta

Dr. Juan José Aguilera

### Filial Litoral

Directores:

Dr. Héctor Miechi

Dra. Delia Ostera

### Filial Cuyo. Sede San Juan

Directora:

Dra. Graciela Schabelman

### Filial Córdoba Centro

Director:

Dr. Natalio Kuperman

## Sociedad Argentina de Endocrinología Ginecológica y Reproductiva

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

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

Esta publicación ha sido seleccionada y será indizada para la base de datos LILACS - Literatura Latinoamericana en Ciencias de la Salud

de publicaciones científicas y la base de datos BINACIS - Bibliografía Nacional en Ciencias de la Salud de Argentina. Estas bases de datos

están accesibles desde el sitio de la Biblioteca Virtual en Salud de Argentina en: <http://www.bvs.org.ar> y a nivel regional en el sitio: <http://www.bireme.br>

## ÍNDICE

### ACTUALIZACIÓN

- Criopreservación de tejido ovárico en niñas y adolescentes con cáncer. ¿Todavía una técnica experimental? 29

María Itatí Albamonte

### REVISIÓN

- Señales de transducción y mecanismos moleculares involucrados en la regulación de la proliferación de la célula de Sertoli 35

Cecilia L. Centola, Gustavo M. Rindone, Agostina Gorga, Eliana H. Pellizzari, Selva B. Cigorraga, María F. Riera, Silvina B. Meroni, María N. Galardo

### ANÁLISIS CRÍTICOS POR EXPERTOS DE TRABAJOS SELECCIONADOS

- Disminución en la tasa de embarazo posterior a la lesión endometrial en mujeres que se someten a su primero o segundo intento de fertilización *in vitro*. Un ensayo controlado aleatorizado y multicéntrico 46

Comentario: Dra. Ana Schafir y Dra. Soledad Gori  
Comentario: Dr. Roberto C. Inza

### COMENTARIOS BIBLIOGRÁFICOS

- FXYD5/Dysadherina, un biomarcador de invasión miometrial y agresividad del cáncer de endometrio. Su relación con las vías TGF- $\beta$ 1 y NF- $\kappa$ B 51

Comentario: Dra. Mónica Hebe Vázquez-Levin

- Una clínica de fertilidad libre del nuevo coronavirus 52

Comentario: Dr. Claudio Bisioli

### NOVEDAD BIBLIOGRÁFICA

- La hormona paratiroidea (PTH) induce la pérdida ósea a través de una expansión dependiente de microbios de las células T positivas para TNF y de las células Th17 intestinales 56

## INDEX

### UPDATE

- Cryopreservation of ovarian tissue in girls and adolescents with cancer. Still an experimental technique? 29

María Itatí Albamonte

### REVIEW

- Signal transduction pathways and molecular mechanisms involved in the regulation of Sertoli cell proliferation 35

Cecilia L. Centola, Gustavo M. Rindone, Agostina Gorga, Eliana H. Pellizzari, Selva B. Cigorraga, María F. Riera, Silvina B. Meroni, María N. Galardo

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

- Decrease in pregnancy rate after endometrial scratch in women undergoing a first or second *in vitro* fertilization. A multicenter randomized controlled trial 46

Comment: Dra. Ana Schafir y Dra. Soledad Gori  
Comment: Dr. Roberto C. Inza

### ARTICLE COMMENTS

- FXYD5/Dysadherin, a biomarker of endometrial cancer myometrial invasion and aggressiveness: its relationship with TGF- $\beta$ 1 and NF- $\kappa$ B pathways 51

Comment: Dra. Mónica Hebe Vázquez-Levin

- A fertility center free of coronavirus 52

Comment: Dr. Claudio Bisioli

### NOVEL ARTICLE

- PTH induces bone loss via microbial-dependent expansion of intestinal TNF + T cells and Th17 cells 56

## 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; Comentarios bibliográficos; Casos clínicos (en estas cuatro 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 extensión máxima de 20 páginas.

Los autores deberán enviar una versión electrónica al miembro del Comité Editorial que lo solicitó (artículos por Invitación) o a SAEGRE: administracion@saegre.org.ar.

### 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; Comentarios bibliográficos; 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@lifeliveuven.be](mailto:info@lifeliveuven.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 40. 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 a 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 "Vancouver", tal como 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, 2<sup>nd</sup> 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.

### Abreviaturas y símbolos

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

### Tablas, ilustraciones, epígrafes y permisos

#### • Tablas

Deberán tipearse a doble espacio en páginas separadas y deberán ser numeradas en números arábigos en el orden en 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 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. Las figuras y/o tablas tomadas de otras fuentes también requieren citar la fuente e incluir el permiso de la editorial que posea los derechos de autor.

# Criopreservación de tejido ovárico en niñas y adolescentes con cáncer. ¿Todavía una técnica experimental?

## *Cryopreservation of ovarian tissue in girls and adolescents with cancer. Still an experimental technique?*

María Itatí Albamonte

Laboratorio de Reproducción Humana, Centro de Estudios Biomédicos Básicos, Aplicados y Desarrollo (CEBBAD), Universidad Maimónides, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

Contacto de la autora: María Itatí Albamonte

E-mail: albamonte.itati@maimonides.edu

Correspondencia: Hidalgo 775 6° piso - C1405BCK

Recibido: 26/5/2020

Aceptado: 15/7/2020

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

### Resumen

En la actualidad, la mejora en los tratamientos antitumorales en pacientes oncológicos provocó un aumento en la tasa de su supervivencia. Esto condujo a tener en cuenta su calidad de vida y su fertilidad futura luego de la curación. En las niñas y adolescentes con cáncer, la criopreservación de tejido ovárico es, hasta la fecha, la única opción disponible no solo por su condición social y reproductiva, sino también porque la urgencia en el inicio del tratamiento oncológico impide llevar a cabo la estimulación ovárica. Las dos metodologías para conservar el tejido son el congelamiento lento y la vitrificación. La primera es la más utilizada; la segunda, la más novedosa, rápida y efectiva. Es muy importante conocer la reserva folicular y el estado de esta en el tejido ovárico antes de su criopreservación. En algunos trabajos se realizó un conteo folicular y la evaluación de genes de la apoptosis. Asimismo, hay que tener en cuenta que puede haber riesgo de reintroducir células malignas del tejido ovárico trasplantado. Por tal motivo, se están desarrollando nuevas metodologías de cultivo *in vitro* que permiten la activación y el crecimiento de los folículos primordiales para obtener ovocitos que, luego de su maduración *in vitro*, serán aptos para la fecundación. Los resultados acumulados en estos últimos 20 años conducen cada vez más a que las pacientes que estén transitando alguna enfermedad oncológica reciban asesoramiento sobre la preservación de su fertilidad futura.

**Palabras clave:** criopreservación, ovario, cáncer, cultivo, fertilidad, infantojuvenil.

### Abstract

*Currently, the improvement in antitumor treatments in cancer patients led to an increase in survival rate. This has promoted taking into consideration the quality of life and future fertility after healing in patients. In girls and adolescents with cancer, cryopreservation of ovarian tissue is, to date, the only option available because their social and reproductive condition and the urgency to start cancer treatment prevent ovarian stimulation from being carried out. The two methodologies for preserving tissue are slow freezing and vitrification. The first one is the most widely used; the second one, the most innovative, fast and effective. It is very important to know the follicular reserve and its state in the ovarian tissue prior to cryopreservation. Some studies carry out follicular count and evaluation of apoptosis genes. Likewise, it should be borne in mind that there may be a risk of reintroducing malignant cells from the transplanted ovarian tissue. For this reason, new in vitro culture methodologies are being developed that allow the activation and growth of the primordial follicles to obtain oocytes that, after their in vitro maturation, will be suitable for fertilization. The results accumulated in the last 20 years, increasingly lead to patients who are undergoing an oncological disease receiving advice on preserving their future fertility.*

**Key words:** cryopreservation, ovary, cancer, culture, fertility, child-youth.

Revista de la Sociedad Argentina de Endocrinología Ginecológica y Reproductiva 2020; Vol. XXVII N° 1 Suplemento 1 Enero - junio de

Revista de la Sociedad Argentina de Endocrinología Ginecológica y Reproductiva 2020; Vol. XXVII N° 1 Suplemento 1 Enero - junio de

### INTRODUCCIÓN

Los tratamientos indicados en pacientes con enfermedades oncológicas pueden afectar la fertilidad, sobre todo, aquellos en los que se utilizan an-

tineoplásicos de elevada gonadotoxicidad como la ciclofosfamida<sup>1</sup>. Si bien el principal objetivo del oncólogo y de todo el equipo de salud es la reducción de la mortalidad en las pacientes con cáncer, deben

tenerse en cuenta su calidad de vida y su potencial fertilidad. Una encuesta realizada por Schover et al.<sup>2</sup> hace más de 20 años mostró que tanto el embarazo como tener un hijo biológico propio eran preocupaciones en las mujeres sobrevivientes de cáncer. Por lo tanto, cada vez se recomienda más brindar un asesoramiento sobre la preservación de la fertilidad en las niñas, adolescentes y mujeres jóvenes con cáncer antes de indicar el tratamiento oncológico<sup>3</sup>.

Ahora se cuenta con diversas opciones para preservar la fertilidad en las mujeres. Algunas de ellas, como la preservación de ovocitos y de embriones, están bien establecidas, mientras que otras, como la preservación de tejido ovárico, aún siguen considerándose experimentales<sup>4</sup>, a pesar de que desde el primer nacimiento después de un trasplante ortotópico, en 2004, en una mujer tratada por linfoma de Hodgkin<sup>5</sup>, se han notificado más de 130 nacimientos en todo el mundo por trasplante autólogo, lo que sugiere que el trasplante ortotópico de tejido ovárico puede entrar en la práctica de rutina<sup>6-9</sup>.

En el caso de las pacientes prepúberes y adolescentes, la criopreservación de tejido ovárico es la única opción disponible, no solo por su condición social y estado reproductivo, sino también porque deben someterse a un tratamiento oncológico urgente y no se dispone de tiempo para realizar la estimulación ovárica. Es importante destacar que la tasa de supervivencia a largo plazo de los pacientes con cáncer infantil ha aumentado, principalmente por los avances en la detección temprana y los regímenes de tratamiento más efectivos contra las enfermedades malignas<sup>10</sup>. Por ejemplo, en la actualidad la tasa de supervivencia en los niños y adolescentes con linfoma de Hodgkin supera el 90% y es casi del 80% para los que padecen leucemia linfoblástica aguda<sup>11,12</sup>. En vista de estas altas tasas de supervivencia, la consideración de la calidad de vida de la paciente después de recuperarse de la enfermedad demuestra que la indicación de preservación de la fertilidad antes del tratamiento oncológico está bien justificada<sup>13</sup>.

## CRIOPRESERVACIÓN DE TEJIDO OVÁRICO

La criopreservación de tejido ovárico implica la extirpación quirúrgica de todo el ovario o de una parte de él, para diseccionarlo y obtener fragmentos de corteza ovárica aptos para su criopreservación. Una de las principales limitaciones de los injertos de corteza ovárica es su reducida vida media, ya que alrededor de dos tercios de la reserva folicular se pierden por daño isquémico luego de su trasplante.

Algunos trabajos realizados en animales, como las ratas, sugieren el trasplante del órgano entero para evitar ese problema<sup>14-16</sup>.

Hay dos metodologías para la criopreservación de la corteza ovárica: la vitrificación y la congelación lenta. Si bien esta última es la más ampliamente utilizada y en la que se ha informado mayor cantidad de nacidos vivos, la vitrificación está en continuo auge.

La vitrificación es una técnica de congelamiento ultrarrápida que impide la formación de cristales de hielo dentro de la célula, con lo que disminuye el riesgo de daño mecánico sin alterar su integridad morfológica. En un metanálisis realizado por el grupo de Shi<sup>17</sup>, en el que se evaluó la eficacia de la vitrificación de tejido ovárico en comparación con la congelación lenta, ambas técnicas brindaron resultados similares en cuanto a la densidad y morfología de los folículos primordiales. Sin embargo, la vitrificación ocasiona menor daño en el ADN y una mayor conservación de las células estromales. Por los mejores resultados obtenidos a partir de la vitrificación de tejido, por el menor tiempo que conlleva realizarla y por no requerir equipamiento especial y costoso, esta técnica se está empleando cada vez más.

Más allá de la técnica utilizada para la criopreservación, la preservación de tejido ovárico es, con sus ventajas y desventajas (Tabla 1), hasta el momento, la única opción disponible para pacientes prepúberes y adolescentes oncológicas.

Si bien cada vez se acepta más la idea de preservar la fertilidad mediante criopreservación de tejido ovárico en pacientes prepúberes y adolescentes oncológicas antes de iniciar el tratamiento antitumoral, la información sobre la reserva folicular y el estado de esta en el tejido, antes de su conservación, es escasa.

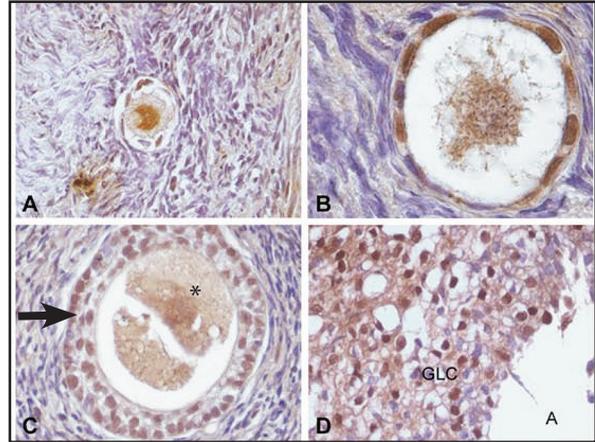
En un trabajo reciente de nuestro grupo de investigación<sup>18</sup>, que incluyó 12 muestras de tejido ovárico de pacientes de entre 7 y 19 años con diferentes patologías oncológicas (linfoma de Hodgkin,

Ventajas	Desventajas
Evita retrasos en el inicio del tratamiento oncológico	Técnica experimental
No requiere estimulación hormonal	Intervención quirúrgica para obtención del tejido y posterior trasplante
Restitución de la función ovárica	Reducida vida media del fragmento ovárico
Restitución de la función hormonal	Riesgo de reintroducir células malignas

**Tabla 1:** Ventajas y desventajas de la criopreservación del tejido ovárico en pacientes prepúberes y adolescentes oncológicas.

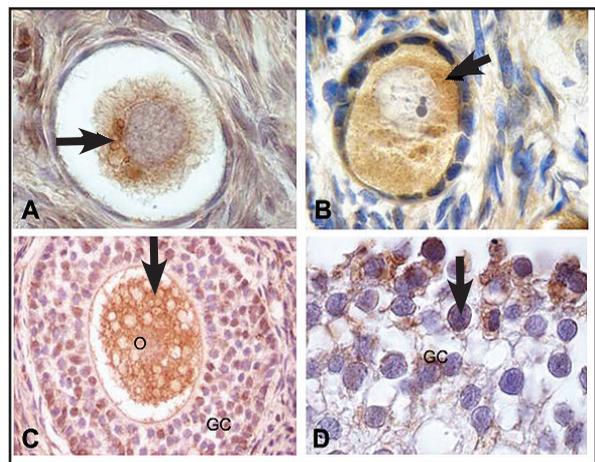
leucemia mieloide aguda, osteosarcoma, miosarcoma, ganglioneuroblastoma, síndrome mielodisplásico), enroladas en un programa de preservación de la fertilidad por criopreservación ovárica, hemos analizado la reserva folicular en fragmentos de tejido ovárico antes de su conservación mediante el conteo de los diferentes estadios foliculares en cortes teñidos con hematoxilina-eosina. Todos los fragmentos presentaron foliculogénesis activa, observándose desde folículos primordiales hasta antrales, cuerpos lúteos y cuerpos *albicans*. Sin embargo, el conteo de folículos primordiales mostró un rango muy amplio de variación (entre 50% y 99%) entre todas las pacientes. Esto puede deberse a la distribución al azar y heterogénea de la reserva germinal en el ovario<sup>19,20</sup>. Asimismo, es interesante conocer el estado de la masa folicular presente en esos tejidos. En el mismo trabajo, se realizó la detección de varios genes asociados a la apoptosis tanto de la vía intrínseca (familia génica *BCL2*) como de la vía extrínseca (sistema de muerte FAS y su ligando), como también el análisis de células apoptóticas mediante la detección de caspasa-3 y TUNEL. La detección de los miembros proapoptóticos (BAX, BID clivado) y antiapoptóticos (*BCL2*, *MCL1*) estuvo relacionada con el desarrollo folicular. Particularmente, en la masa folicular de reserva (folículos primordiales y primarios), la coexistencia de BAX y *BCL2* fue un hallazgo, ya que esta última proteína no se había detectado en esos folículos en los trabajos anteriores (Figuras 1 y 2)<sup>21,22</sup>. Cabe señalar que esos trabajos se realizaron en muestras ováricas de pacientes sin patologías oncológicas. La expresión de *BCL2* en la masa folicular de reserva podría deberse a una respuesta protectora frente a la presencia de un proceso extragonadal patológico. El cáncer es, *per se*, una enfermedad que induce estrés oxidativo, generando efectos tóxicos en las células, combinados con anoxia y déficit de nutrientes y antioxidantes que no pueden compensar la producción de radicales libres<sup>23,24</sup>. En este contexto, las células germinales podrían estar tratando de sobrevivir en ese ambiente estresante y la detección de *BCL2* sería de buen pronóstico para una eventual recuperación de la capacidad gametogénica futura. En cuanto a la detección de células apoptóticas, la presencia ocasional de caspasa-3 clivada en los folículos primordiales sugiere que el proceso de daño celular ya estaría desencadenado en algunos folículos que serán reclutados para el grupo en crecimiento y es probable que la mayoría sufran atresia antes o durante el estadio antral. Solo los folículos antrales, y en especial

los folículos completamente desarrollados, así como los folículos atrésicos, resultaron TUNEL positivos y mostraron caspasa-3 clivada en las células granulosa y tecales, lo que indica que la atresia folicular es un proceso mediado por la apoptosis (Figura 3).



