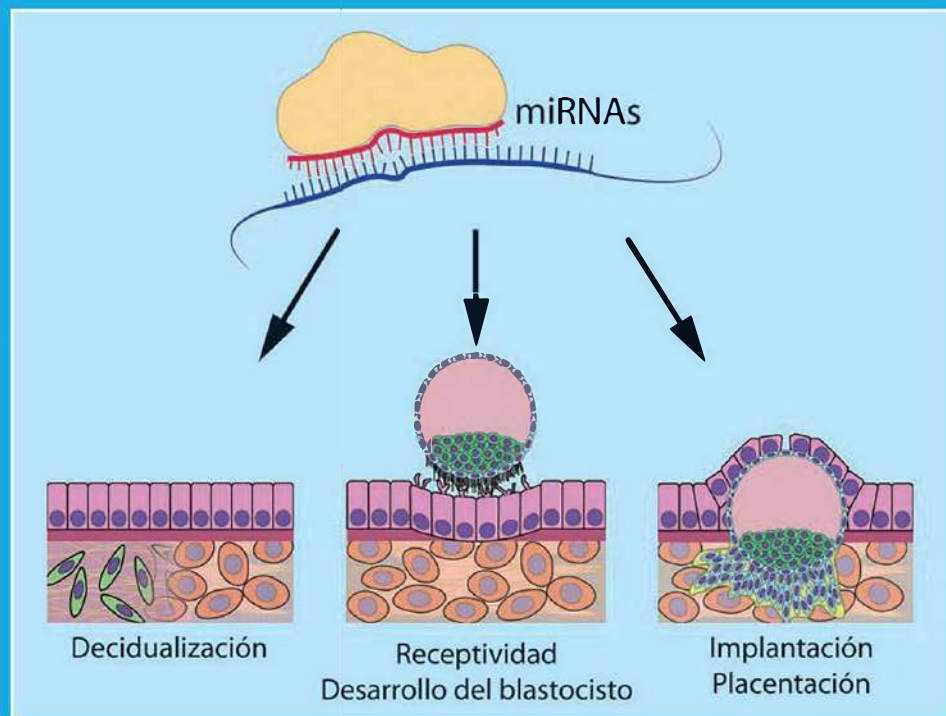


# Revista de la Sociedad Argentina de Endocrinología Ginecológica y Reproductiva



## Contenidos de este número:

### ACTUALIZACIÓN

- Micro-RNA en la regulación de la función endometrial y decidual

### REVISIÓN

- Fracturas vertebrales luego de la discontinuación del denosumab. Revisión del tema y análisis de nuestra casuística
- Enriquecimiento ambiental: un enfoque experimental para prevenir el parto prematuro. ¿Podemos "enriquecer el ambiente" de las embarazadas?

### COMENTARIO BIBLIOGRÁFICO

- Pruebas genéticas de preimplantación para detectar la aneuploidía: un castillo construido sobre arena