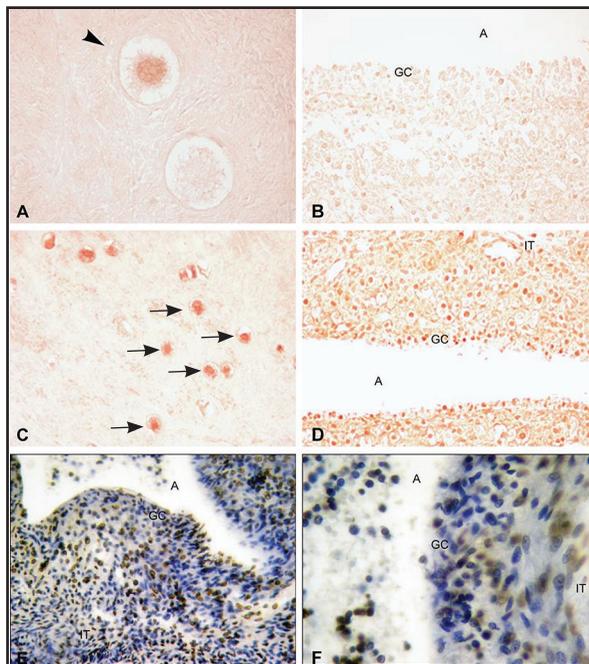
**Figura 1.** Inmunomarcación de la proteína proapoptótica BAX en ovarios prepuberales y adolescentes oncológicas que preservaron su fertilidad por criopreservación de tejido ovárico. **A)** Folículo primordial positivo para BAX en el citoplasma de una célula germinal (flecha) y en células granulosa (200X). **B)** La positividad continúa en folículo primario tanto en citoplasma de célula germinal (asterisco) como en las células de la granulosa (flecha) (1000X) y en **C)** folículo secundario, tanto en el citoplasma de una célula germinal (asterisco) como en las células de la granulosa (flecha) (400X). **D)** Vista parcial de un cuerpo lúteo positivo para BAX (400X).

GLC: células de la granulosa luteinizadas. Reproducido con permiso de Albamonte M et al., 2019.



**Figura 2.** Inmunomarcación de la proteína antiapoptótica *BCL2* en ovarios prepuberales y adolescentes oncológicas que preservaron su fertilidad por criopreservación de tejido ovárico. **A)** Folículo primordial positivo para *BCL2* en citoplasma oocitario (flecha) y **B)** folículo primordial/primario positivo para *BCL2* tanto en células de la granulosa (asterisco) como en células de la granulosa (flecha) (1000X). **C)** Folículo secundario positivo en célula germinal (flecha) y en células de la granulosa (200X). **D)** Vista parcial de un folículo antral positivo en células de la granulosa (flecha).

GC: células de la granulosa, O: oocito. Reproducido con permiso de Albamonte M et al., 2019.



**Figura 3.** Inmunomarcación de la proteína caspasa-3 clivada y TUNEL en ovarios prepuberales y de adolescentes oncológicas que preservaron su fertilidad por criopreservación de tejido ovárico. **A)** Folículo primordial positivo (punta de flecha) y negativo para procaspasa 3 (400X). **B)** Vista parcial de un folículo antral negativo para procaspasa-3 (200X). **C)** Folículos primordiales positivos (flechas) para caspasa-3 clivada (100X). **D)** Folículo antral atrésico positivo para caspasa 3 clivada en células de la granulosa y tecales (200X). **E)** Células de la granulosa y tecales apoptóticas (400X). **F)** Visión parcial de un folículo antral atrésico con células de la granulosa TUNEL positivas (1000X). A: antro; GC: células granulosa, IT: teca interna. Reproducido con permiso de Albamonte M et al., 2019.

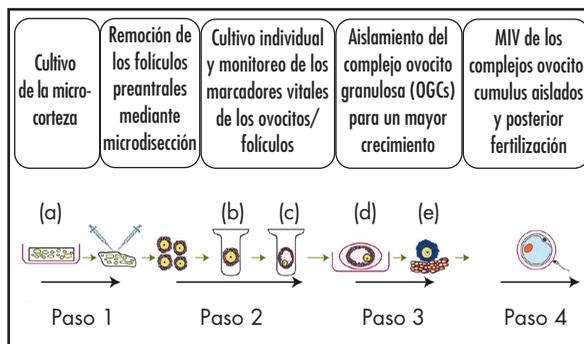
### CULTIVO DE TEJIDO OVÁRICO PARA EL DESARROLLO FOLICULAR IN VITRO

La masa de folículos primordiales quiescentes presentes en la corteza ovárica es resistente a los procesos de congelamiento/descongelamiento<sup>25</sup>. Por tal motivo, la criopreservación de tejido y su posterior autotrasplante es la metodología más utilizada para preservar la fertilidad en pacientes infanto-juveniles con cáncer extragonadal. Sin embargo, existe riesgo de reintroducir células malignas del tejido autotrasplantado, sobre todo en los cánceres hematológicos como las leucemias, que son los más frecuentes en este grupo etario<sup>26-29</sup>. Por lo tanto, se están comenzando a elaborar nuevas técnicas más seguras, como el crecimiento folicular *in vitro* para la obtención de ovocitos aptos para la fecundación.

La función reproductiva femenina requiere el desarrollo cíclico y madurativo de los folículos ováricos desde la activación continua de la masa de folículos primordiales. El desarrollo folicular involucra una serie de eventos regulados, caracterizados por

estadios de transición que comienzan con el inicio del crecimiento de los folículos primordiales hasta el estadio de folículo secundario, la formación de folículos antrales hasta el estadio de folículo de De Graaf con la asociación de células de la granulosa y la acumulación de líquido antral, y la obtención de un ovocito maduro. Por consiguiente, para que se produzca un adecuado crecimiento folicular y maduración ovocitaria *in vitro* se debe emplear un sistema de cultivo en múltiples etapas que otorguen los requerimientos necesarios para cada momento del desarrollo<sup>29-31</sup>. La primera etapa implica la activación y crecimiento inicial de los folículos primordiales hasta el estadio de folículo secundario; la segunda etapa involucra el crecimiento de los folículos secundarios hasta el estadio de folículos antrales; la tercera etapa implica el completo crecimiento ovocitario para luego, en una cuarta etapa, madurarlos *in vitro* (Figura 4)<sup>32</sup>.

La primera etapa del cultivo es una de las más complejas para realizar con éxito. Los folículos primordiales de reserva presentes en los fragmentos de corteza ovárica están en un estado quiescente y necesitan iniciar un proceso de activación que les permita su crecimiento. Este proceso es muy poco conocido en los seres humanos y es un evento clave para desarrollar un sistema óptimo de crecimiento folicular *in vitro*. Una de las vías de señalización involucradas en este proceso es la del fosfatidilinositol-3'-quinasa (PI3K-AKT), estudiada en modelos de ratones *knockout*<sup>33</sup> y en corteza ovárica humana cultivada *in vitro*<sup>34-36</sup>. Varios factores de crecimiento, incluida la FSH (*follicle stimulating hormone*), estimulan a PI3K para activar una PDK1 (*phosphoinositide-dependent*



**Figura 4.** Representación esquemática del sistema de cultivo *in vitro* en múltiples etapas de los folículos ováricos. **a)** Etapa 1. Activación *in vitro* de los folículos primordiales presentes en la corteza ovárica y posterior microdissección de los folículos multilaminares. **b)** y **c)** Etapa 2. Cultivo individual de folículos multilaminares hasta el estadio de folículo antral. **d)** y **e)** Etapa 3. Aislamiento de los complejos oocito-cumulus oophorus. Etapa 4. Maduración de los ovocitos *in vitro* para la subsecuente fecundación.

Reproducida con autorización de Telfer E, 2019.

*protein kinase-1*) que fosforila a Akt y a factores de transcripción corriente abajo, incluidos FOXO1 (*forkhead winged helix box O1*) y FOXO3 (*forkhead winged helix box O3*), que provocarán la activación folicular y su crecimiento<sup>37,38</sup>. Por otro lado, se ha observado que la delección del gen *PTEN* (*phosphatase and tensin homolog*) estimula el crecimiento de folículos primordiales en animales neonatales y adultos<sup>39-41</sup>. Este gen codifica una fosfatasa que regula negativamente la vía de señalización PI3K-AKT. La delección de *PTEN* incrementa la fosforilación de AKT y la exportación nuclear del factor de transcripción FOXO3 (*forkhead box O3*)<sup>39,42,43</sup>. Además, se observó que los efectos de *PTEN* pueden ser reversiblemente inhibidos por derivados del vanadato que actúan como proteínas inhibidoras de tirosina-fosfatasas y, de este modo, promover la fosforilación corriente abajo de AKT y estimular la activación y el crecimiento *in vitro* de los folículos primordiales<sup>34,44-46</sup>.

Sin embargo, la información sobre la expresión de *PTEN* y FOXO3 en ovarios humanos es muy escasa. Un trabajo recientemente publicado por nuestro grupo de investigación<sup>47</sup>, en el que se analizan *PTEN* y FOXO3 en ovarios fetales, infantojuveniles y adultos humanos sugiere la presencia, en el período posnatal, de dos poblaciones de folículos primordiales: una que expresa FOXO3 nuclear y otra que no. Esto podría estar evitando la activación folicular al igual que lo observado en los ratones. Sin embargo, a diferencia de lo que ocurre en el ratón, no sería un mecanismo de “todo o nada”, sino que más bien afectaría a una determinada población de folículos primordiales para garantizar la fertilidad a largo plazo.

Otro componente involucrado en la regulación de la vía PI3K-AKT es mTORC1 (*mammalian target of rapamycin complex 1*), una serina/treoninaquinasa que regula el crecimiento y la proliferación celular en respuesta a factores del crecimiento y nutrientes, y que también regula la activación de los folículos primordiales<sup>48</sup>. Los modelos de ratones *knockout* para mTORC1 muestran un aumento de su activación<sup>34,36,49</sup>.

Por lo mencionado, es de suma importancia conocer cómo funciona la activación de los folículos primordiales para poder crear un sistema de cultivo *in vitro* eficaz y obtener la máxima cantidad de ovocitos aptos para su posterior fecundación.

## CONCLUSIONES

En los últimos años, debido a la mejora en los tratamientos antitumorales e, incluso, a la nueva

medicina personalizada, que conllevó un auge de la farmacogenética, la tasa de supervivencia de los pacientes con cáncer se ha incrementado de manera notable y ha obligado a pensar en la calidad de vida de los sobrevivientes. Esto ha conducido a que el asesoramiento sobre preservación de la fertilidad de las pacientes oncológicas antes de realizar un tratamiento sea fundamental y hasta que se juzgue una negligencia médica no hacerlo, a la luz de los resultados de los últimos 20 años.

Si bien, a pesar de la evidencia acumulada y la tasa de embarazos informados, la criopreservación del tejido ovárico se considera una técnica experimental, es la única opción disponible en pacientes prepúberes y adolescentes con cáncer.

En vista de los resultados publicados hasta la fecha, es muy importante que se establezcan equipos de atención multidisciplinarios que puedan brindarle a la paciente no solo un adecuado tratamiento de la patología en cuestión, sino también asesoramiento psicológico y las herramientas disponibles para preservar su fertilidad futura.

## REFERENCIAS

1. Koyama H, Wada T, Nishizawa Y, Iwanaga T, Aoki Y. Cyclophosphamide-induced ovarian failure and its therapeutic significance in patients with breast cancer. *Cancer* 1977;39:1403-9.
2. Schover L, Rybicki L, Martin B, Bringelsen K. Having children after cancer. A pilot survey of survivors' attitudes and experiences. *Cancer* 1999;86(4):697-9.
3. Carvalho BR, Kliemchen J, Woodruff TK. Ethical, moral and other aspects related to fertility preservation in cancer patients. *JBRA Assist Reprod* 2017;21:45-8.
4. Ethics Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Fertility preservation and reproduction in patients facing gonadotoxic therapies: an Ethics Committee opinion. *Fertil Steril* 2018;110(3):380-6.
5. Donnez J, Dolmans MM, Demylle D, Jadoul P, Pirard C, Squifflet J, et al. Livebirth after orthotopic transplantation of cryopreserved ovarian tissue. *Lancet* 2004;363:1405-10.
6. Donnez J, Dolmans MM. Fertility preservation in women. *N Engl J Med* 2017;377:1657-65.
7. Donnez J, Dolmans MM, Diaz C, Pellicer A. Ovarian cortex transplantation: time to move on from experimental studies to open clinical application. *Fertil Steril* 2015;104:1097-8.
8. Meirou D, Ra'anani H, Shapira M, Brenghausen M, Derech Chaim S, Aviel-Ronen S, et al. Transplantations of frozen thawed ovarian tissue demonstrate high reproductive performance and the need to revise restrictive criteria. *Fertil Steril* 2016;106:467-74.
9. Gellert SE, Pors SE, Kristensen SG, Bay-Bjørn AM, Ernst E, Andersen CY. Transplantation of frozen-thawed ovarian tissue: an update on worldwide activity published in peer-reviewed papers and on the Danish cohort. *J Assist Reprod Genet* 2018;35:561-70.
10. Jensen AK, Rechnitzer C, Macklon KT, Ifversen MR, Birkebaek N, Clausen N, et al. Cryopreservation of ovarian tissue for fertility preservation in a large cohort of young girls: focus on pubertal development. *Hum Reprod* 2017;32:154-64.
11. Mody R, Li S, Dover DC, Sallan S, Leisenring W, Oeffinger KC, et al. Twenty-five-year follow-up among survivors of childhood acu-

- te lymphoblastic leukemia: a report from the Childhood Cancer Survivor Study. *Blood* 2008;11:5515-23.
12. Von der Weid NX. Adult life after surviving lymphoma in childhood. *Support Care Cancer* 2008;16:339-45.
  13. Balcerek M, Schilling R, Byrne J, Dirksen U, Cario H, Fernández-González MJ, et al. Determinants of utilization of cryopreservation of germ cells in adolescent cancer patients in four European countries. *Eur J Pediatr* 2019;179:51-60.
  14. Wang X, Chen H, Yin H, Kim SS, Lin Tan S, Gosden RG. Fertility after intact ovary transplantation. *Nature* 2002;415(6870):385.
  15. Bedaiwy MA, Jeremias E, Gurunluoglu R, et al. Restoration of ovarian function after autotransplantation of intact frozen-thawed sheep ovaries with microvascular anastomosis. *Fertil Steril* 2003;79(3):594-602.
  16. Imhof M, Bergmeister H, Lipovac M, Rudas M, Hofstetter G, Huber J. Orthotopic microvascular reanastomosis of whole cryopreserved ovine ovaries resulting in pregnancy and live birth. *Fertil Steril* 2006;85(suppl 1):1208-15.
  17. Shi Q, Xie Y, Wang Y, Li S. Vitrification versus slow freezing for human ovarian tissue cryopreservation: a systematic review and meta-analysis. *Sci Rep* 2017;7(1):8538.
  18. Albamonte MI, Albamonte MS, Bou-Khair RM, Zuccardi L, Vitullo AD. The ovarian germinal reserve and apoptosis-related proteins in the infant and adolescent human ovary. *J Ovarian Res* 2019;12:22.
  19. Forabosco A, Sforza C, De Pol A, Vizzotto L, Marzona L, Ferrario F. Morphometric study of human neonatal ovary. *Anat Rec* 1991;231:201-8.
  20. Sforza C, Ferrario VF, De Pol A, Marzona L, Forni M, Forabosco A. Morphometric study of the human ovary during compartmentalization. *Anat Rec* 1993;236:626-34.
  21. Albamonte MI, Albamonte MS, Stella I, Zuccardi L, Vitullo AD. The infant and pubertal human ovary: Balbiani's body associated VASA expression, immunohistochemical detection of apoptosis-related BCL2 and BAX proteins, and DNA fragmentation. *Hum Reprod* 2013;28:698-706.
  22. Albamonte MS, Albamonte MI, Vitullo AD. Germ line apoptosis in the mature human ovary. *J Med Res Sci* 2012;2:136-45.
  23. Hileman EO, Liu J, Albitar M, Keating MJ, Huang P. Intrinsic oxidative stress in cancer cells: a biochemical basis for therapeutic selectivity. *Cancer Chemother Pharmacol* 2004;53:209-19.
  24. Sharma A, Tripathi M, Satyam A, Kumar L. Study of antioxidant levels in patients with multiple myeloma. *Leuk Lymphoma* 2009;50:809-15.
  25. Hovatta O. Methods for cryopreservation of human ovarian tissue. *Reprod Biomed Online* 2005;10:729-34.
  26. Dolmans MM, Marinescu C, Saussoy P, et al. Reimplantation of cryopreserved ovarian tissue from patients with acute lymphoblastic leukemia is potentially unsafe. *Blood* 2010;116:2908-14.
  27. Oktay K, Buyuk E. Ovarian transplantation in humans: indications, techniques and the risk of reseeded cancer. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2004;(1):45-7.
  28. Young G, Toretsky JA, Campbell AB, et al. Recognition of common childhood malignancies. *Am Fam Physician* 2000;61:2144-54.
  29. Telfer EE, McLaughlin M, Ding C, Thong KJ. A two-step serum-free culture system supports development of human oocytes from primordial follicles in the presence of activin. *Hum Reprod* 2008;23:1151-8.
  30. McLaughlin M, Albertini DF, Wallace WHB, Anderson RA, Telfer EE. Metaphase II oocytes from human unilaminar follicles grown in a multi-step culture system. *Mol Hum Reprod* 2018;24:135-42.
  31. Smits J, Dolmans MM, Donnez J, et al. Current achievements and future research directions in ovarian tissue culture, in vitro follicle development and transplantation: implications for fertility preservation. *Hum Reprod Update* 2010;16:395-414.
  32. Anderson RA, McLaughlin M, Wallace WH, Albertini DF, Telfer EE. The immature human ovary shows loss of abnormal follicles and increasing follicle developmental competence through childhood and adolescence. *Hum Reprod* 2014;29:97-106.
  33. Reddy P, Liu L, Adhikari D, et al. Oocyte-specific deletion of Pten causes premature activation of the primordial follicle pool. *Science* 2008;319:611-3.
  34. McLaughlin M, Kinnell HL, Anderson RA, Telfer EE. Inhibition of phosphatase and tensin homologue (PTEN) in human ovary in vitro results in increased activation of primordial follicles but compromises development of growing follicles. *Mol Hum Reprod* 2014;20:736-44.
  35. Li J, Kawamura K, Cheng Y, et al. Activation of dormant ovarian follicles to generate mature eggs. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010;107:10280-4.
  36. Grosbois J, Demeestere I. Dynamics of PI3K and Hippo signaling pathways during in vitro human follicle activation. *Hum Reprod* 2018;33:1705-14.
  37. Gonzalez-Robayna IJ, Falender AE, et al. Follicle-Stimulating Hormone (FSH) stimulates phosphorylation and activation of protein kinase B (PKB/Akt) and serum and glucocorticoid induced kinase (Sgk): evidence for A kinase independent signaling by FSH in granulosa cells. *Mol Endocrinol* 2000;14:1283-300.
  38. Alum H, Maizels ET, Park Y, et al. Follicle-stimulating hormone activation of hypoxia-inducible factor-1 by the Phosphatidylinositol 3-kinase/Akt/Ras homolog enriched in brain (Rheb/mammalian target of rapamycin (mTOR) pathway is necessary for induction of select protein markers of follicular differentiation. *J Biol Chem* 2004;279:19431-40.
  39. Adhikari D, Liu K. Molecular mechanisms underlying the activation of mammalian primordial follicles. *Endocr Rev* 2009;30:438-64.
  40. John GB, Gallardo TD, Shirley LJ, et al. Foxo3 is a PI3K-dependent molecular switch controlling the initiation of oocyte growth. *Dev Biol* 2008;321:197-204.
  41. Reddy P, Liu L, Adhikari D, et al. Oocyte-specific deletion of Pten causes premature activation of the primordial follicle pool. *Science* 2008;319:611-3.
  42. Herraiz S, Novella-Maestre E, Rodriguez B, et al. Improving ovarian tissue cryopreservation for oncologic patients: slow freezing versus vitrification, effect of different procedures and devices. *Fertil Steril* 2014;101:775-84.
  43. Sanchez-Serrano M, Crespo J, Mirabet V, et al. Twins born after transplantation of ovarian cortical tissue and oocyte vitrification. *Fertil Steril* 2010;93:268 e211-263.
  44. Schmid AC, Byrne RD, Vilar R, et al. Bisperoxovanadium compounds are potent PTEN inhibitors. *FEBS Lett* 2004;566:35-8.
  45. Morohaku K, Hoshino Y, Sasada H, et al. Incorporation of phosphatase inhibitor in culture promotes growth initiation of isolated non-growing oocytes. *PLoS One* 2013;8:e77533.
  46. Novella-Maestre E, Herraiz S, Rodriguez-Iglesias B, et al. Short-term PTEN inhibition improves in vitro activation of primordial follicles, preserves follicular viability, and restores AMH levels in cryopreserved ovarian tissue from cancer patients. *PLoS One* 2015;10(5):e0127786.
  47. Albamonte MI, Calabró LY, Albamonte MS, Zuccardi L, Stella I, Halperin J, et al. *PTEN* and *FOXO3* expression in the prenatal and postnatal human ovary. *J Assisted Reprod Genet* 2020. doi.org/10.1007/s10815-020-01790-x.
  48. Adhikari D, Liu K. mTOR signaling in the control of activation of primordial follicles. *Cell Cycle* 2010;9:1673-4.
  49. McLaughlin M, Patrizio P, Kayisli U, et al. mTOR kinase inhibition results in oocyte loss characterized by empty follicles in human ovarian cortical strips cultured in vitro. *Fertil Steril* 2011;96:1154-9.e1.

# Señales de transducción y mecanismos moleculares involucrados en la regulación de la proliferación de la célula de Sertoli

## Signal transduction pathways and molecular mechanisms involved in the regulation of Sertoli cell proliferation

Cecilia L. Centola, Gustavo M. Rindone, Agostina Gorga, Eliana H. Pellizzari, Selva B. Cigorraga, María F. Riera, Silvina B. Meroni, María N. Galardo

Centro de Investigaciones Endocrinológicas Dr. César Bergadá (CEDIE)-CONICET/FEI/División de Endocrinología, Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

Contacto de la autora: María N. Galardo

E-mail: mngalardo@cedie.org.ar

Correspondencia: Gallo 1330, C1425 CABA

Recibido: 15/4/2020

Aceptado: 16/6/2020

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

### RESUMEN

Las células de Sertoli son células somáticas presentes en los túbulos seminíferos que cumplen funciones esenciales en la regulación de la espermatogénesis. Teniendo en cuenta que cada célula de Sertoli es capaz de sustentar un número limitado de células germinales, el número final de células de Sertoli alcanzado durante el período proliferativo determina la capacidad de producción de esperma. Solo proliferan las células de Sertoli inmaduras mientras no hayan establecido el complejo de uniones intercelulares que conforman la barrera hematotesticular. El cese de la proliferación es un prerrequisito para la maduración de las células de Sertoli acompañado del establecimiento de la barrera hematotesticular. Esta revisión se centra en las hormonas, los factores producidos localmente, las vías de transducción de señales y los mecanismos moleculares que controlan la proliferación y maduración de las células de Sertoli. La comprensión de cómo se establece el número final de células de Sertoli en la edad adulta constituye un requisito previo para comprender las causas subyacentes responsables de la disminución progresiva en la producción de esperma observada durante los últimos 50 años en los seres humanos.

**Palabras clave:** célula de Sertoli, proliferación, maduración, señales de transducción.

### ABSTRACT

*Sertoli cells are somatic cells present in seminiferous tubules which have essential roles in regulating spermatogenesis. Considering that each Sertoli cell is able to support a limited number of germ cells, the final number of Sertoli cells reached during the proliferative period determines sperm production capacity. Only immature Sertoli cells, which have not established the blood-testis barrier, proliferate. Cessation of proliferation is a prerequisite to Sertoli cells maturation accompanied by the establishment of the blood-testis barrier. This review focuses on the hormones, locally produced factors, signal transduction pathways, and molecular mechanisms controlling Sertoli cells proliferation and maturation. The comprehension of how the final number of Sertoli cells in adulthood is established constitutes a pre-requisite to understand the underlying causes responsible for the progressive decrease in sperm production that has been observed during the last 50 years in humans.*

**Key words:** Sertoli cell, proliferation, maturation, signal transduction.

Revista de la Sociedad Argentina de Endocrinología Ginecológica y Reproductiva 2020; Vol. XXVII N° 1 Suplemento 1 Enero - junio de

Revista de la Sociedad Argentina de Endocrinología Ginecológica y Reproductiva 2020; Vol. XXVII N° 1 Suplemento 1 Enero - junio de

### INTRODUCCIÓN

Las células de Sertoli representan uno de los tipos celulares más complejos del organismo. La principal función de este tipo celular es proveer soporte físico y nutricional a las células germinales en desarrollo. Considerando que cada célula de Sertoli es capaz de sustentar un número limitado de células germinales, el número final de células de Sertoli alcanzado durante el período proliferati-

vo determinará la capacidad espermatogénica del individuo adulto<sup>1</sup>.

Solo las células de Sertoli inmaduras son capaces de proliferar y se considera que la proliferación cesa en la pubertad en la mayoría de las especies<sup>2</sup>. Así, la regulación de la proliferación de la célula de Sertoli –determinando el número final de células– y el cese de la proliferación simultáneo

a la maduración constituyen la base de la función testicular en el individuo adulto.

La hormona foliculoestimulante (FSH) y los andrógenos regulan tanto la proliferación como la maduración funcional de este tipo celular. Además de estas hormonas, un gran número de factores participan en la regulación fina de la célula de Sertoli<sup>3</sup>.

A partir de estudios iniciales llevados a cabo desde la década de 1970 y que establecieron los conceptos básicos en lo que respecta a la proliferación de la célula de Sertoli, se sucedieron importantes investigaciones cuyo objetivo era comprender los mecanismos moleculares subyacentes a la regulación del ciclo celular en este tipo celular.

En la presente revisión se intentan describir los mecanismos moleculares implicados en la regulación de la proliferación y el cese de esta simultáneo a la maduración.

## PRINCIPALES FACTORES IMPLICADOS EN LA ESTIMULACIÓN DE LA PROLIFERACIÓN DE LA CÉLULA DE SERTOLI

Las hormonas y los factores producidos localmente –al igual que las vías de señalización y los mecanismos moleculares involucrados en la estimulación de la proliferación de la célula de Sertoli– son cruciales para determinar la producción de espermatozoides en los animales adultos. Los conocimientos actuales sobre la función que desempeñan la FSH, los factores de crecimiento de la familia de la insulina y las activinas en la proliferación de la célula de Sertoli se resumirán en las siguientes secciones.

### Hormona foliculoestimulante

Los efectos de esta hormona son mediados por su asociación al receptor (FSHR), una proteína transmembrana de siete dominios, perteneciente a la superfamilia de receptores acoplados a la proteína G (GPCR). Está ampliamente aceptado que, en los machos, FSHR se expresa exclusivamente en las células de Sertoli durante la vida fetal y a lo largo de la vida posnatal<sup>4</sup>. Sin embargo, la respuesta a FSH varía según el estado de maduración en el que se encuentre la célula de Sertoli<sup>2</sup>. La FSH regula la proliferación de la célula de Sertoli solo durante los períodos fetal y posnatal, mientras que regula la maduración luego del cese de la mitosis en la pubertad. La primera demostración del papel estimulador de la

FSH sobre la proliferación de la célula de Sertoli proviene de estudios realizados por Griswold et al.<sup>5</sup>. Posteriormente, durante las últimas décadas numerosos estudios determinaron la relevancia de FSH en la regulación de la proliferación de la célula de Sertoli<sup>6-9</sup>.

Una vez que el papel mitótico de la FSH quedó demostrado de manera convincente, los estudios posteriores se centraron en dilucidar las vías de transducción de señales involucradas en la regulación de la proliferación de la célula de Sertoli desencadenadas por la hormona. Por más de 20 años, ha sido ampliamente aceptado que la vía de señalización Gs/adenosina monofosfato cíclico (AMPC)/quinasa dependiente de AMPC (PKA) era el único mecanismo que contribuía a la acción de la FSH<sup>10</sup>. El aumento de la incorporación de [<sup>3</sup>H]-timidina en células de Sertoli inmaduras incubadas en presencia de dibutilil-AMPC (dbAMPC)<sup>5,6</sup> fue la primera evidencia de la participación de una vía dependiente de AMPC en la regulación de la proliferación de la célula de Sertoli. Hoy se sabe que las acciones biológicas de FSH se acompañan de la activación de una compleja red de señalización celular. Crepieux et al.<sup>11</sup> demostraron que la FSH incrementa la proliferación de células de Sertoli inmaduras a través de la regulación de la vía de las proteínas quinasas activadas por señales extracelulares 1 y 2 (ERK1/2) de forma PKA y Src dependiente, dirigiendo la progresión del ciclo celular a través de la inducción de ciclina D1. La complejidad de la red de señalización desencadenada por FSHR se ve también reflejada en la activación de fosfatidil-inositol-3 quinasa (PI3K)/Akt/p70S6 quinasa (p70S6K) por la FSH en células de Sertoli proliferativas<sup>12</sup>. Más recientemente, Riera et al.<sup>13</sup> demostraron que la FSH regula la proliferación a través de la vía *PI3K/Akt/mammalian target of rapamycin complex 1* (mTORC1).

La compleja señalización de FSH es responsable de la inducción/represión de diversos genes a través de la activación de factores de transcripción en las células de Sertoli. Además de modular la actividad transcripcional de la proteína de unión al elemento de respuesta a AMPC (CREB), FSH también modula la de: NFκB, AP1, c-Myc, el factor inducible por hipoxia (HIF)1 y HIF2; sin embargo, hasta el momento solo se ha demostrado que c-Myc y HIF2 estarían implicados en la regulación de la proliferación de la célula de Sertoli por FSH<sup>13-15</sup>.

En resumen, la FSH regula positivamente la proliferación de las células de Sertoli a través de la activación de las vías dependientes de AMPc/PKA/ERK1/2 y PI3K/Akt/mTORC1 y por el aumento de la actividad transcripcional de c-Myc y HIF2 y la expresión de ciclina D1. Sumada a esta complejidad, se debe tener en cuenta la acción de factores autocrinos sobre la regulación de la proliferación de células de Sertoli cuya secreción es regulada por FSH.

### Factores de crecimiento de la familia de la insulina

Los factores de crecimiento de la familia de la insulina –insulina, el factor de crecimiento similar a la insulina 1 (IGF-1) y 2 (IGF-2) y la relaxina– son pequeños polipéptidos responsables del control de crecimiento y de las funciones metabólicas y reproductivas. IGF-1 y IGF-2 se expresan de forma ubicua, a diferencia de la insulina, la cual se expresa exclusivamente en las células  $\beta$  de los islotes de Langerhans del páncreas. Los efectos fisiológicos de estos péptidos son mediados por la activación de receptores tirosina-quinasa: el receptor de insulina (InsR) y el receptor de IGF-1 (IGF-1R).

Las funciones cruciales de la insulina e IGF-1 en el desarrollo testicular han sido más extensamente estudiadas. Se ha demostrado que células de Sertoli aisladas de testículos de embriones y ratones neonatales expresan IGF-1 e IGF-1R y que el tratamiento con IGF-1 promueve la progresión del ciclo celular y la proliferación<sup>16</sup>. En cuanto al papel de la insulina, esta hormona también promueve la proliferación; sin embargo, dado que se requirió una mayor concentración de insulina que de IGF-1 para obtener la respuesta biológica, se sugirió que la insulina actuó a través de los receptores de IGF-1<sup>17</sup>.

En relación con la vía de transducción de señales desencadenada por el sistema insulina/IGF-1 en células de Sertoli, es ampliamente aceptado que activan las vías de señalización de PI3K/Akt y ERK1/2 a través de distintas isoformas del sustrato del receptor de insulina (IRS). La reducción del peso testicular y del número final de células de Sertoli, espermatogonias, espermátocitos, espermátidas elongadas y espermatozoides observada en ratones adultos nulos para *Irs2*, pero no en ratones nulos para *Irs1*<sup>18</sup>, permitió asumir que IGF-1 desempeña un papel crítico en el desarrollo testicular a través de *Irs2*. La participación de la vía ERK1/2 en la regulación de la proliferación de la célula de Sertoli

por IGF-1 ha sido puesta en evidencia a través de la utilización de inhibidores específicos de la vía en cultivos de células de Sertoli embrionarias<sup>16</sup>. Cabe aclarar en este punto que se ha propuesto a IGF-1 como mediador de la acción FSH en células de Sertoli inmaduras. Los primeros estudios en la regulación del sistema IGF-1 por FSH demostraron que la gonadotropina estimula la secreción de IGF-1 e inhibe la de la proteína de unión a IGF (IGFBP) 3 en células de Sertoli<sup>19,20</sup>. Además, se ha demostrado que el aumento del tamaño testicular y el recuento de espermatozoides del epidídimo en ratones hemicastrados durante el período neonatal no se observan en ratones hemicastrados nulos selectivos en células de Sertoli para *Insr;Igf1r* y este no se recupera al tratar con FSH<sup>21</sup>. Por lo que se estima que FSH requiere la vía insulina/IGF-1 para mediar su efecto proliferativo en células de Sertoli inmaduras. Sin embargo, hay que considerar que en los ratones nulos para *Insr;Igf1r* selectivos para células de Sertoli se observó una disminución en la expresión de FSHR y Akt. Por consiguiente, la incapacidad de las células de Sertoli de proliferar luego de la hemicastración o del tratamiento con FSH podría ser explicada por una reducción en la señalización de la hormona. En resumen, se puede concluir que los efectos de la FSH en células de Sertoli inmaduras pueden ser mediados, al menos en parte, por IGF-1 y que la producción local de IGF-1 es un componente importante de la red intratesticular involucrada en la regulación del número de células de Sertoli, el tamaño testicular y la producción de espermatozoides en el adulto.

La relaxina es otro miembro de la familia de péptidos relacionada con la insulina. Para ejercer su efecto biológico se une a receptores de péptidos de la familia de la relaxina (RXFP 1 y 2) pertenecientes a la superfamilia GPCR<sup>22</sup>. Tanto la relaxina como RXFP1 se expresan en mayor cantidad en células de Sertoli inmaduras, lo que sugiere que tienen un rol importante en los períodos tempranos de la vida<sup>23</sup>. La relaxina incrementa la incorporación de [<sup>3</sup>H]-timidina y los niveles del antígeno nuclear de proliferación (PCNA) en cultivos de células de Sertoli. La proliferación de la célula de Sertoli inducida por relaxina involucra la activación de la proteína Gi y de las vías ERK1/2 y PI3K/Akt<sup>24</sup>. Más recientemente se demostró la existencia de un *crosstalk* entre FSH y relaxina al final de la etapa proliferativa de las células de Sertoli en ratas, y los autores postularon que mientras que la acción de FSH parece

ser esencial para dirigir la maduración celular, la relaxina parecería promover preferentemente la proliferación de la célula de Sertoli<sup>25</sup>.

## Activinas e inhibinas

Los péptidos gonadales activinas e inhibinas pertenecen a la superfamilia  $\beta$  de los factores de crecimiento transformantes (TGF). Las activinas son homodímeros de dos subunidades  $\beta$  de inhibina codificadas por cinco genes designados de *Inbba* a *Inbbe*<sup>26</sup>. Las activinas más estudiadas son la activina A ( $\beta\beta\beta$ ) y la activina B ( $\beta\beta\beta\beta$ ). Por otro lado, las inhibinas son heterodímeros conformados por una subunidad  $\beta$ - $\beta$ A o  $\beta$ B- y una subunidad  $\alpha$ , codificada por el gen *Inba*, llamadas inhibina A ( $\alpha\beta$ A) e inhibina B ( $\alpha\beta$ B) respectivamente<sup>26</sup>.

Toda información relacionada con la regulación de la función de la célula de Sertoli por parte de la activina fue obtenida utilizando activina A. La activina A se expresa en los testículos durante los períodos fetal y posnatal<sup>27-29</sup>. Mientras que en los testículos fetales las células de Leydig son la fuente principal de activina A<sup>30</sup>, en los testículos neonatales lo son las células mioideas peritubulares<sup>29</sup>. Barakat et al.<sup>31</sup> demostraron que la concentración testicular de activina A es alta durante el período de proliferación de la célula de Sertoli y luego disminuye hasta alcanzar un valor bajo que se mantiene constante hasta la adultez.

La acción de activina A está mediada por su interacción con la subunidad de tipo II del receptor específico, ActRIIa o ActRIIb, que provoca que esa subunidad fosforile la subunidad de tipo I, ActRIb (ALK4). La subunidad de tipo I fosforilada recluta y fosforila a SMAD2 y/o SMAD3, también llamadas SMAD regulatorias. Las SMAD regulatorias fosforiladas se disocian del receptor y se oligomerizan con SMAD4. Este oligómero se transloca al núcleo y afecta la transcripción de genes específicos. Cabe mencionar que las células de Sertoli mitóticamente activas expresan las subunidades de tipo I y tipo II del receptor de activina<sup>32</sup>.

La importancia de la activina A en la regulación de la proliferación de la célula de Sertoli quedó puesta en evidencia al utilizar ratones nulos para *Inbba* selectivos para células de Leydig. Los resultados obtenidos permitieron postular que la activina A producida por las células de Leydig es el principal regulador paracrino de la mitosis de las células de Sertoli fetales<sup>30</sup>. A su vez, se observó que ratones que poseen una delección en *ActRIa* o una mutación que lleva a la anulación

de la transducción de la señal de ALK4/5/7 tienen menor tamaño testicular y un número reducido de células de Sertoli<sup>33,34</sup>. Estos resultados destacaron la importancia fisiológica de este péptido en la mitosis de la célula de Sertoli fetal.