### NOVEDAD BIBLIOGRÁFICA

- RANKL regula la función reproductiva del macho

# ColpoEstriol<sup>®</sup> estriol

LA ALTERNATIVA ESTRÓGENA NATURAL



## Presentaciones

Envases con 15 g de crema vaginal, con aplicador  
Envases con 15 óvulos

# Neo Pelvicillín

Metronidazol / Miconazol / Neomicina / Polimixina B / Centella Asiática

RÁPIDO ALIVIO DE LA SINTOMATOLOGÍA  
DE LA VULVOVAGINITIS DESDE EL COMIENZO



## Presentación

Envases con 6 óvulos





# 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.**

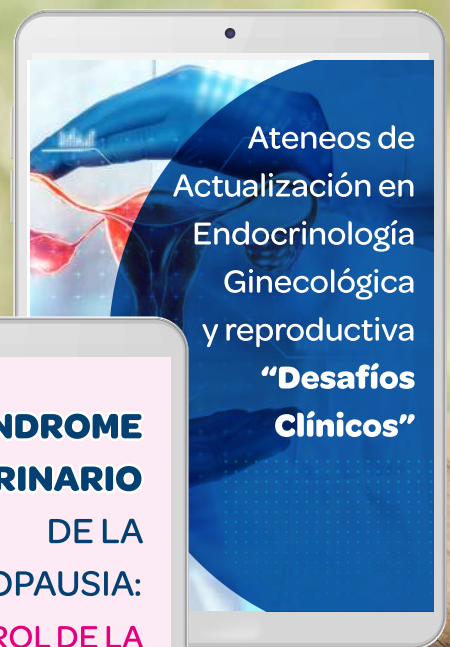
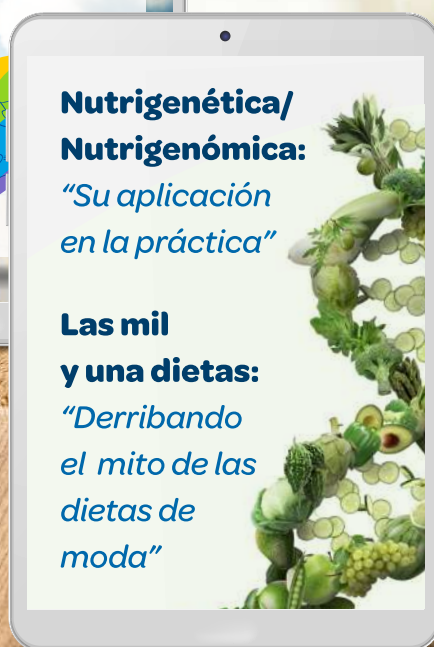
**No posee efectos teratogénicos.**

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

Referencia: 1- Romero, Roberto y Nicolaides, Kypros y Conde-Agudelo, Agustín y Tabor, Ann y O'Brien, John M. y Cetingoz, 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 Alfrevic, 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>

# ¿Te los perdiste? ¿Los querés volver a ver?

**Encontralos en [www.saegre.org.ar](http://www.saegre.org.ar)  
(disponibles en el espacio exclusivo para socios)**



# Revista de la Sociedad Argentina de Endocrinología Ginecológica y Reproductiva

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



Año 29 • Volumen XXIX • N° 1 • Enero-Junio de 2022 • ISSN 1515-8845 (impresa) ISSN 2469-0252 (en línea)

## COMISIÓN DIRECTIVA 2018

Presidenta: **Dra. Sandra Demayo**

## COMITÉ EDITORIAL

### Directora:

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

### Secretaria:

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

### Integrantes:

**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. 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, Ciudad de Buenos Aires, Argentina.

**Dra. Rosanna Ramhorst**, Doctora en Ciencias Biológicas, Universidad de Buenos Aires (UBA), Investigadora Principal 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.  
Director: Facundo Lugones.  
Jefa de Redacción: Lic. María Fernanda Cristoforetti.  
Diseñadora Gráfica: Marcela Míguez  
Av. 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 29 • Volumen XXIX • N° 1 • Enero/Julio de 2022

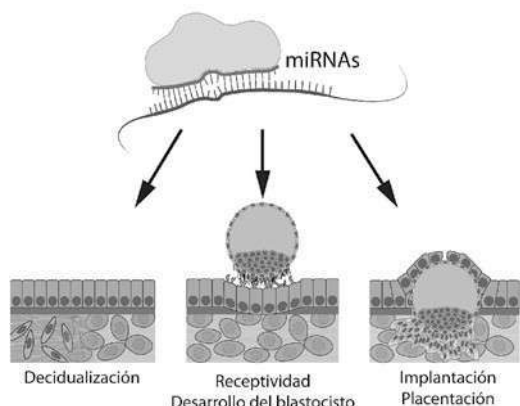
Imprenta: Sello Editorial Lugones® Editorial Biotecnológica S.R.L., Curapaligüe 202, 9° B (1406), CABA, Argentina

## Tapa

Micro-RNA en la regulación de la función endometrial y decidual

*Micro-RNA in the regulation of endometrial and decidual function*

Autoras: Cintia Romina Gatti, Romina Higa, Sabrina Lorena Roberti y Alicia Jawerbaum



## Directores de Cursos Bianuales

### Curso Superior Buenos Aires

Prof. Dra. Blanca Campostrini, Dra. Karina Tozzi, Dra. Sandra Demayo, Dra. Valeria Servetti

### Curso Superior Córdoba

Prof. Dr. Natalio Kuperman, Dra. Viviana Mesch, Dra. Mercedes Lasaga, Dr. Domingo Mugnolo

## Directores de Cursos Anuales

### I Curso Anual en Endocrinología Ginecológica y Reproductiva - Mendoza

Dra. Lorena Giannoni, Dra. Yamile Mocarbel, Dra. Sonia García, Dra. Sara Papa, Dra. Fabiana Sayegh

### Curso Anual en Endocrinología Ginecológica y Reproductiva - Patagonia

Dr. Fabián Gómez Giglio, Dra. Karina Sternberg, Dra. Carolina Yulan, Dra. Gisella Di Pietro