Como ya se mencionó, la producción de activina A decrece con la edad del animal. La caída más marcada ocurre en la pubertad en el momento en que las células de Sertoli maduran y dejan de proliferar<sup>31</sup>. Aunque la producción de activina A decrece, esta molécula no desaparece por completo en el individuo adulto, por lo que se ha indagado sobre el posible papel del péptido en células de Sertoli maduras. En este contexto, Nicholls et al.<sup>35</sup> demostraron, tanto *in vitro* como *in vivo*, que la activina A disrumpe la barrera hematotesticular e induce la expresión de marcadores de inmadurez en las células de Sertoli maduras. Los autores concluyeron que la disminución de la concentración de activina A durante el desarrollo testicular es fisiológicamente relevante y podría ser importante para la correcta función de la célula de Sertoli y para la fertilidad.

Los estudios llevados a cabo en cuanto al papel de la activina B en la regulación de la proliferación de la célula de Sertoli sugieren que este péptido no está involucrado<sup>36</sup>. Sin embargo, serán necesarios más análisis para determinar si la activina B tiene alguna función en el desarrollo testicular.

En relación con las inhibinas, se demostró que la inhibina B es la principal inhibina circulante en machos y es producida en su mayoría por las células de Sertoli<sup>31</sup>. Un ratón con una delección de *Inba* posee un desarrollo normal del testículo durante la embriogénesis, pero desarrolla tumores testiculares hacia el día 30 de edad<sup>37</sup>, por lo que se postuló que la inhibina B ejerce una inhibición de la proliferación de la célula de Sertoli. Años después se comprobó que ratones nulos para *Inba*, que no producen inhibina B, tienen una sobreproducción de activina A, lo cual podría explicar el desarrollo de tumores<sup>38</sup>. En conjunto, esta evidencia sugiere que en la adultez la inhibina B no posee un rol en sí misma, pero tiene un papel en la modulación de la proliferación de la célula de Sertoli inducida por activina A.

En resumen, la activina A estimula la proliferación de la célula de Sertoli durante los períodos fetal y posnatal. Los niveles incrementados de inhibina B en la pubertad podrían contrarrestar los efectos de la activina A.

## PRINCIPALES FACTORES INVOLUCRADOS EN EL CESE DE LA PROLIFERACIÓN Y LA MADURACIÓN DE LA CÉLULA DE SERTOLI

El cese de la proliferación de la célula de Sertoli está acompañado por un proceso de maduración, que consiste en cambios profundos en la expresión de genes, el establecimiento de la barrera hematotesticular y la adquisición de la capacidad completa para sustentar el desarrollo de las células germinales. Por lo tanto, el análisis de las hormonas y de los factores producidos de manera local, así como el análisis de las vías de señalización y los mecanismos moleculares implicados en el arresto del ciclo celular y la maduración de las células de Sertoli también son relevantes para entender las posibles alteraciones en la producción de esperma. Los conocimientos actuales sobre el papel de los andrógenos, las hormonas tiroideas, los estrógenos y el ácido retinoico en el cese de la proliferación y/o maduración se resumen en las siguientes secciones.

### Andrógenos

El papel de los andrógenos en la fertilidad masculina y en el mantenimiento de la espermatogénesis es bien conocido. Estos ejercen la mayoría de sus efectos a través de acciones genómicas, las cuales involucran su difusión a través de la membrana plasmática para unirse al receptor de andrógenos (AR). AR se expresa en los testículos de rata, en células de Sertoli, en células de Leydig y en las células mioideas peritubulares. Específicamente, en las células de Sertoli su expresión varía a lo largo del desarrollo: no se expresa en estadios fetales y luego va aumentando gradualmente durante el desarrollo posnatal<sup>39</sup>.

A lo largo de los años se han llevado a cabo un gran número de estudios utilizando distintos enfoques a fin de dilucidar si los andrógenos participaban en la regulación de la proliferación de la célula de Sertoli; sin embargo, los resultados obtenidos no permitieron elaborar una conclusión convincente. Había que enfrentar el hecho de que durante el período proliferativo de las células de Sertoli la expresión del AR es muy débil en ese tipo celular, por lo que aquellas investigaciones que mostraban la ausencia de efectos de los andrógenos sobre la progresión del ciclo celular en células de Sertoli<sup>40</sup> eran bien aceptadas, pero eran de difícil interpretación aquellos estudios que afirmaban que los andrógenos ejercían un rol estimulador sobre la proliferación de las células

de Sertoli<sup>41,42</sup>. Recién cuando se desarrolló el ratón nulo para AR selectivo para células de Sertoli se logró entender casi en su totalidad el papel de los andrógenos al comparar el número de células de Sertoli de este modelo con el de los ratones nulos para AR. Mientras que el número de células de Sertoli en los ratones nulos para AR estaba disminuido, el número final de células de Sertoli permaneció inalterado en los ratones nulos para AR selectivos para células de Sertoli<sup>43</sup>. De manera concluyente, los animales nulos para AR selectivos para células de Sertoli permitieron demostrar que no se requiere la expresión de AR en las células de Sertoli para lograr un número de células de Sertoli normal. Los datos obtenidos del análisis de los ratones nulos para AR sugirieron que la expresión de AR en otros tipos celulares del testículo podría ser importante para el rol modulador de los andrógenos en la proliferación de la célula de Sertoli. Como las células mioideas peritubulares expresan AR fuertemente durante los períodos fetal y posnatal, y dado que existe evidencia suficiente de que las secreciones de las células mioideas peritubulares pueden modificar la función de la célula de Sertoli, se propuso que los andrógenos regulan la proliferación de la célula de Sertoli indirectamente a través de sus efectos sobre las células mioideas peritubulares. Esta hipótesis encuentra sustento en el hecho de que ratones transgénicos PTCM-*Ar<sup>r/y</sup>* exhiben menor peso testicular y conteo de esperma, que podría ser una consecuencia de una disminución en el número de células de Sertoli<sup>44</sup>. Teniendo en cuenta que la activina A producida por las células mioideas peritubulares estimula la proliferación de las células de Sertoli<sup>29</sup>, se ha propuesto que este péptido podría ser el factor paracrino involucrado en la acción indirecta de los andrógenos. El desarrollo de un modelo transgénico que expresa prematuramente el AR de manera específica en células de Sertoli permitió demostrar que los andrógenos inducen la maduración celular de forma directa. Además, una expresión prematura de AR en las células de Sertoli conlleva la reducción de la cantidad de células inmaduras disponibles para la expansión mitótica inducida por FSH y deriva en unas pocas células de Sertoli en la adultez<sup>45</sup>. De acuerdo con estos descubrimientos, Buzzard et al.<sup>46</sup> habían demostrado con anterioridad que la testosterona inhibe la proliferación de la célula de Sertoli de rata en cultivos primarios a través de la inducción de los inhibidores del ciclo celular p21Cip1 y p27Kip1.

Se debe considerar que la regulación por andrógenos de las funciones de la célula de Sertoli podría involucrar respuestas no clásicas. En una línea celular de células de Sertoli se describió la expresión de un transportador de zinc (ZRT-and Irt-like Protein -ZIP-9) que media la acción de los andrógenos. En esta línea celular ZIP9 participa en la regulación de la expresión de claudina 1 y 5 y el ensamblaje de uniones estrechas<sup>47</sup>. De este modo, debe considerarse la contribución de ZIP9 en la regulación mediada por andrógenos de la maduración de la célula de Sertoli.

En resumen, la regulación de la proliferación de la célula de Sertoli dependiente de andrógenos es un efecto indirecto ejercido probablemente a través de la secreción de un factor paracrino. Efectos directos de andrógenos en células de Sertoli parecerían estar relacionados con la maduración de este tipo celular. El mecanismo por el cual los andrógenos participan en la regulación de la función de la célula de Sertoli permanece aún sin dilucidar.

### Hormonas tiroideas

Las hormonas tiroideas  $T_3$  y  $T_4$  (TH) son reguladores críticos del crecimiento, el desarrollo y el metabolismo prácticamente en todos los tejidos. Las TH inician su respuesta biológica a través de vías genómicas clásicas uniéndose al receptor de TH (TRs) de los cuales se conocen hasta el momento cinco isoformas funcionales: TRa1, TRb1, TRb2, TRβ y p43, una forma truncada de TRa1 de expresión mitocondrial<sup>48,49</sup>. También se describieron efectos no genómicos de TH por activación de la integrina avb3, receptor de membrana plasmática<sup>50</sup>.

En particular en la célula de Sertoli no se ha encontrado expresión de la proteína TRb1 e, interesantemente, la expresión de TRa1 varía con la edad del animal: se expresa en el núcleo de las células de Sertoli proliferantes y su expresión disminuye al mismo tiempo que cesa la proliferación<sup>51</sup>. Por otro lado, se describieron sitios de alta afinidad para  $T_3$  en mitocondrias de células de Sertoli de rata<sup>52</sup>, lo que indica la presencia del receptor p43 en este tipo celular. Asimismo, se evidenciaron acciones de TH mediadas por la integrina avb3 en células de Sertoli<sup>53</sup>.

A partir del análisis de los efectos del hipotiroidismo y del hipertiroidismo en ratas neonatales, se esclareció el papel central de TH en la regulación de la función de la célula de Sertoli inmadura. Por un lado, se observó que el hipotiroidismo temprano causa un incremento en el tamaño testicular y un aumento en la producción de esperma diaria en ratas adultas<sup>54</sup>, lo que se correlaciona con un incremento en el número de células de Sertoli y con un atraso en su maduración. Por otro lado, los niveles neonatales altos de TH redujeron el período de proliferación de la célula de Sertoli, aceleraron la formación del lumen tubular y aumentaron la secreción de inhibina<sup>55</sup>. Estos resultados indicaron que, además de su rol en la detención de la proliferación, TH también promueve la maduración de la célula de Sertoli.

En estudios *in vitro* realizados en cultivos de células de Sertoli se observó que TH inhibió la mitosis de la célula de Sertoli estimulada por FSH<sup>56</sup> acompañándose de un aumento en la expresión de los inhibidores del ciclo celular p21Cip1 y p27Kip1<sup>46</sup>. Por otro lado, los tratamientos con TH estimularon la expresión de marcadores de maduración de las células de Sertoli como el AR<sup>57</sup> e inhibieron la expresión de marcadores de células de Sertoli inmaduras como la hormona antimülleriana (AMH)<sup>58</sup>. En conjunto, la evidencia indica que TH cumple un papel central en la transición del fenotipo inmaduro al funcionalmente maduro de la célula de Sertoli.

Los estudios en ratones nulos para *Trα* y *Trβ* permitieron determinar que TRa1, pero no TRβ, es el receptor mediante el cual TH promueve la maduración de la célula de Sertoli<sup>59</sup>. Esta conclusión fue luego confirmada por el análisis de un animal mutante específico para *Trα1* de las células de Sertoli, *Trα<sup>AM1</sup>-SC*<sup>60</sup>. Además, se demostró que los ratones nulos para p43 presentan un fenotipo testicular muy similar al observado en los ratones nulos para *Trα* y *Trα<sup>AM1</sup>-SC*, lo que sugiere que el receptor mitocondrial de p43 tiene un rol fisiológico en el desarrollo de la célula de Sertoli<sup>61</sup>.

En relación con los mecanismos moleculares involucrados en el cese de la proliferación de la célula de Sertoli por TH, el papel de la conexina 43 (Cx43), una proteína constitutiva de las uniones *gap* que participa en la formación de uniones estrechas, y el de p27Kip1 merecen especial atención. Con respecto a Cx43, se observó que el efecto inhibitorio de TH en la mitosis de la célula de Sertoli está asociado a un aumento en los niveles de Cx43<sup>62</sup>. De manera interesante, ratones nulos para *Cx43* específica para células de Sertoli mostraron una proliferación prolongada y una maduración retardada en las células de Sertoli en

la adultez<sup>63</sup>, por lo que a Cx43 se le asigna una función crucial en la capacidad de TH de promover la maduración de la célula de Sertoli. Con relación a p27Kip1, se demostró que la interrupción del ciclo celular inducido por TH es mediada por p27Kip1<sup>64</sup>. Otro mecanismo molecular que sustenta la capacidad de TH de promover el cese de la proliferación de la célula de Sertoli es aquel que involucra a c-Myc, activador de la expresión de la quinasa 4 dependiente de ciclina (CDK4). Utilizando animales nulos para *Trα1* específicos para células de Sertoli y nulos para *p43*, se observó una regulación positiva de CDK4 y c-Myc y se postuló que estas proteínas son los factores principales que controlan la proliferación de la célula de Sertoli<sup>60,61</sup>.

La participación de las vías de transducción de señales en los efectos de TH sobre células de Sertoli inmaduras fue analizada escasamente. En lo que a esto respecta, Sun et al.<sup>65</sup> postularon que los efectos de TH sobre la proliferación de la célula de Sertoli son dependientes de la inhibición de la vía PI3K/Akt y que este efecto está mediado por la integrina receptora de membrana celular avb3.

En resumen, los estudios realizados hasta ahora han demostrado que TH posee un rol central en el cese de la proliferación de la célula de Sertoli y que promueve la maduración de este tipo celular a través de los receptores de TRα1 y p43. Los mecanismos que participan en este proceso involucran la regulación de Cx43, c-Myc y p27Kip1.

## Estrógenos

Los estrógenos cumplen un papel importante en la regulación del desarrollo y la espermatogénesis del testículo. El 17β-estradiol (E2) es el estrógeno predominante y el más activo producido a partir de la testosterona por la enzima aromatasa citocromo P45019 A1, codificada por el gen *Cyp19a1*<sup>66</sup>. En el testículo, las células de Sertoli y las células de Leydig, espermatoцитos y espermátides expresan esa enzima<sup>67</sup>. Las células de Sertoli son la mayor fuente de estrógenos en ratas inmaduras, mientras que las células de Leydig son la mayor fuente en animales adultos<sup>67</sup>.

Las acciones genómicas de los estrógenos son mediadas por el receptor nuclear alfa (ERα o ESR1) o por el beta (ERβ o ESR2). Además de acciones genómicas, se describieron eventos de señalización rápida. Estos efectos rápidos pueden estar mediados por: a) ERα y ERβ localiza-

dos en la membrana plasmática o cerca de ella<sup>68</sup>, b) variantes truncadas de ERα llamadas ERα-46 o ERα-36<sup>69,70</sup> y/o c) un receptor de estrógenos acoplado a la proteína G (GPER o GPR30)<sup>71</sup>.

Tanto ERα como ERβ se expresan en el núcleo de células de Sertoli y células de Leydig<sup>72-74</sup>. Asimismo, se confirmó la presencia de GPER en células de Sertoli de ratas inmaduras<sup>75</sup>.

Una de las primeras aproximaciones para evaluar el efecto de los estrógenos en la proliferación de la célula de Sertoli consistió en la administración *in vivo* de estrógenos a ratas. Al respecto, los resultados obtenidos al tratar ratas neonatales con estrógenos, un inhibidor de aromatasa o un antagonista no específico de ER (ICI 182,780) sugirieron que la proliferación de la célula de Sertoli disminuye por activación de receptores de estrógenos<sup>76-78</sup>. Dado que ICI 182,780 es capaz de antagonizar el efecto tanto de ERα como de ERβ, los resultados obtenidos no distinguieron el tipo de receptor que estaba participando en el efecto biológico.

Con el fin de aclarar el papel de los estrógenos en el desarrollo testicular, se estudiaron diversos modelos de ratones nulos. Debido a que estos modelos no eran selectivos para células de Sertoli y tampoco a las acciones pleiotrópicas de los estrógenos, el fenotipo observado no pudo atribuirse directamente a las acciones directas de los estrógenos sobre la proliferación de la célula de Sertoli.

Los estudios en células de Sertoli aisladas utilizando agonistas y antagonistas específicos de ERα y ERβ permitieron dilucidar el complejo papel de los estrógenos en la proliferación<sup>74</sup>. Por un lado, se observó que los estrógenos modulan la proliferación de la célula de Sertoli por su interacción con ERα a través de la activación de NFκB de manera dependiente de PI3K y ERK1/2 y que esto está acompañado de la inducción de la ciclina D1. Por otro lado, se demostró que ERβ media la salida del ciclo celular y la diferenciación involucrando la activación de CREB de manera PI3K dependiente, lo que conduce a la expresión de marcadores de diferenciación celular de las células de Sertoli – p27Kip, GATA1 y DMRT1. Teniendo en cuenta que la expresión de ERα disminuye mientras que la de ERβ aumenta con la edad del animal, se ha postulado que la relación ERα/ERβ es relevante para determinar la finalización de la proliferación celular y el comienzo de la maduración celular.

Los estudios más recientes han mostrado que no solo los receptores clásicos están involucrados en la proliferación de la célula de Sertoli. Yang et al.<sup>79</sup> han demostrado que GPER desencadena la activación de la vía Src/PI3K/Akt que está involucrada en la proliferación de la célula de Sertoli inducida por E2 a través de la regulación de la expresión de la proteína 2 asociada a una quinaasa de fase S (Skp2).

En resumen, las investigaciones llevadas a cabo hasta ahora nos han permitido llegar a la conclusión de que los estrógenos aumentan la proliferación de la célula de Sertoli a través de ER $\alpha$  y GPER. Por otro lado, al final del estadio proliferativo los estrógenos promueven el cese de la proliferación y la maduración celular a través de ER $\beta$ .

### Ácido retinoico

Por décadas ha sido reconocido que la señalización a través de la vitamina A es esencial para la reproducción masculina. La forma biológicamente activa de la vitamina A es el ácido retinoico (RA), que incluye RA todo trans (atRA) y el 9-cis-RA (9-cRA). El atRA es producido en el testículo y se demostró que la síntesis de atRA aumenta aproximadamente cinco veces en el momento de la transición al fenotipo no proliferativo de la célula de Sertoli y que a partir de entonces se mantiene casi constante<sup>80</sup>.

Las acciones de RA son mediadas por receptores nucleares específicos, los llamados receptores de ácidos retinoicos (RAR), los cuales trabajan como factores de transcripción dependientes de ligando y forman heterodímeros con receptores de retinoides X (RXR). Existen tres subtipos importantes de ambos:  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ . Particularmente, se ha observado que las células de Sertoli de roedor mitóticamente activas expresan RAR $\alpha$  y  $\beta$  y RXR $\alpha$  y  $\gamma$ <sup>81</sup>.

La regulación de la mitosis de la célula de Sertoli por atRA fue evaluada en estudios *in vitro*. Se demostró que atRA inhibe la proliferación estimulada por FSH en cultivos de células de Sertoli inmaduras acompañándose de un incremento en la expresión de p21Cip1 y p27Kip1<sup>46</sup>. Además, se evidenció que atRA inhibe la proliferación de la célula de Sertoli estimulada por activina A a través de una disminución de la expresión de ciclina E1 y un incremento en los niveles del inhibidor del ciclo celular p15INK4; a su vez, se acompaña de un aumento en la resistencia eléctrica transepitelial (TER), una medida de la integridad de las uniones estrechas, en conjunto con una re-

localización de las proteínas claudina 11 y Tjp1 en la membrana plasmática<sup>82</sup>. En conjunto, estas observaciones son consistentes con los roles anti-proliferativo e inductor de maduración de RA en células de Sertoli.

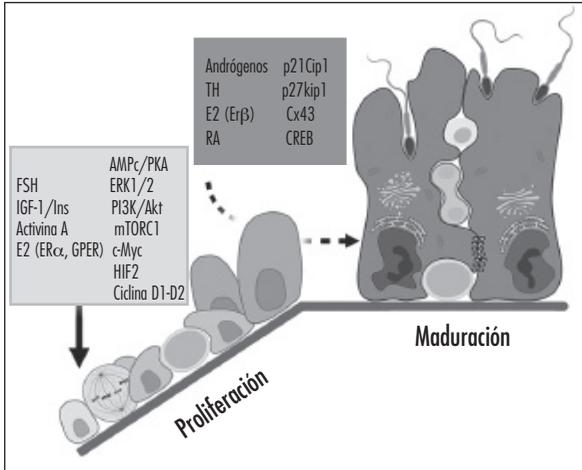
El papel de las proteínas RAR y RXR en la fisiología testicular fue analizado a través de la utilización de animales nulos. Aunque en estos estudios se analizaron minuciosamente las características de la población germinal, no se prestó especial atención a los cambios en la fisiología de la célula de Sertoli. Recién cuando se diseñaron modelos murinos nulos selectivos, se propuso un posible rol de RAR $\alpha$  en la regulación de la maduración de la célula de Sertoli. Ratones nulos para RAR $\alpha$  selectivo en células de Sertoli presentan deficiencias en la capacidad de esas células para sostener el desarrollo de células germinales<sup>83</sup>. Además, la sobreexpresión de la forma dominante negativa del receptor RAR $\alpha$  (dn-PAR $\alpha$ ) en las células de Sertoli conduce a una disrupción de la barrera hematotesticular en estadios específicos de los túbulos seminíferos<sup>84</sup>. El rol de RA en el mantenimiento de la funcionalidad de la barrera hematotesticular fue respaldado por la observación de una disrupción parcial en las uniones estrechas en ratas deficientes en vitamina A y en ratones nulos para RAR $\alpha$ <sup>85,86</sup>.

En resumen, los resultados obtenidos hasta ahora son consistentes con el papel de RA en el cese de la proliferación y en la maduración de las células de Sertoli.

### CONCLUSIÓN

El número final de células de Sertoli alcanzado durante los períodos proliferativos determina tanto el tamaño testicular como la capacidad de producción de espermatozoides en el individuo adulto. Este número final de células de Sertoli resulta de eventos durante la vida fetal, neonatal y peripuberal. Además, la maduración de las células de Sertoli, que implica la pérdida de la actividad proliferativa, la formación de uniones estrechas entre células de Sertoli y el establecimiento de la barrera hematotesticular, es necesaria para mantener la espermatogénesis. Por lo tanto, una orquesta perfectamente sincronizada que involucra hormonas, vías de transducción de señales y mecanismos moleculares que se conjugan para controlar la proliferación de células de Sertoli y para promover la adquisición de un fenotipo de célula de Sertoli maduro es determi-

nante para la fertilidad futura. Hemos tratado de resumir los conocimientos adquiridos sobre los mecanismos moleculares que controlan la proliferación y maduración de las células de Sertoli. Los temas tratados en esta revisión se resumen en la Figura 1.



**Figura 1.** Representación esquemática de los principales reguladores de la proliferación y maduración de la célula de Sertoli. Las hormonas y factores paracrinos que estimulan la proliferación están representados en gris claro y aquellos que detienen la proliferación y/o promueven la maduración están representados en gris oscuro. Las señales de transducción y los posibles mecanismos involucrados están también incluidos en el esquema.

FSH: hormona foliculoestimulante; E2: 17 $\beta$ -estradiol; ER $\alpha$ : receptor de estrógenos alfa; GPER: receptor de estrógenos acoplado a proteína G; IGF-1: factor de crecimiento similar a la insulina 1; Ins: insulina; PI3K: fosfatidil-inositol-3 quinasa; ERK1/2: proteínas quinasas activadas por señales extracelulares 1 y 2; PKA: quinasa dependiente de AMPc; mTORC1: *mammalian target of rapamycin complex 1*; HIF2: factor inducible por hipoxia 2; TH: hormonas tiroideas; RA: ácido retinoico; ER $\beta$ : receptor de estrógenos beta; Cx43: conexina 43; CREB: proteína de unión al elemento de respuesta a AMPc.

## REFERENCIAS

- Orth JM, Gonsalves GL, Lamperti AA. Evidence from Sertoli cell-depleted rats indicates that spermatid number in adults depends on numbers of Sertoli cells produced during perinatal development. *Endocrinology* 1988;122:787-94.
- Sharpe RM, McKinnell C, Kivlin C, Fisher JS. Proliferation and functional maturation of Sertoli cells, and their relevance to disorders of testis function in adulthood. *Reproduction* 2003;125:769-84.
- Parvinen M. Regulation of the seminiferous epithelium. *Endocr Rev* 1982;3:404-17.
- Heckert L, Griswold MD. Expression of the FSH receptor in the testis. *Recent Prog Horm Res* 1993;48:61-77.
- Griswold MD, Mably ER, Fritz IB. FSH stimulation of DNA synthesis in Sertoli cells in culture. *Mol Cell Endocrinol* 1976;4:139-49.
- Orth JM. The role of follicle-stimulating hormone in controlling Sertoli cell proliferation in testes of fetal rats. *Endocrinology* 1984;115:1248-55.
- Singh J, Handelsman DJ. The effects of recombinant FSH on testosterone induced spermatogenesis in gonadotrophin-deficient (hpg) mice. *J Androl* 1996;17:382-93.
- Haywood M, Spaliviero J, Jimenez M, King NJ, Handelsman DJ, Allan CM. Sertoli and germ cell development in hypogonadal (HPG) mice expressing transgenic follicle-stimulating hormone alone or in combination with testosterone. *Endocrinology* 2003;144:509-17.
- O'Shaughnessy PJ, Monteiro A, Abel M. Testicular development in mice lacking receptors for follicle stimulating hormone and androgen. *PLoS ONE* 2012;7:e35136.
- Means AR, Huckins C. Coupled events in the early biochemical actions of FSH on the Sertoli cells of the testis. *Curr Top Mol Endocrinol* 1974;1:145-65.
- Crepieux P, Marion S, Martinat N, Fafeur V, Vern YL, Kerboeuf D, et al. The ERK-dependent signalling is stage-specifically modulated by FSH, during primary Sertoli cell maturation. *Oncogene* 2001;20:4696-709.
- Musnier A, Heitzler D, Boulo T, Tesseraud S, Durand G, Lecureuil C, et al. Developmental regulation of p70 S6 kinase by a G protein-coupled receptor dynamically modeled in primary cells. *Cell Mol Life Sci* 2009;66:3487-503.
- Riera MF, Regueira M, Galardo MN, Pellizzari EH, Meroni SB, Cigorraga SB. Signal transduction pathways in FSH regulation of rat Sertoli cell proliferation. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2012;302:E914-023.
- Lim K, Hwang BD. Follicle-stimulating hormone transiently induces expression of protooncogene c-myc in primary Sertoli cell cultures of early pubertal and prepubertal rat. *Mol Cell Endocrinol* 1995;111:51-6.
- Gorga A, Rindone G, Regueira M, Riera MF, Pellizzari EH, Cigorraga SB, et al. HIF involvement in the regulation of rat Sertoli cell proliferation by FSH. *Biochem Biophys Res Commun* 2018;502:508-14.
- Villalpando I, Lira E, Medina G, Garcia-Garcia E, Echeverria O. Insulin like growth factor 1 is expressed in mouse developing testis and regulates somatic cell proliferation. *Exp Biol Med* 2008;233:419-26.
- Saez JM, Chatelain PG, Perrard-Sapori MH, Jaillard C, Naville D. Differentiating effects of somatomedin-C/insulin-like growth factor I and insulin on Leydig and Sertoli cell functions. *Reprod Nutr Dev* 1988;28:989-1008.
- Griffeth RJ, Carretero J, Burks DJ. Insulin receptor substrate 2 is required for testicular development. *PLoS ONE* 2013;8:e62103.
- Yamamoto T, Nakayama Y, Abe SI. Mammalian follicle-stimulating hormone and insulin-like growth factor I (IGF-I) up-regulate IGF-I gene expression in organ culture of newt testis. *Mol Reprod Dev* 2001;60:56-64.
- Smith EP, Dickson BA, Chernausk SD. Insulin-like growth factor binding protein-3 secretion from cultured rat Sertoli cells: dual regulation by follicle stimulating hormone and insulin-like growth factor-I. *Endocrinology* 1990;127:2744-51.
- Pitetti JL, Calvel P, Zimmermann C, Conne B, Papaioannou MD, Aubry F, et al. An essential role for insulin and IGF1 receptors in regulating Sertoli cell proliferation, testis size, and FSH action in mice. *Mol Endocrinol* 2013;27:814-27.
- Hsu SY, Nakabayashi K, Nishi S, Kumagai J, Kudo M, Sherwood OD, et al. Activation of orphan receptors by the hormone relaxin. *Science* 2002;295:671-4.
- Cardoso LC, Nascimento AR, Royer C, Porto CS, Lazari MF. Locally produced relaxin may affect testis and vas deferens function in rats. *Reproduction* 2010;139:185-96.
- Nascimento AR, Pimenta MT, Lucas TF, Royer C, Porto CS, Lazari MF. Intracellular signaling pathways involved in the relaxin-induced proliferation of rat Sertoli cells. *Eur J Pharmacol* 2012;691:283-91.

25. Nascimento AR, Macheroni C, Lucas TF, Porto CS, Lazari MF. Crosstalk between FSH and relaxin at the end of the proliferative stage of rat Sertoli cells. *Reproduction* 2016;152:613-28.
26. Barton DE, Yang-Feng TL, Mason AJ, Seeburg PH, Francke U. Mapping of genes for inhibin subunits alpha, beta A, and beta B on human and mouse chromosomes and studies of JSD mice. *Genomics* 1989;5:91-9.
27. Roberts V, Meunier H, Sawchenko PE, Vale W. Differential production and regulation of inhibin subunits in rat testicular cell types. *Endocrinology* 1989;125:2350-9.
28. De Winter JP, Vanderstichele HM, Verhoeven G, Timmerman MA, Wesseling JG, De Jong FH. Peritubular myoid cells from immature rat testes secrete activin-A and express activin receptor type II in vitro. *Endocrinology* 1994;135:759-67.
29. Buzzard JJ, Farnworth PG, De Kretser DM, O'Connor AE, Wreford NG, Morrison JR. Proliferative phase Sertoli cells display a developmentally regulated response to activin in vitro. *Endocrinology* 2003;144:474-83.
30. Archambeault DR, Yao HH. Activin A, a product of fetal Leydig cells, is a unique paracrine regulator of Sertoli cell proliferation and fetal testis cord expansion. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010;107:10526-31.
31. Barakat B, O'Connor AE, Gold E, de Kretser DM, Loveland KL. Inhibin, activin, follistatin and FSH serum levels and testicular production are highly modulated during the first spermatogenic wave in mice. *Reproduction* 2008;136:345-59.
32. Fragale A, Puglisi R, Morena AR, Stefanini M, Boitani C. Age-dependent activin receptor expression pinpoints activin A as a physiological regulator of rat Sertoli cell proliferation. *Mol Hum Reprod* 2001;7:1107-14. doi: 10.1093/molehr/7.12.1107
33. Matzuk MM, Kumar TR, Bradley A. Different phenotypes for mice deficient in either activins or activin receptor type II. *Nature* 1995; 374:356-60.
34. Miles DC, Wakeling SI, Stringer JM, van den Bergen JA, Wilhelm D, Sinclair AH, et al. Signaling through the TGF beta-activin receptors ALK4/5/7 regulates testis formation and male germ cell development. *PLoS ONE* 2013;8:e54606.
35. Nicholls PK, Stanton PG, Chen JL, Olcorn JS, Haverfield JT, Qian H, et al. Activin signaling regulates Sertoli cell differentiation and function. *Endocrinology* 2012;153:6065-77.
36. Schrewe H, Gendron-Maguire M, Harbison ML, Gridley T. Mice homozygous for a null mutation of activin beta B are viable and fertile. *Mechan Dev* 1994;47:43-51.
37. Matzuk MM, Finegold MJ, Su JG, Hsueh AJ, Bradley A. Alpha-inhibin is a tumour-suppressor gene with gonadal specificity in mice. *Nature* 1992;360:313-9.
38. Matzuk MM, Finegold MJ, Mather JP, Krummen L, Lu H, Bradley A. Development of cancer cachexia-like syndrome and adrenal tumors in inhibin-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91:8817-21.
39. Bremner WJ, Millar MR, Sharpe RM, Saunders PT. Immunohistochemical localization of androgen receptors in the rat testis: evidence for stage dependent expression and regulation by androgens. *Endocrinology* 1994;135:1227-34.
40. Zhou Q, Shima JE, Nie R, Friel PJ, Griswold MD. Androgen-regulated transcripts in the neonatal mouse testis as determined through microarray analysis. *Biol Reprod* 2005;72:1010-9.
41. Johnston H, Baker PJ, Abel M, Charlton HM, Jackson G, Fleming L, et al. Regulation of Sertoli cell number and activity by follicle-stimulating hormone and androgen during postnatal development in the mouse. *Endocrinology* 2004;145:318-29.
42. Atanassova NN, Walker M, McKinnell C, Fisher JS, Sharpe RM. Evidence that androgens and oestrogens, as well as follicle-stimulating hormone, can alter Sertoli cell number in the neonatal rat. *J Endocrinol* 2005;184:107-17.
43. Tan KA, De Gendt K, Atanassova N, Walker M, Sharpe RM, Saunders PT, et al. The role of androgens in Sertoli cell proliferation and functional maturation: studies in mice with total or Sertoli cell-selective ablation of the androgen receptor. *Endocrinology* 2005;146:2674-83.
44. Zhang C, Yeh S, Chen YT, Wu CC, Chuang KH, Lin HY, et al. Oligozoospermia with normal fertility in male mice lacking the androgen receptor in testis peritubular myoid cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006;103:17718-23.
45. Hazra R, Corcoran L, Robson M, McTavish KJ, Upton D, Handelsman DJ, et al. Temporal role of Sertoli cell androgen receptor expression in spermatogenic development. *Mol Endocrinol* 2013;27:12-24.
46. Buzzard JJ, Wreford NG, Morrison JR. Thyroid hormone, retinoic acid, and testosterone suppress proliferation and induce markers of differentiation in cultured rat Sertoli cells. *Endocrinology* 2003;144:3722-31.
47. Bulldan A, Dietze R, Shihan M, Scheiner-Bobis G. Non-classical testosterone signaling mediated through ZIP9 stimulates claudin expression and tight junction formation in Sertoli cells. *Cell Signal* 2016;28:1075-85.
48. Harvey CB, Williams GR. Mechanism of thyroid hormone action. *Thyroid* 2002;12:441-6.
49. Wrutniak C, Cassar-Malek I, Marchal S, Rasclé A, Heusser S, Keller JM, et al. A 43-kDa protein related to c-Erb A alpha 1 is located in the mitochondrial matrix of rat liver. *J Biol Chem* 1995;270:16347-54.
50. Bergh JJ, Lin HY, Lansing L, Mohamed SN, Davis FB, Mousa S, et al. Integrin alphaVbeta3 contains a cell surface receptor site for thyroid hormone that is linked to activation of mitogen-activated protein kinase and induction of angiogenesis. *Endocrinology* 2005;146:2864-71.
51. Buzzard JJ, Morrison JR, O'Bryan MK, Song Q, Wreford NG. Developmental expression of thyroid hormone receptors in the rat testis. *Biol Reprod* 2000;62:664-9.
52. Palmero S, Trucchi P, Prati M, Fugassa E, Lanni A, Goglia F. Effect of thyroid status on the oxidative capacity of Sertoli cells isolated from immature rat testis. *Eur J Endocrinol* 1994;130:308-12.
53. Zanatta AP, Zanatta L, Goncalves R, Zamoner A, Silva FR. Rapid responses to reverse T(3) hormone in immature rat Sertoli cells: calcium uptake and exocytosis mediated by integrin. *PLoS ONE* 2013;8:e77176.
54. Cooke PS, Meisami E. Early hypothyroidism in rats causes increased adult testis and reproductive organ size but does not change testosterone levels. *Endocrinology* 1991;129:237-43.
55. Van Haaster LH, De Jong FH, Docter R, De Rooij DG. High neonatal triiodothyronine levels reduce the period of Sertoli cell proliferation and accelerate tubular lumen formation in the rat testis and increase serum inhibin levels. *Endocrinology* 1993;133:755-60.
56. Cooke PS, Zhao YD, Bunick D. Triiodothyronine inhibits proliferation and stimulates differentiation of cultured neonatal Sertoli cells: possible mechanism for increased adult testis weight and sperm production induced by neonatal goitrogen treatment. *Biol Reprod* 1994;51:1000-5.
57. Arambepola NK, Bunick D, Cooke PS. Thyroid hormone effects on androgen receptor messenger RNA expression in rat Sertoli and peritubular cells. *J Endocrinol* 1998;156:43-50.
58. Arambepola NK, Bunick D, Cooke PS. Thyroid hormone and follicle stimulating hormone regulate Mullerian-inhibiting