### I Curso Anual en Endocrinología Ginecológica y Reproductiva - Santa Fe

Prof. Dr. Manuel Nölting, Dra. María Franchina, Dra. Delia Ostera, Dra. Fernanda González de Chazal, Dra. Soledad Belingeri

### I Curso Internacional Universitario

### Anual en Endocrinología Ginecológica y Reproductiva

Prof. Dr. Manuel Nölting, Prof. Dra. Blanca Campostrini, Prof. Dr. Natalio Kuperman, Dra. Sandra Demayo

## Coordinadores de Cursos Bianuales

### Buenos Aires

Dra. Silvana Perez Andrada, Dra. Cecilia López Screnci, Dra. Yanina Azas

### Córdoba

Dra. Vanina Drappa, Dra. Bárbara Seybold, Dra. Solange Cieri

## Coordinadores de Cursos Anuales

### Mendoza

Dra. Agustina Piacentini, Dra. Bárbara Seybold, Dra. Leticia Ojeda, Dra. Raquel Martín

### Patagonia

Dra. Guadalupe Rolo, Dra. Ana Ferrer

### Santa Fe

Dr. Martín Rotella, Dra. Carolina Simonet, Dra. Fernanda Lamuraglia

### Curso Universitario Internacional

Dra. Valeria Servetti, Dra. Fernanda González de Chazal, Dra. Lorena Giannoni, Dra. Bárbara Seybold, Dra. Mercedes Lasaga, Dra. Carolina Simonet

## Comité de Certificación y Recertificación

Dra. Estela D. Isa, Dra. María Franchina

### *Miembros:*

Dra. María Fernanda González de Chazal, Prof. Dr. Manuel Nölting

## Comité de Comunicación Institucional

Prof. Dr. Natalio Kuperman, Prof. Dra. Blanca Campostrini, Dra. Lorena Giannoni, Dra. Valeria Servetti, Dra. Fernanda González de Chazal, Dra. Yanina Azas

## Directores Filiales

### Filial Patagonia

Dr. Fabián Gómez Giglio, Dra. Carolina Yulan, Dra. Gisella Di Pietro

### Filial NOA

Dr. Adrián Char

### Filial Litoral

Dra. Graciela López, Dra. Mariana Degani

### Filial Centro

Dra. María José Iturria, Dra. Delia Ostera, Dra. Sandra Antista

### Filial Cuyo. Sede San Juan

A definir

### Filial Córdoba

Prof. Dr. Natalio Kuperman, Dr. José Sad

## 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 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

- Micro-RNA en la regulación de la función endometrial y decidual 1  
Cintia Romina Gatti, Romina Higa, Sabrina Lorena Roberti y Alicia Jawerbaum

### REVISIÓN

- Fracturas vertebrales luego de la discontinuación del denosumab. Revisión del tema y análisis de nuestra casuística 8  
Carolina Pelegrin, Fernando Jerkovich y María Belén Zanchetta

### TRABAJO ORIGINAL

- Enriquecimiento ambiental: un enfoque experimental para prevenir el parto prematuro. ¿Podemos “enriquecer el ambiente” de las embarazadas? 16  
Julieta Aylen Schander, Carolina Marvaldi, Fernanda L. de la Cruz Borthiry, Julieta Aisemberg, Federico Jensen, Manuel Luis Wolfson y Ana María Franchi

### COMENTARIO BIBLIOGRÁFICO

- Pruebas genéticas de preimplantación para detectar la aneuploidía: un castillo construido sobre arena 26  
Gleicher N, Patrizio P, Brivanlou A  
Comentarios: Dr. Alberto Valcarcel, Dra. Soledad Andersen

### NOVEDAD BIBLIOGRÁFICA

- RANKL regula la función reproductiva del macho 29  
Blomberg Jensen M, Andreassen CH, Jørgensen A, Nielsen JE, Juel Mortensen L, Boisen IM, Schwarz P, Toppari J, Baron R, Lanske B, Juul A

## INDEX

### UPDATE

- *Micro-RNA in the regulation of endometrial and decidual function* 1  
*Cintia Romina Gatti, Romina Higa, Sabrina Lorena Roberti y Alicia Jawerbaum*

### REVIEW

- *Vertebral fractures after denosumab discontinuation. Literature review and analysis of our cases* 8  
*Carolina Pelegrin, Fernando Jerkovich y María Belén Zanchetta*