- substance messenger ribonucleic acid expression in cultured neonatal rat Sertoli cells. *Endocrinology* 1998;139:4489-95.
59. Holsberger DR, Kiesewetter SE, Cooke PS. Regulation of neonatal Sertoli cell development by thyroid hormone receptor alpha1. *Biol Reprod* 2005;73:396-403.
  60. Fumel B, Guerin MJ, Livera G, Staub C, Magistrini M, Gauthier C, et al. Thyroid hormone limits postnatal Sertoli cell proliferation in vivo by activation of its alpha1 isoform receptor (TRalpha1) present in these cells and by regulation of Cdk4/JunD/c-myc mRNA levels in mice. *Biol Reprod* 2012;87(16):1-9.
  61. Fumel B, Roy S, Fouchecourt S, Livera G, Parent AS, Casas F, et al. Depletion of the p43 mitochondrial T3 receptor increases Sertoli cell proliferation in mice. *PLoS ONE* 2013;8:e74015.
  62. Gilleron J, Nebout M, Scarabelli L, Senegas-Balas F, Palmero S, Segretain D, et al. A potential novel mechanism involving connexin 43 gap junction for control of Sertoli cell proliferation by thyroid hormones. *J Cell Physiol* 2006;209:153-61.
  63. Sridharan S, Simon L, Meling DD, Cyr DG, Gutstein DE, Fishman GI, et al. Proliferation of adult Sertoli cells following conditional knockout of the Gap junctional protein GJA1 (connexin 43) in mice. *Biol Reprod* 2007;76:804-12.
  64. Holsberger DR, Jirawatnotai S, Kiyokawa H, Cooke PS. Thyroid hormone regulates the cell cycle inhibitor p27Kip1 in postnatal murine Sertoli cells. *Endocrinology* 2003;144:3732-8.
  65. Sun Y, Yang W, Luo H, Wang X, Chen Z, Zhang J, et al. Thyroid hormone inhibits the proliferation of piglet Sertoli cell via PI3K signaling pathway. *Theriogenology* 2015;83:86-94.
  66. Santen RJ, Brodie H, Simpson ER, Siiteri PK, Brodie A. History of aromatase: saga of an important biological mediator and therapeutic target. *Endocr Rev* 2009;30:343-75.
  67. Tsai-Morris CH, Aquilano DR, Dufau ML. Cellular localization of rat testicular aromatase activity during development. *Endocrinology* 1985;116:38-46.
  68. Levin ER. Plasma membrane estrogen receptors. *Trends Endocrinol Metab* 2009;20:477-82.
  69. Wang Z, Zhang X, Shen P, Loggie BW, Chang Y, Deuel TF. A variant of estrogen receptor- $\alpha$ , hER- $\alpha$ 36: transduction of estrogen- and antiestrogen-dependent membrane-initiated mitogenic signaling. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006;103:9063-8.
  70. Li L, Hisamoto K, Kim KH, Haynes MP, Bauer PM, Sanjay A, et al. Variant estrogen receptor-c-Src molecular interdependence and c-Src structural requirements for endothelial NO synthase activation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007;104:16468-73.
  71. Chimento A, Sirianni R, Casaburi I, Pezzi V. GPER Signaling in Spermatogenesis and Testicular Tumors. *Front Endocrinol* 2014;5:30.
  72. Fisher JS, Millar MR, Majdic G, Saunders PT, Fraser HM, Sharpe RM. Immunolocalisation of oestrogen receptor-alpha within the testis and excurrent ducts of the rat and marmoset monkey from perinatal life to adulthood. *J Endocrinol* 1997;153:485-95.
  73. Van Pelt AM, De Rooij DG, Van der Burg B, Van der Saag PT, Gustafsson JA, Kuiper GG. Ontogeny of estrogen receptor-beta expression in rat testis. *Endocrinology* 1999;140:478-83.
  74. Lucas TFG, Lazari MFM, Porto CS. Differential role of the estrogen receptors ESR1 and ESR2 on the regulation of proteins involved with proliferation and differentiation of Sertoli cells from 15-day-old rats. *Mol Cell Endocrinol* 2014;82:84-96.
  75. Lucas TF, Royer C, Siu ER, Lazari MF, Porto CS. Expression and signaling of G protein-coupled estrogen receptor 1 (GPER) in rat Sertoli cells. *Biol Reprod* 2010;83:307-17.
  76. Atanassova N, McKinnell C, Walker M, Turner KJ, Fisher JS, Morley M, et al. Permanent effects of neonatal estrogen exposure in rats on reproductive hormone levels, Sertoli cell number, and the efficiency of spermatogenesis in adulthood. *Endocrinology* 1999;140:5364-73.
  77. Berger T, Kentfield L, Roser JF, Conley A. Stimulation of Sertoli cell proliferation: defining the response interval to an inhibitor of estrogen synthesis in the boar. *Reproduction* 2012;143:523-9.
  78. Berger T, Conley AJ, Van Klompenberg M, Roser JF, Hovey RC. Increased testicular Sertoli cell population induced by an estrogen receptor antagonist. *Mol Cell Endocrinol* 2013;366:53-8.
  79. Yang WR, Zhu FW, Zhang JJ, Wang Y, Zhang JH, Lu C, et al. PI3K/Akt activated by GPR30 and Src regulates 17 $\beta$ -estradiol-induced cultured immature boar Sertoli cells proliferation. *Reprod Sci* 2017;24:57-66.
  80. Cavazzini D, Galdieri M, Ottonello S. Retinoic acid synthesis in the somatic cells of rat seminiferous tubules. *Biochim Biophys Acta* 1996;313:139-45.
  81. Boulogne B, Levacher C, Durand P, Habert R. Retinoic acid receptors and retinoid X receptors in the rat testis during fetal and postnatal development: immunolocalization and implication in the control of the number of gonocytes. *Biol Reprod* 1999;61:1548-57.
  82. Nicholls PK, Harrison CA, Rainczuk KE, Wayne Vogl A, Stanton PG. Retinoic acid promotes Sertoli cell differentiation and antagonises activin-induced proliferation. *Mol Cell Endocrinol* 2013;377:33-43.
  83. Vernet N, Dennefeld C, Guillou F, Chambon P, Ghyselinck NB, Mark M. Prepubertal testis development relies on retinoic acid but not retinoid receptors in Sertoli cells. *EMBO J* 2006;25:5816-25.
  84. Hasegawa K, Saga Y. Retinoic acid signaling in Sertoli cells regulates organization of the blood-testis barrier through cyclical changes in gene expression. *Development* 2012;139:4347-55.
  85. Morales A, Cavicchia JC. Spermatogenesis and blood-testis barrier in rats after long-term Vitamin A deprivation. *Tissue Cell* 2002;34:349-55.
  86. Chung SS, Choi C, Wang X, Hallock L, Wolgemuth DJ. Aberrant distribution of junctional complex components in retinoic acid receptor alpha-deficient mice. *Microscopy Res Tech* 2010;73:583-96.

# Disminución en la tasa de embarazo posterior a la lesión endometrial en mujeres que se someten a su primero o segundo intento de fertilización *in vitro*. Un ensayo controlado aleatorizado y multicéntrico

## *Decrease in pregnancy rate after endometrial scratch in women undergoing a first or second in vitro fertilization. A multicenter randomized controlled trial*

Sandrine Frantz, Jean Parinaud, Marion Kret, Gaëlle Rocher-Escriva, Aline Papaxanthos-Roche, Héléne Creux, Lucie Chansel-Debordeaux, Antoine Bénard y Claude Hocké

Endocrinology and Metabolism, Reproductive Medicine Unit, Hôpital Pellegrin, Bordeaux, Francia  
Human Reproduction 2019;34(1):92-9

### RESUMEN

Varios estudios han sugerido que la lesión endometrial (ES, por su sigla en inglés) llevada a cabo antes de un intento de fertilización *in vitro* (FIV) podría mejorar la implantación embrionaria. El objetivo de este ensayo clínico controlado, aleatorizado y multicéntrico fue determinar si la ES puede mejorar la tasa de embarazo clínico en mujeres que realizan su primero o segundo intento de inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI, por su sigla en inglés).

Este fue un ensayo clínico controlado, aleatorizado, multicéntrico, con dos ramas y realizado en paralelo. El estudio comenzó en febrero de 2010 y se detuvo prematuramente en julio de 2014, después de un análisis intermedio no planificado. En el momento de su cierre, se pudo incluir a 191 de las 358 pacientes planeadas originalmente.

Las pacientes incluidas en el estudio fueron asignadas al azar al grupo "con ES" o al grupo "sin ES". La ES local se realizó entre los días 20 y 24 del ciclo anterior a la estimulación ovárica utilizando un dispositivo para biopsia endometrial. Para la estimulación ovárica se usó una combinación de hormona foliculoestimulante o FSH recombinante más un agonista o antagonista de la hormona liberadora de gonadotropina o GnRH, sin ningún tratamiento previo con estrógenos. La tasa de embarazo clínica se determinó mediante el análisis por intención de tratar. En todas las comparaciones entre los dos grupos se utilizó un modelo de regresión logística ajustado por edad, índice de masa corporal (IMC) y etiología de la infertilidad. Las diferencias entre los dos brazos o grupos se consideraron estadísticamente signifi-

ficativas con un valor de menos de 0,0446 solo para el resultado primario o principal.

En todo el estudio se realizaron 68 transferencias embrionarias en el grupo con ES y 64 en el grupo sin ES. La tasa de embarazo clínica fue del 23,5% (16 de 68) en el grupo con ES y del 35,9% (23 de 64) en el grupo sin ES (OR = 0,43; IC 95%: 0,18 a 1,02;  $p = 0,0568$ ). La tasa de implantación fue del 19,1% en el grupo con ES y de 24,0% en el otro grupo. Se informaron dos abortos espontáneos y uno ectópico en cada grupo. La tasa de embarazo múltiple fue mayor en el brazo con ES (50,0% contra 20,0%), pero la diferencia no fue significativa (OR = 4,54; IC 95%: 0,50 a 40,93;  $p = 0,1349$ ). El procedimiento de biopsia endometrial fue bien tolerado en la mayoría de las mujeres y, de 50 pacientes del brazo con ES que recibieron la transferencia de embriones, 40 (80,0%) informaron haber sentido dolor durante el procedimiento, que se resolvió rápidamente en 31 de ellas.

Una limitación importante del estudio fue su detención antes de alcanzar el tamaño muestral planificado. Se realizó un análisis intermedio de la tasa de embarazo clínica, el resultado primario o *primary endpoint* del estudio y un comité de monitoreo de datos independiente acordó detener la inclusión de pacientes. Este análisis fue impulsado por la observación de una tendencia hacia tasas de embarazo más bajas en el brazo con ES. En consecuencia, el estudio sufrió una tasa de inclusión menor que la esperada.

Bajo la condición técnica empleada en este estudio, realizar la ES en la fase lútea del ciclo antes de la estimulación ovárica no mejora la tasa de embarazo clínica en pacientes sometidas a un primero o segundo intento de FIV/ICSI.

## COMENTARIO

Ana Schafir y Soledad Gori

Laboratorio de Inmunofarmacología, IQUBICEN-CONICET,  
Departamento de Química Biológica, FCEN-HUBA

Si bien, hasta el momento, en el campo de la fertilización *in vitro* (FIV) se ha avanzado en muchos aspectos, la receptividad endometrial sigue siendo un tema crucial y una “caja negra” de difícil abordaje. En los últimos años, se ha sugerido que una de las posibles causas de las fallas de implantación es la asincronía o desplazamiento de la ventana de implantación, que se observa en un 25% de las mujeres con fallas recurrentes, es decir, mujeres con dos o más transferencias de embriones de buena calidad fallidas, y en un 12% de las mujeres fértiles<sup>1</sup>. A partir de esto, otros autores demostraron que no solo se trata de una ventana desplazada, sino que el endometrio de las mujeres con fallas recurrentes de implantación puede presentar un fenotipo alterado o disfuncional<sup>2,3</sup>.

En este sentido, aún no contamos con una estrategia terapéutica exitosa para las fallas de implantación. La lesión endometrial (ES, por su sigla en inglés) o daño intencional en el endometrio, comúnmente realizado en el ciclo anterior a la transferencia, puede ser uno de los procedimientos más efectivos para mejorar la receptividad<sup>4-6</sup>. El mecanismo subyacente a este proceso sigue sin estar claro, pero se han sugerido varias hipótesis relacionadas con el proceso de decidualización<sup>4,5-7</sup>. Una revisión sistemática reciente informó que se necesita más evidencia sobre el beneficio que les puede traer la ES a las mujeres que se someten a su primero o segundo ciclo de FIV<sup>5</sup>.

Para abordar este aspecto, se diseñó un ensayo clínico controlado y aleatorizado (ECA), multicéntrico, con pacientes asignadas al azar a dos grupos: grupo con ES (tratado) y grupo sin ES (de control o no tratado). La asignación aleatoria de las mujeres fue correcta y se informó sobre el abandono de las participantes que así lo decidieron. Se detallaron los criterios de inclusión y de exclusión de las pacientes para ambos grupos y tanto el resultado primario, la tasa de embarazo clínica (CPR, por su sigla en inglés) y los resultados secundarios del estudio (tasa de implantación, tasa de abortos, tasa de embarazos múltiples, entre otros) fueron bien definidos. También se informaron los efectos adversos ocu-

rridos antes y después de la intervención, como dolor y sangrado. El tamaño muestral se calculó antes de comenzar el ensayo y se estimó un *N* total de 358 pacientes (179 por grupo). Para el análisis del resultado primario se consideró el principio de intención de tratar –clave para mantener la comparabilidad entre los grupos y evitar la introducción de sesgos– así como el principio *as-treated*, por el cual se considera a quienes efectivamente recibieron el tratamiento.

El hallazgo principal de este estudio fue que la ES no mejora la CPR en las mujeres que tienen hasta una falla en una FIV previa, al menos en las condiciones metodológicas llevadas a cabo en este ensayo. Además, los autores destacan que aun sin ser significativa, existe una tendencia a presentar menor CPR en el grupo sometido a la ES. Al analizar por subgrupos, discriminando a las mujeres que se sometían a la primera FIV de las que ya presentaban una falla previa, las tendencias se mantuvieron, aunque menos marcadas, en el último subgrupo. En ningún caso las diferencias fueron significativas. Cabe destacar que el *N* de las mujeres que presentaban una falla previa fue bajo en ambos grupos y que la cantidad de mujeres que llevaban a cabo su primera FIV fue mayor en el grupo tratado.

Una de las primeras limitaciones que tiene el estudio es no haber podido alcanzar el tamaño muestral planificado. A partir de la tendencia a la disminución de la CPR observada en el grupo tratado, se realizó un análisis intermedio no planificado de los resultados obtenidos hasta el momento y, por sugerencia de un comité independiente de monitoreo de datos, se resolvió finalizar el estudio. La finalización prematura por falta de beneficio (futilidad) se determina cuando, ante un análisis intermedio de un ensayo clínico de superioridad, la diferencia observada entre los grupos es tan exigua que la probabilidad de encontrar diferencias significativas con el tamaño muestral previsto es muy baja<sup>8</sup>. En este caso, como concluyen los autores, aun con el tamaño muestral planificado no se hubiera demostrado la superioridad de ES sobre no ES. Desde el punto de vista bioético, el objetivo del análisis intermedio es ahorrarle a la paciente la exposición innecesaria a un régimen terapéutico potencialmente ineficaz, sobre todo si tiene efectos adversos importantes<sup>8</sup>. En este sentido, según lo informado, a pesar del dolor y el sangrado posteriores a la ES, el procedimiento fue, en general, bien tolerado.

Alcanzar el tamaño muestral previsto es un factor clave para que el ensayo clínico tenga validez científica. Ciertos estudios de simulación estadística determinaron que se puede sobrestimar la magnitud del efecto del tratamiento dependiendo del momento en que se decide interrumpir el ensayo, es decir, en función del número de sujetos incluidos con respecto al planeado. Al respecto, algunos autores recomiendan evitar la realización de este tipo de análisis intermedios de manera no planificada, ya que puede afectar la integridad del estudio y la interpretación de los datos, y sugieren preestablecer su uso con un protocolo que detalle los criterios para considerar<sup>8,9</sup>. Además, como sí adecuadamente se llevó a cabo en este estudio, es imperiosa la evaluación de los datos por un comité independiente, ya que le otorga mayor credibilidad al proceso.

Una cuestión para considerar y que dificulta la comparación con otros análisis es que existe mucha variabilidad en los grupos de pacientes incluidas en los ECA disponibles. Una revisión sistemática publicada en 2015 en la que se analizaron 14 trabajos con 2128 pacientes concluyó que la ES mejora significativamente la CPR en mujeres tratadas<sup>5</sup>. Sin embargo, esta revisión es heterogénea porque incluye estudios mixtos con pacientes con múltiples fallas previas y sin ellas; solo un ensayo incluye únicamente a pacientes que cursan su primera FIV. En otros trabajos en los que, por el contrario, se concluyó que no hay diferencias significativas entre el grupo de ES y el grupo de control, gran parte de las mujeres incluidas tenían solo una falla previa o no tenían ninguna, como las pacientes seleccionadas en este ensayo. Además de la heterogeneidad de las pacientes incluidas en los ensayos, al no haber consenso en la bibliografía sobre el uso de la ES, se generan muchas variables metodológicas, como la cantidad de biopsias por realizar, en qué fase del ciclo, si en el ciclo previo o en el mismo de la transferencia, entre otras. En conjunto, todas estas variables dificultan la comparación entre distintos ensayos clínicos y limitan la obtención de conclusiones claras.

Por último, considerando que se estima que dos tercios de las fallas de implantación pueden explicarse por la calidad del embrión transferido, controlar o al menos considerar esta variable al analizar los resultados es más que necesario<sup>10</sup>. Un punto débil de este trabajo es que no se infor-

ma en detalle cómo se clasificaron los embriones obtenidos para transferir al día 2/3, ni tampoco se discute la disponibilidad de embriones de alta calidad para las transferencias llevadas a cabo en los distintos grupos de pacientes. Más aún, los autores informaron un menor número de embriones de “grado I” transferidos en el grupo tratado en comparación con el grupo de control. Aunque no especificaron el criterio de clasificación embrionaria utilizado, se podría especular que si los embriones de “grado I” eran los de mejor calidad, esto podría haber influido directamente en la disminución de la tasa de embarazo observada en el grupo tratado. Hubiera sido interesante contar con mayor información al respecto y realizar un análisis discriminado por calidad embrionaria para independizarse de esta variable.

En relación con esto, un trabajo retrospectivo no aleatorizado reciente informó mejoras significativas en las tasas de embarazo al realizar la ES a un subgrupo de mujeres con múltiples fallas recurrentes de implantación, que suelen presentar una tasa extremadamente baja de embarazo. Sin embargo, al discriminar por calidad embrionaria, observaron que el grupo tratado había tenido un mayor número de embriones disponibles para transferir y de mejor calidad que el grupo no tratado<sup>11</sup>. Fue necesario, entonces, un análisis multivariable para demostrar que el beneficio observado en el grupo de ES no se encontraba sujeto a una mayor disponibilidad de embriones de alta calidad. Por último, sería interesante determinar en un futuro si los resultados del ensayo presentado en este análisis se mantienen en el caso de transferir en el día 5 o 6 de desarrollo embrionario (estadio de blastocisto), que ha demostrado mejorar las tasas de implantación y embarazo por permitir una mejor selección del embrión por transferir.

En resumen, el trabajo comentado aquí aporta evidencias que sustentan el debate del uso de esta práctica en la clínica. Hasta el momento, la ES parecería beneficiar solo a determinados grupos de pacientes, particularmente mujeres con fallas recurrentes de implantación<sup>10,12</sup>. Consideramos que antes de rechazar o de aceptar esta práctica, es necesario determinar su efecto en las pacientes que presentan una disfunción específica en el endometrio. A su vez, nuevas herramientas de diagnóstico y tamizaje para la función endometrial abrirán el camino a un enfoque personalizado para el manejo de las fallas de implantación, entre otras complicaciones reproductivas.

## REFERENCIAS

1. Ruiz-Alonso M, Blesa D, Díaz-Gimeno P, Gómez E, Fernández-Sánchez M, Carranza F, et al. The endometrial receptivity array for diagnosis and personalized embryo transfer as a treatment for patients with repeated implantation failure. *Fertil Steril* 2013;100(3):818-24.
2. Koot YEM, Van Hooff SR, Boomsma CM, Van Leenen D, Koerkamp MJAG, Goddijn M, et al. An endometrial gene expression signature accurately predicts recurrent implantation failure after IVF. *Sci Rep* [Internet]. 2016;6:1-12. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1038/srep19411>
3. Sebastian-Leon P, Garrido N, Remohí J, Pellicer A, Diaz-Gimeno P. Asynchronous and pathological windows of implantation: Two causes of recurrent implantation failure. *Hum Reprod* 2018;33(4):626-35.
4. Gnainsky Y, Granot I, Aldo P, Barash A, Or Y, Mor G, et al. Biopsy-induced inflammatory conditions improve endometrial receptivity: The mechanism of action. *Reproduction* [Internet]. 2015;149(1):75-85. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25349438>
5. Nasti CO, Lensen SF, Gibreel A, Raine-Fenning N, Ferriani RA, Bhattacharya S, et al. Endometrial injury in women undergoing assisted reproductive techniques. *Cochrane Database Syst Rev* 2015;2015(3).
6. Nasti CO, Lensen S, Polanski L, Raine-Fenning N, Farquhar CM, Martins WP. Endometrial injury and reproductive outcomes: There's more to this story than meets the horse's blind eye. *Hum Reprod* 2015;30(3):749.
7. Dekel N, Gnainsky Y, Granot I, Racicot K, Mor G. The Role of Inflammation for a Successful Implantation. *Am J Reprod Immunol* [Internet]. 2014;72(2):141-7. Disponible en: <http://doi.wiley.com/10.1111/aji.12266>
8. Vargas Castrillón E, Terleira Fernández AI, Gómez Outes A. Cuestiones éticas y reguladoras de la finalización prematura de los ensayos clínicos. In: Dal-Ré R, Camé X, Gracia D, eds. *Lucas y sombras en la investigación clínica* [Internet]. Fundación Víctor Grifols iLucas; p. 575. Disponible en: <https://www.fundaciogrifols.org/documents/4662337/4688901/cap7.pdf/108ef226-297b-47e2-9b8c-15f183193316>
9. Kumar A, Chakraborty BS. Interim analysis: A rational approach of decision making in clinical trial. *J Adv Pharm Technol Res* 2016;7(4):118-22.
10. Lensen S, Venetis C, Ng EHY, Young SL, Vitagliano A, Macklon NS, et al. Should we stop offering endometrial scratching prior to in vitro fertilization? *Fertil Steril* [Internet]. 2019;111(6):1094-101. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2019.04.017>
11. Bar G, Harlev A, Alfayumi-Zeadna S, Zeadna A, Bord I, Harvardi I, et al. Recurrent implantation failure: which patients benefit from endometrial scratching prior to IVF? *Arch Gynecol Obstet* [Internet]. 2020;301(3):817-22. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s00404-019-05424-1>
12. Olesen MS, Hauge B, Ohrt L, Olesen TN, Roskær J, Bæk V, et al. Therapeutic endometrial scratching and implantation after in vitro fertilization: a multicenter randomized controlled trial. *Fertil Steril* [Internet]. 2019;112(6):1015-21. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2019.08.010>

## COMENTARIO

Roberto C. Inza

Médico Especialista en Ginecología, en Reproducción (SAEF) y en Cirugía Endoscópica (SAEF). Docente Adscripto, UBA. Médico de Planta, IFER

El proceso por el cual se logra una implantación exitosa depende de múltiples factores, pero a modo de resumen se podrían acotar a tres grandes grupos causales:

- Esfera del embrión, en la que se incluye lo que aportan los gametos y su consecuencia en el embrión.
- El desarrollo de un endometrio competente para permitir una implantación exitosa; esa preparación arranca antes de que exista un contacto con el embrión y es, en resumidas cuentas, lo que se conoce como ventana de implantación.
- El correcto diálogo que se debe generar entre ambos, endometrio y embrión que, si es fructífero, conlleva una implantación exitosa.

La fertilización asistida de alta complejidad ha evolucionado desde los primeros trabajos en la década de 1980 al mejorar la tasa de implantación, pero sus posibilidades de éxito permanecen limitadas y su techo está influido por los factores antedichos.

Sin embargo, en el último tiempo se les ha prestado una creciente atención a estos procesos. Serían las poblaciones de células inmunes y sus productos los encargados de preparar el nicho de implantación favoreciendo una respuesta tolerogénica y antiinflamatoria.

Al carecer de un procedimiento diagnóstico que permita tener una evidencia fehaciente de lo que podría estar alterado, se han ido acumulando terapias potenciales para mejorar las posibilidades en un futuro tratamiento, pero sin criterios claros de indicación.

Una de las terapéuticas sugeridas es la lesión endometrial, cuyo valor en las publicaciones ha oscilado entre los extremos de su utilidad, sin haber podido llegar a ese equilibrio entre la indicación y la utilidad logrado en otros tratamientos.

El objetivo del presente trabajo fue plantear la utilidad de la lesión como medida preventiva y sin haber alcanzado la presunción de un diagnóstico de *falla de implantación*; el daño endometrial se realizó en el ciclo previo a la FIV/ICSI en un primero o segundo intento de tratamiento. El valor de este trabajo estriba en que al ser un estudio prospectivo y aleatorizado, se logra controlar una serie de variables confundidoras.

La lesión como tal busca la movilización de células inmunes, en un intento de promover ese estado tolerogénico tan necesario para la implantación.

Por otro lado, la lesión endometrial tiene otro valor y es el aportado por el estudio anatomopatológico, que permite el descarte de patología silente (principalmente endometritis crónica, hiperplasia endometrial, entre otras) que si bien tiene baja incidencia, esta no es nula. Aunque no fueron el objetivo del trabajo, estos resultados no están incluidos. Dado que se mencionó el envío de la muestra para estudio histológico, este resultado podría tener relevancia.

Los resultados de este estudio no muestran una ventaja en la práctica *sistemática y preventiva* de la lesión endometrial, lo cual tiene lógica. Por un lado, hay muchos aspectos de este proceso que desconocemos; puede haber una exacerbación de un estado proinflamatorio (con predominio de una respuesta Th1, Th17 y demás citoquinas proinflamatorias), un déficit de respuesta tolerogénica (es decir, de la aceptación de antígenos paternos en el área de implantación asociados con una respuesta Th2 y linfocitos Treg) o una coexistencia de ambas<sup>1</sup>.

Entonces, la identificación de los criterios de la indicación de una terapia personalizada podría

llevar a tener un resultado diferente, como ciertos autores encontraron cuando se indicó la lesión en la subpoblación de pacientes con *falla de implantación*<sup>2</sup>.

En conclusión, la implementación indiscriminada de un procedimiento terapéutico sin un aval diagnóstico adecuado lleva a resultados, muchas veces, contradictorios. La observación de que la lesión endometrial podría ser beneficiosa muy probablemente quede restringida a una subpoblación de pacientes con una respuesta tolerogénica disminuida, en las que el estímulo de movilización de células inmunes, particularmente los linfocitos Treg, podría ser de capital importancia.

## REFERENCIAS

1. Lédée N, Petitbarat M, Chevrier L, Vitoux D, Vezmar K, Rahmati M, Dubanchet S, Gahery H, Bensussan A, Chaouat G. The uterine immune profile may help women with repeated unexplained embryo implantation failure after in vitro fertilization. *Am J Reprod Immunol* 2016;75:388-401.
2. Nastri CO, Lensen SF, Gibreel A, Raine-Fenning N, Ferriani RA, Bhattacharya S, Martins WP. Endometrial injury in women undergoing assisted reproductive techniques. *Cochrane Database System Rev* 2015:CD009517.

## **FXYD5/Disadherina, un biomarcador de invasión miometrial y agresividad del cáncer de endometrio. Su relación con las vías TGF- $\beta$ 1 y NF- $\kappa$ B**

### ***FXYD5/Dysadherin, a biomarker of endometrial cancer myometrial invasion and aggressiveness: its relationship with TGF- $\beta$ 1 and NF- $\kappa$ B pathways***

Besso MJ, Rosso M, Lapyckyj L, Moiola CP, Matos ML, Mercogliano MF, Schillaci R, Reventos J, Colas E, Gil Moreno A, Wernicke A, Orti R, Vazquez-Levin MH

Front Oncol 2019 Dec 6;9:1306. doi: 10.3389/fonc.2019.01306. eCollection 2019.

#### **COMENTARIO**

Mónica Hebe Vázquez-Levin (autora corresponsal)

Investigadora Principal, Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Argentina (CONICET)

El cáncer de endometrio (CE) se origina por la proliferación descontrolada del endometrio, epitelio que reviste internamente al útero. Es la segunda neoplasia ginecológica más común en el mundo y se proyecta un aumento de hasta un 50% de casos a nivel nacional y global.

El CE se clasifica según la histología, estadio, invasión miometrial (IM), grado y riesgo de recurrencia (RR; combina estadio/grado) tumoral. El diagnóstico involucra la evaluación preoperatoria anatomopatológica convencional, ajustada en la pieza quirúrgica. El ~70-75% de los tumores son diagnosticados en estadio temprano (estadio I de la Federación Internacional de Ginecología y Obstetricia, FIGO), pero ~20% se reclasifican quirúrgicamente como estadio avanzado (II-IV), con peor pronóstico. El ~25-30% de los CE restantes se diagnostican en etapas avanzadas de la enfermedad, cuando la IM > 50%. Además, a pesar de la buena respuesta inicial al tratamiento (76%), existe alto RR, con peor pronóstico y tratamientos más complejos.

En los últimos años, ha cobrado interés la identificación de **biomarcadores moleculares** evaluados en **tejidos/líquidos biológicos** de pacientes con cáncer y otras patologías, pues contribuyen al diagnóstico/pronóstico/terapéutica de forma sensible, específica y reproducible.

En la progresión del CE se reportaron alteraciones en la expresión de la molécula de adhesión cadherina epitelial (CadE), pero es un biomarcador con baja sensibilidad. Diversos estudios nuevos han informado una relación entre la disminución de CadE y la expresión aumenta-

da de FXYD5 o disadherina (FXD5/Dys), glicoproteína de membrana asociada a la progresión/agresividad en varios tumores sólidos.

La publicación en el número de diciembre de 2019 de la revista científica internacional *Frontiers in Oncology* describe la investigación original realizada en el Laboratorio de Estudios de Interacción Celular en Reproducción y Cáncer del IBYME, dirigido por la Dra. Vázquez-Levin. Se evaluó la expresión de FXYD5/Dys y su relación con la progresión tumoral/agresividad del CE. Se determinaron los niveles de ARNm de FXYD5/Dys en biopsias de tejido y aspirados uterinos de pacientes con CE. La expresión de FXYD5/Dys se evaluó también en bases de datos de repositorios públicos. El impacto de la expresión de FXYD5/Dys sobre la expresión de CadE, el comportamiento celular y la activación de vías se evaluaron en células Hec1a-ETV5 (factor sobreexpresado en el frente tumoral) tratadas con un ARN de interferencia (ARNi) para FXYD5/Dys, en Hec1a transfectadas con un plásmido que contenía la secuencia de FXYD5/Dys o tratadas con TGF- $\beta$ 1.

Como resultado, los niveles de ARNm de FXYD5/Dys se asociaron a la agresividad tumoral; se encontraron altos ( $p < 0,05$ ) niveles en tumores con IM > 50%, grado 3 y RR intermedio/alto. Asimismo, se determinaron niveles mayores ( $p < 0,05$ ) de FXYD5/Dys en el frente tumoral invasor en comparación con el área superficial. Se registraron resultados similares en aspirados uterinos, obtenidos en forma ambulatoria.

La transfección de las células Hec1a-ETV5 con el ARNi para FXYD5/Dys se asoció a menor ( $p < 0,01$ ) migración celular, mayor ( $p < 0,05$ ) expresión de CadE y mayor ( $p < 0,05$ ) adhesión intercelular. Lo opuesto se observó en células Hec1a transfectadas con el plásmido FXYD5/Dys. El

tratamiento de células Hec1a con TGF- $\beta$ 1 indujo la expresión de FXDY5/Dys. El análisis de datos del repositorio TCGA (TCGA-UCEC RNAseq) reveló una correlación positiva entre los niveles de ARNm FXDY5/Dys, TGF- $\beta$ 1 y PAI-1. En las células Hec1a, FXDY5/Dys indujo la activación de la vía NF- $\kappa$ B. Los niveles de ARNm de FXDY5/Dys se correlacionaron con la activación transcripcional de genes regulados por NF- $\kappa$ B-p65. El análisis de datos de pacientes de alto RR y supervivencias más cortas reveló niveles mayores de FXDY5/Dys, PAI-1, TNF- $\alpha$  y TGF- $\beta$ 1.

Los estudios han aportado a la comprensión de las bases moleculares del CE y permiten proponer a FXDY5/Dys como un nuevo biomarcador de progresión/agresividad, relacionado con las vías TGF- $\beta$ 1 y NF- $\kappa$ B, que promueven la diseminación tumoral.

Acceso al artículo completo:

<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fonc.2019.01306/full>

## COMENTARIO COVID-19

# Una clínica de fertilidad libre del nuevo coronavirus

## *A fertility center free of coronavirus*

### COMENTARIO

Claudio Bisioli

Médico Consultor del Laboratorio de FIV, Pregna Medicina Reproductiva

Los centros de reproducción asistida han implementado protocolos sanitarios para proteger a los pacientes y al personal de los estragos de la actual pandemia guiados por los lineamientos internacionales y locales<sup>1-3</sup>, a medida que se iba acumulando información seria y responsable, aun sabiendo que algunos de esos protocolos iban a necesitar una constante actualización. La así llamada *infodemia* (una sobrecarga de datos sobre la pandemia) ha dificultado distinguir qué información era precisa y cuál no<sup>4</sup>. El objetivo era lograr clínicas libres de la enfermedad provocada por el nuevo virus corona (COVID-19 en su acrónimo en inglés, es decir, *Coronavirus Disease 2019*).

La mala noticia es que las clínicas “libres de COVID-19” no existen en la realidad que nos toca vivir y, por ende, una fertilidad asistida libre de COVID-19, tampoco. Asumir que “seguridad” significa “sin riesgo” es incorrecto y una situación que no existe en la vida diaria de un embriólogo o de un médico de reproducción asistida<sup>5</sup>. Una definición más realista es la que menciona la norma ISO 14971 para la seguridad de los productos sanitarios: “libre de riesgos inaceptables”. Eso mismo es lo que debería tener como objetivo cualquier clínica de fertilidad al trabajar en las

especiales condiciones de la COVID-19: hacerlo libre de riesgos inaceptables relacionados con la impericia o la necesidad.

El propósito de este artículo es hacer hincapié en algunos conceptos que pueden resultar de utilidad para pensar una clínica libre de estos riesgos inaceptables. Puede ocurrir que cuando esto llegue al lector, el escenario de la pandemia haya cambiado totalmente, pero en todo caso correremos un riesgo aceptable.

### El virus

Ya todos sabemos que es un virus nuevo pero, ¿estamos en presencia de una especie nueva? No una especie animal ni tampoco vegetal, sino... viral. Esto nos recuerda que la discusión acerca de si los virus son o no seres vivos sigue ridículamente en pie. Lo cierto es que de la familia de los coronavirus ha surgido por mutación un nuevo linaje (¿especie?) llamado coronavirus 19 (técnicamente, SARS-CoV-2), un pariente muy cercano filogenéticamente a los otros dos coronavirus (el SARS-CoV y el MERS-CoV), que han cruzado la barrera de las especies en lo que va del siglo XXI<sup>6</sup>. Recordemos que este “derrame” viral interespecífico ya ha tenido otros antecedentes registrados recientemente, desde el virus de la inmunodeficiencia en chimpancés hasta los mercados que comercializan especies silvestres como pangolines, civetas, camellos o murciélagos, todos posibles de transmitir zoonosis.

Se sabe que las mutaciones en el aminoácido 30 de la proteína Gag de humanos del virus de la inmunodeficiencia 1 (VIH-1) han sido propuestas como una adaptación del virus de la inmunodeficiencia simia (SIV) en chimpancés para aumentar la infectividad en los seres humanos. En el virus chikungunya, una mutación simple (E1-A226V) que aparece durante las epidemias se ha sugerido como una adaptación a un mosquito vector alternativo (*Aedes albopictus*), mientras que una mutación única (GP-A82V) en el virus del Ébola aumenta la tasa de infección de células humanas<sup>7</sup>. La mutación que originó al SARS-CoV-2 lo ha dotado de una mayor transmisibilidad y virulencia que sus antecesores.

Más allá de estas evidencias recientes y de las series o películas donde los mutantes siempre tienen superpoderes, si bien esta increíble capacidad de mutar alimenta el motor del cambio evolutivo, la mayoría de las mutaciones afectan negativamente algunos aspectos de la función del virus y se eliminan por selección natural. De hecho, las mutaciones pueden producir que un virus sea más o menos virulento, pero no necesariamente siempre más virulento. Por lo tanto, aunque una mutación pueda aparecer fácilmente en una población de virus, no va a propagarse a altas frecuencias a menos que sea selectivamente ventajoso, es decir, que permita dejar mayor número de descendientes en la próxima generación (aunque tratándose de virus los descendientes se llamen “copias” y el tiempo generacional sea muy breve). Al mismo tiempo, los rasgos epidemiológicamente relevantes y complejos como el modo de transmisión y la virulencia son controlados por múltiples genes que probablemente estén sujetos a estrictas restricciones evolutivas porque requieren múltiples mutaciones para evolucionar. Esta virulencia aumentará o disminuirá solo si aumenta la tasa de transmisión del virus, o sea, el número de “descendientes” de ese virus. Más aún, una virulencia excesiva podría llegar a reducir su transmisibilidad si el huésped está demasiado enfermo como para exponer a otros posibles huéspedes<sup>7</sup>.