### ORIGINAL ARTICLE

- *Environmental enrichment: an experimental approach to preventing preterm birth. Can we “enrich” pregnant women’s environment?* 16  
*Julieta Aylen Schander, Carolina Marvaldi, Fernanda L. de la Cruz Borthiry, Julieta Aisemberg, Federico Jensen, Manuel Luis Wolfson y Ana María Franchi*

### BIBLIOGRAPHIC COMMENT

- *Preimplantation genetic testing for aneuploidy: a castle built on sand* 26  
*Gleicher N, Patrizio P, Brivanlou A*  
*Comments: Dr. Alberto Valcarcel, Dra. Soledad Andersen*

### NOVEL ARTICLE

- *RANKL regulates male reproductive function* 29  
*Blomberg Jensen M, Andreassen CH, Jørgensen A, Nielsen JE, Juel Mortensen L, Boisen IM, Schwarz P, Toppari J, Baron R, Lanske B, Juul A*

## 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@lifeleuven.be

### Actualizaciones y Revisiones

Se deberá incluir un resumen de menos de 250 palabras en castellano y en inglés, y hasta 6 palabras clave.

### Trabajos originales de investigación

Se deberá configurar el manuscrito de la siguiente forma: Resumen en castellano e inglés, que deberá incluir el objetivo, diseño, metodología, los resultados y las conclusiones, de extensión no superior a las 250 palabras. Hasta 6 palabras clave. Secciones: Introducción; Materiales y métodos; Resultados; Discusión; Agradecimientos; Referencias; Tablas; Figuras; Epígrafes.

### Casos clínicos

Los casos clínicos deben ser concisos, informativos y con un límite de hasta 10 páginas a doble espacio, con hasta dos tablas/figuras.

### Correo de lectores

Esta sección consiste en un espacio para comentarios de artículos publicados o comunicaciones de interés. Las cartas no deben exceder las 600 palabras, a doble espacio y con un límite de hasta 10 referencias. Incluir dirección completa, teléfono/fax y dirección de correo electrónico. No incluir resumen ni título en inglés.

El editor de la REVISTA SAEGRE se reserva el derecho de acortar las cartas que no se ajusten a las especificaciones mencionadas y realizar todo cambio que considere necesario con el objetivo de mantener el estilo de la Revista.

### Referencias bibliográficas

Se solicita prestar especial atención para incluir y utilizar el formato apropiado al citar las referencias bibliográficas. Se debe utilizar el

estilo Vancouver. El número de referencias máximo por artículo es 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

1. Colson JH, Armour WJ. Sports injuries and their treatment, 2<sup>nd</sup> ed. rev. London: S. Paul; 1986:478.

1. 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.

### 2. Abreviaturas y símbolos

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

### 4. Tablas, ilustraciones, epígrafes y permisos

#### 5. • Tablas

6. 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).

#### 7. • Ilustraciones y epígrafes

8. 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.

#### 9. • 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.



# Micro-RNA en la regulación de la función endometrial y decidual

## Micro-RNA in the regulation of endometrial and decidual function

Cintia Romina Gatti, Romina Higa, Sabrina Lorena Roberti y Alicia Jawerbaum

Universidad de Buenos Aires, Facultad de Medicina

Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Universidad de Buenos Aires, Laboratorio de Reproducción y Metabolismo, Centro de Estudios Farmacológicos y Botánicos (CEFYBO), Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

Contacto de la autora: Cintia Romina Gatti

E-mail: gatticintia90@gmail.com

Correspondencia: Paraguay 2155, piso 17. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

Recibido: 7/9/2021

Aceptado: 10/9/21

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

### Resumen

Los microRNAs son moléculas cortas de ARN que actúan como moduladores de la expresión génica y cobran relevancia tanto en contextos fisiológicos como en diferentes patologías. Se conocen múltiples microRNAs con función reguladora en procesos de reproducción femenina, incluyendo la ovogénesis, la fertilización, la implantación y la placentación. Su desregulación se ha asociado a trastornos reproductivos como el síndrome de ovario poliquístico y la endometriosis. La estabilidad de los microRNAs en el entorno extracelular permite considerarlos como posibles biomarcadores de estados patológicos. En este trabajo se revisan los principales microRNAs, que en la actualidad se conoce están involucrados en procesos reproductivos fisiológicos y patológicos, como así también su posible función como biomarcadores de patologías reproductivas.