## Los huéspedes

Ahora hablemos de los potenciales huéspedes, que en este caso en particular venimos a ser nosotros. A pesar de la ignorancia de quienes afirman que nada hemos avanzado desde la mal llamada gripe española de 1918 o aun desde la peste negra del Medioevo, y más allá de las

teorías conspirativas más absurdas, lo cierto es que el genoma de 30.000 letras de ribonucleótidos del nuevo virus se descifró en menos de un mes y que hemos sido testigos, exceptuando patéticas excepciones, de medidas de protección y aislamiento concertadas mundialmente por la OMS, sin precedentes en la historia humana<sup>8</sup>. En nuestro medio de la reproducción asistida, hemos visto crecer una red mundial de lazos entre sociedades científicas con recomendaciones que han ido actualizándose vertiginosa y generosamente. En este momento sabemos que el riesgo de contaminación viral hacia y desde gametos y embriones en el laboratorio de FIV es mínimo<sup>1</sup>, a pesar de que hay evidencia de que 27 virus, en un amplio rango de familias de virus, pueden encontrarse en el semen humano<sup>9</sup>. En cuanto al riesgo de contaminación cruzada mediada por nitrógeno líquido, hay suficiente información para desestimar esa posibilidad, una cuestión de la cual ya teníamos conocimiento desde los tiempos de la pandemia del HIV<sup>10</sup>. Se han tomado efectivas medidas de distanciamiento<sup>11</sup>, de estrategias de trabajo de los equipos de embriólogos<sup>12</sup> y de protección del personal y los pacientes<sup>13,14</sup>.

La Asociación de Científicos Clínicos en Reproducción Asistida del Reino Unido (ARCS, por su sigla en inglés) y la Sociedad Británica de Fertilidad (BFS) han propuesto cinco principios claves para enfrentar esta pandemia<sup>15</sup>:

- La reanudación de los servicios de fertilidad debe llevarse a cabo de manera que se reduzcan al mínimo las posibilidades de propagación de la infección por COVID-19 a los pacientes y al personal de la clínica de fertilidad.

- Los centros deben garantizar un enfoque justo y transparente a cualquier política de priorización (es decir, a cualquier acción o proceso de decidir la importancia relativa o la urgencia de las cosas).

- La reanudación de los tratamientos no debe derivar en una carga indebida para el sistema nacional de salud.

- Las pacientes deben estar completamente informadas sobre el efecto de la pandemia en sus tratamientos y dar su consentimiento para recibir un tratamiento de fertilidad en este momento.

- El sector de la fertilidad deberá adoptar cambios sostenibles en las prácticas de trabajo que ayuden a construir resiliencia contra cualquier aumento futuro en la propagación de COVID-19 en la comunidad.

Pero las recomendaciones hay que cumplirlas, de lo contrario no tiene sentido haberlas escrito. Puede ser que los lineamientos de estas sociedades nos parezcan un tanto exagerados o demasiado puntillosos, y que con un poco menos de detalle sería probablemente suficiente. Puede ocurrir que con el tiempo se demuestre que esto es así, o no. Esto sucede cuando se desconoce el verdadero sentido de lo que se han dado en llamar *Las leyes de Murphy*<sup>16</sup>, las cuales a menudo se citan como una definición popular de la mala suerte. Más allá del clásico corolario de “la tostada cae sobre la alfombra del lado de la mermelada”, las verdaderas leyes de Edward Murphy sugieren, muy por el contrario, lo siguiente:

- Si algo puede salir mal, saldrá mal.
- Si hay dos o más formas de hacer algo y una de ellas puede conducir a un desastre, entonces alguien lo hará.

En una obra en construcción los albañiles tienen la orden de llevar sus herramientas en la cartuchera y no dejarlas sueltas por cualquier lado, porque pueden caer al vacío y lastimar a alguien. Murphy nos dice que si hay una mínima posibilidad de que algo vaya a salir mal (en nuestro ejemplo, que se caiga una herramienta al vacío e impacte sobre la cabeza de alguien), ineludiblemente va a ocurrir. Esta aparente irrevocabilidad de los hechos tiene, sin embargo, un antídoto: el casco de uso obligatorio.

No obstante, en general, solemos pensar en sentido opuesto: *es raro que eso ocurra; a mí nunca me va a pasar; ¿cómo va a caer justo sobre mi cabeza?*

Supongamos que es así de cierto, pero veamos qué nos dice la segunda ley. Hay dos formas de guardar las herramientas mientras no se usan: en la cartuchera, convenientemente aseguradas, o tiradas por cualquier parte. Una de ellas conduce al desastre. Y alguien, en algún momento, lo va a hacer. Nuestra mente, en general, no funciona de esta manera, pero debería. En el caso de la reanudación de la actividad en las clínicas de fertilidad, los cascos son las recomendaciones de las sociedades nacionales e internacionales mencionadas.

Si hay una cierta obstinación en seguir pensando de forma opuesta a Murphy es porque está haciendo falta un análisis de costo-beneficio.

### **El costo de no cumplir las normativas**

¿Cuál sería el beneficio de no cumplir las normas? En principio se ahorraría algo de dinero, tiempo y complicaciones: nada de comprar más guantes y barbijos que lo estrictamente necesari-

rio, ni incómodas máscaras, ni de distanciar a los pacientes en las salas de espera, ni de espaciar las punciones y transferencias embrionarias.

Analicemos el costo de tal decisión: si se infecta alguien del personal se deberá aislar a los que estuvieron con esta persona, con lo cual habrá menos gente para hacer el trabajo, una situación difícil de sobrellevar en un contexto tan especializado como un laboratorio de FIV.

### **El beneficio de cumplir las normativas**

¿Cuál sería el costo de cumplir las normas? En principio, un mayor gasto en una época desfavorable económicamente y una serie de incomodidades varias (p. ej., usar barbijo todo el tiempo o máscaras de protección facial).

¿El beneficio? Nada menos que una clínica libre de riesgos inaceptables.

Para lograr esto es fundamental mantenerse alerta constantemente y ser estricto en el cumplimiento de los protocolos, no cansarse ni acostumbrarse a una rutina que vaya perdiendo fuerza a medida que pasa el tiempo. La firma de códigos de conducta implica aceptarlos y cumplirlos. Resulta inadmisibles que alguien cumpla las normas en una institución y luego vaya a un asado con amigos o a una fiesta familiar. Por fortuna, la firma de estos compromisos tiene aún un peso simbólico que no se ha perdido. La versión 1.0 de las recomendaciones de la ARCS y la BFS decía que los centros de fertilidad debían tener actitudes claras y transparentes. Hay algo que el mejor programa de control de riesgos es incapaz de detectar porque depende de la ética de todos los que trabajamos en las clínicas de fertilidad: los comportamientos inescrupulosos o ajenos a la responsabilidad profesional<sup>17,18</sup>.

La situación de las donantes de ovocitos merece un párrafo especial. En general, en los *webinars* y recomendaciones aparece como preocupación principal la salud de las pacientes y del bebé que se va a gestar. Eso es lógico porque se supone que el riesgo de transmisión viaja desde una donante infectada a una receptora. Pero, ya que las donantes son, en sentido amplio, también nuestras pacientes, ¿cuáles deberían ser nuestros cuidados hacia ellas? Las donantes conforman un grupo particular de riesgo, dado que en su mayoría viven lejos de las clínicas de FIV, emplean transportes públicos, habitan en lugares pequeños o de pocos ambientes o en barrios donde resulta difícil cumplir el distanciamiento

social. Por todas estas razones, merecen nuestros mayores cuidados. Son, entonces, inadmisibles los riesgos relacionados con:

- El traslado desde su domicilio hasta las clínicas y su retorno al hogar.

- Las complicaciones clínicas que puedan originarse tanto durante los estímulos ováricos como en las punciones foliculares, lo cual puede significar, además, la ocupación de un lugar de internación, tan limitado en los tiempos que corren.

Se podría argumentar, con justa razón, que existe una probabilidad de que nunca ocurra una infección en nuestro lugar de trabajo y que, entonces, se haya incurrido innecesariamente en gastos e inconvenientes infundados. Puede ser que sea así, pero recordemos que si algo malo puede ocurrir, va a ocurrir. Y que seguramente alguien va a ocuparse de llevarlo a cabo.

Por último: la tostada cae sobre la alfombra del lado de la mermelada porque la distancia mesa-piso no es lo suficientemente larga como para permitirle dar una vuelta completa<sup>16</sup> o porque el lado con mermelada es más pesado y no porque el Universo esté contra nosotros (aunque también es cierto que, a veces, un poquito en contra, está).

## REFERENCIA

1. ESHRE news and statements. Assisted Reproduction and Covid-19. An updated statement from ESHRE. Disponible en: [https://www.eshre.eu/Press-Room/ESHRE-News#COVID19\\_April2](https://www.eshre.eu/Press-Room/ESHRE-News#COVID19_April2).
2. ASRM. Patient management and clinical recommendations during the coronavirus (Covid-19) pandemic. Disponible en: <https://www.asrm.org/news-and-publications/covid-19/statements/patient-management-and-clinicalrecommendations-during-the-coronaviruscovid-19-pandemic/>.
3. SAMeR ([www.samer.org](http://www.samer.org)). Manual operativo de gestión de riesgos COVID-19 en centros de reproducción asistida (fecha de publicación: 7-5-2020). Manual operativo de gestión de riesgos COVID-19 en donantes de gametos, preservación de la fertilidad y oncofertilidad (fecha de publicación: 5-6-2020).
4. The Lancet Digital Health 2020;2:e268. Disponible en: [www.thelancet.com/digital-health](http://www.thelancet.com/digital-health).
5. Mortimer ST, Mortimer D. Quality and Risk Management in the IVF Lab. 2nd ed. Cambridge University Press; 2015.
6. De Wit E, Van Doremalen N, Falzarano D, Munster VJ. SARS and MERS: recent insights into emerging coronaviruses. *Nat Rev Microbiol* 2016;14:523-34.
7. Grubaugh ND, Petrone ME, Holmes EC. We shouldn't worry when a virus mutates during disease outbreaks. *Nat Microbiol* 2020;5:529-30.
8. Nay O, Kieny M-P, Marmora L, Kazatchkine M. The WHO we want. *Lancet* 2020. Disponible en: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)31298-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)31298-8).
9. Salam AP, Horby PW. The Breadth of Viruses in Human Semen. *Emerg Infect Dis* 2017;23:1922-4.
10. Cobo A, Bellver J, De los Santos MJ, Remohí J. Viral screening of spent culture media and liquid nitrogen samples of oocytes and embryos from hepatitis B, hepatitis C, and human immunodeficiency virus chronically infected women undergoing in vitro fertilization cycles. *Fertil Steril* 2012;97:74-8.
11. Prather KA, Wang CC, Schooley RT. Reducing transmission of SARS-CoV-2. *Science* 2020; Disponible en: <https://doi.org/10.1126/science.abc6197>.
12. De Santis L, Anastasi A, Cimadomo D, Klinger FG, Licata E, Pisaturo V, Sosa Fernandez L, Scarica C. COVID-19: the perspective of Italian embryologists managing the IVF laboratory in pandemic emergency. *Hum Reprod* 2020;35:1004-5.
13. Chu DK, Akl EA, Duda S, Solo K, Yaacoub S, Schünemann HJ, on behalf of the COVID-19 Systematic Urgent Review Group Effort (SURGE) study authors. Physical distancing, face masks, and eye protection to prevent person-to-person transmission of SARS-CoV-2 and COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *Lancet* 2020. Disponible en: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)31142-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)31142-9).
14. Requena A, Cruz M, Vergara V, Prados N, Galliano D, Pelliçer A. A picture of the covid-19 impact on IVIRMA fertility treatment clinics in Spain and Italy. *Reprod Biomed Online* 2020;41:1-5.
15. ARCS (The Association of Reproductive and Clinical Scientists), BFS (British Fertility Society). U.K. best practice guidelines for reintroduction of routine fertility treatments during the COVID-19 pandemic. Prepared by the ARCS/BFS COVID working group on behalf of the Executive Committees of ARCS and the BFS. Published on the ARCS and BFS websites Version 2.0: date of publication: 12.06.20.
16. Matthews RAJ. Tumbling toast, Murphy's Law and the fundamental constants. *Eur J Phys* 1995;16:172-6.
17. Bender L. To err is human'. ART mix-ups: A labor-based, relational proposal. *J Gender Race & Justice* 2006;9:1-90.
18. Harper JC, Kennett D, Reisel D. The end of donor anonymity: how genetic testing is likely to drive anonymous gamete donation out of business. *Hum Reprod* 2016; 1:1135-40.

## La hormona paratiroidea (PTH) induce la pérdida ósea a través de una expansión dependiente de microbios de las células T positivas para TNF y de las células Th17 intestinales

### *PTH induces bone loss via microbial-dependent expansion of intestinal TNF+ T cells and Th17 cells*

Mingcan Yu, Abdul Malik Tyagi, Jau-Yi Li, Jonathan Adams, Timothy L. Denning, M. Neale Weitzmann, Rhenallt M. Jones, Roberto Pacifici

Nature Communications 2020;11(1):468. doi: 10.1038/s41467-019-14148-4.

#### RESUMEN

La pérdida ósea es una complicación frecuente, aunque no universal, del hiperparatiroidismo. Usando ratones libres de gérmenes o tratados con antibióticos demostramos que la hormona paratiroidea (PTH) causó una pérdida ósea solo en los ratones cuya microbiota estaba enriquecida por los taxones de bacterias filamentosas segmentadas inductores de células Th17. Las microbiotas que contenían bacterias filamentosas segmentadas permitieron a la PTH expandir las células T positivas para TNF y las células Th17, y aumentar su egreso mediado por el receptor 1 de esfingosina-1-fosfato del intestino y su re-

clutamiento en la médula ósea, lo que causa la pérdida ósea. El reclutamiento de las células T positivas para TNF a la médula ósea mediado por el receptor de quimiocinas CXCR3 reguló de manera positiva al quimioatrayente de Th17 CCL20, el cual reclutó las células Th17 a la médula ósea. Este estudio revela los mecanismos para la comunicación entre el intestino y el hueso mediada por la microbiota en modelos murinos de hiperparatiroidismo que podrían ayudar a predecir su curso clínico. Tener como blanco la microbiota intestinal o la migración de las células T podría representar una estrategia terapéutica contra el hiperparatiroidismo.

# NUEVOS CURSOS ONLINE

## SAEGRE A LA CARTA

Directoras: Dra. Blanca Campostrini,  
Dra. María Fernanda González del Chazal,  
Dra. Valeria Servetti

Coordinadora: Dra. Susana Nevoran

Secretaria: Dra. M. Cecilia López Screnci

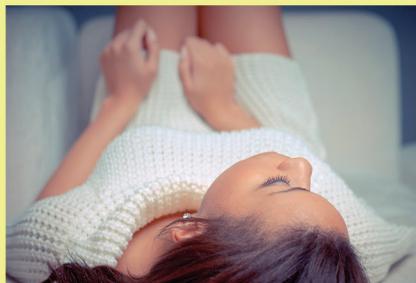
### CLASES MAGISTRALES POR EXPERTOS

- \* Amenorrea
- \* Fertilidad
- \* Alteraciones del ciclo
- \* Endocrinopatías
- \* SOP
- \* Osteoporosis
- \* Anticoncepción
- \* Psiconeuroinmunoendocrinología
- \* Climaterio
- \* Adolescencia
- \* Fertilidad

OTROS CURSOS  
Y MÁS INFORMACIÓN EN...  
[www.saegre.org.ar](http://www.saegre.org.ar)

SAEGRE

## 01 Nuevos enfoques en el manejo del dolor pélvico crónico y endometriosis.



Directores: Dr. Javier Singla,  
Dra. Sandra Demayo,  
Dra. Yanina Azás

Coordinador:  
Bíoq. Guillermo Gutiérrez

## 02 Disruptores endócrinos e impacto en la salud.



Directoras: Dra. Valeria Servetti,  
Dra. Andrea Randi, Dra. Florencia  
Chiappini

Coordinadoras: Dra. Lorena  
Giannoni, Dra. Agostina Piacentini

## 03 Sexualidad en la mujer.



Directores: Dr. Pablo Carpintero,  
Dra. Lorena Giannoni

Coordinadores Dr. Gustavo Littera  
Dra. Silvana Pérez Andrada

## 04 Imágenes en endocrinología ginecológica.



Directores: Dra. Carolina Chacon  
Dr. Marín Rotella, Dra. Valeria  
Servetti, Dra. Daniela Stóisa

Coordinadores: Dra. Pamela  
Causa, Dra. Laura Portenza

Con la realización de 2 o más cursos  
**10% de descuento**

Los cursos otorgan créditos para la certificación del Título de  
Especialista en Endocrinología Ginecológica y Reproductiva (SAEGR)



# Mafel

PROGESTERONA MICRONIZADA

UN TRATAMIENTO  
**NATURAL**  
para cada mujer

El parto pretérmino se asocia con el 70% de los casos de mortalidad neonatal y en el 50% de los casos de discapacidad del neurodesarrollo a largo plazo.<sup>1</sup>

**Mejor absorción y mayor biodisponibilidad.**

**No posee efectos teratogénicos.**

**Normaliza el ciclo menstrual en duración y cantidad de sangrado.**



**Referencia: 1-** Romero, Roberto y Nicolaides, Kypros y Conde-Agudelo, Agustin y Tabor, Ann y O'Brien, John M. y Cetingo, Elcin y Da Fonseca, Eduardo y Creasy, George W. y Klein, Katharina y Rode, Line y Soma-Pillay, Priya y Fusey, Shalini y Cam, Cetin y Alfirevic, Zarko y Hassan, Sonia S. y (2012), "LA ADMINISTRACIÓN DE PROGESTERONA POR VÍA VAGINAL A MUJERES CON ACORTAMIENTO DEL CUELLO UTERINO ASINTOMÁTICO DETECTADO POR ECOGRAFÍA EN EL SEGUNDO TRIMESTRE DISMINUYE EL PARTO PRETÉRMINO Y LA MORBILIDAD NEONATAL: REVISIÓN SISTEMÁTICA Y METAANÁLISIS DE DATOS DE PACIENTES INDIVIDUALES." Revista del Hospital Materno Infantil Ramón Sardá, Vol. 31, núm.4, pp.146-171 [Consultado: 14 de Mayo de 2020]. ISSN: 1514-9838. Disponible en : <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=912/91225242001>



UNA COMPAÑÍA  
**Megalabs**

Vuelta de Obligado 2775 (C1428ADS). Buenos Aires  
Tel. (54-11) 4781 25 52 . Fax (54 11) 4788 26 25  
[www.raymos.com](http://www.raymos.com) . [laboratorios@raymos.com](mailto:laboratorios@raymos.com)