**Palabras clave:** microRNA, decidua, biomarcador, trastorno reproductivo

### Abstract

*MicroRNAs are short ARN molecules capable of modulating gene expression, with relevant functions in both physiological and pathological contexts. MicroRNAs regulate different female reproductive processes, including oogenesis, fertilization, implantation and placentation. Their deregulation has been associated to reproductive impairments such as polycystic ovary syndrome and endometriosis. Due to their stability in the extracellular milieu, microRNAs are considered possible biomarkers of pathological states. In this review, the main currently known microRNAs involved in reproductive processes, reproductive diseases, as well as their putative function as biomarkers of reproductive pathologies are discussed.*

**Keywords:** microRNA, decidua, biomarker, reproductive disease

Revista de la Sociedad Argentina de Endocrinología Ginecológica y Reproductiva 2022; Vol. XXIX N° 1 Enero-Junio de 2022: 1-7

Journal of the Argentine Society of Gynecological and Reproductive Endocrinology 2022; Vol. XXIX N° 1 January-June 2022: 1-7

El éxito del embarazo en la mujer depende, en gran medida, de la calidad del embrión y del estado fisiológico del endometrio, la capa de tejido epitelial que recubre el útero. En preparación para la implantación embrionaria y el embarazo, ocurren cambios en el endometrio, los vasos sanguíneos y el estroma que dan lugar a la decidualización<sup>1</sup>. En la mujer, el proceso de deci-

dualización se inicia durante la fase de secreción media de los ciclos menstruales, en respuesta al incremento de hormonas ováricas, estrógenos y progesterona, y en forma independiente de la presencia de un blastocisto implantado<sup>2</sup>.

La decidua es el tejido materno que constituye un microambiente que acompaña al proceso de implantación, capaz de crear una interacción

compleja de morfógenos, citoquinas, reguladores del ciclo celular, factores de transcripción y vías de señalización. La decidua forma parte de la interfaz materno-embriónica que interactúa con el embrión en períodos tempranos de la gestación. Algunas de las funciones de la decidua son: a) controlar la invasión del trofoblasto, b) proporcionar nutrición al embrión antes de que esa función sea ejercida por la placenta, c) participar en los mecanismos que median los cambios inmunitarios que evitan el rechazo de la madre hacia el embrión, y d) generar factores autocrinos y paracrinos que controlan el establecimiento y el mantenimiento del embarazo<sup>3</sup>.

Antes de la implantación, en el embrión fertilizado se llevan a cabo una serie de divisiones celulares para producir células aparentemente idénticas denominadas blastómeros, las cuales dan como resultado la formación del blastocisto. Este se compone de dos poblaciones celulares: las células externas, que forman el trofoectodermo y que dará lugar a la parte de origen embrionario de la placenta, y la masa celular interna que dará lugar al embrión y al endodermo visceral. La implantación es un conjunto de eventos complejos que comienza después de la fecundación y finaliza cuando el blastocisto se encuentra embebido en el estroma endometrial. Este proceso implica una comunicación estrecha entre el endometrio y el blastocisto<sup>4</sup>. Ante el contacto físico y fisiológico entre un blastocisto competente para la implantación y el útero receptivo, se desencadenan los procesos de aposición, adhesión, fijación y penetración que conducirán a una implantación exitosa. En los seres humanos, los blastocistos ingresan en el estroma subepitelial mediante un proceso intrusivo, en el cual es relevante la acción de las células del trofoblasto y su capacidad de penetrar a través del epitelio luminal y la lámina basal en el estroma<sup>5</sup>.

En los últimos años, se ha comenzado a descifrar la importancia de la participación de los micro-RNA a lo largo de este proceso. Se conoce que diversos micro-RNA son secretados tanto por el blastocisto como por el endometrio y actúan como moduladores de la expresión génica. Los micro-RNA son moléculas cortas de RNA no codificantes, de 19 a 25 nucleótidos de tamaño, que regulan postranscripcionalmente la expresión de múltiples genes en un amplio grupo de organismos tanto en contextos fisiológicos como en diferentes patologías. Este campo de estudio cobra mayor impor-

tancia día a día. A medida que se identifica a los micro-RNA como reguladores claves en las redes de expresión génica, se conoce su influencia en muchos procesos fisiológicos y patológicos, y se proponen como biomarcadores prometedores de enfermedades<sup>6</sup>. En general, los micro-RNA no actúan para silenciar por completo sus genes diana, sino que disminuyen su expresión<sup>7</sup>.

El procesamiento de los micro-RNA involucra la proteína Drosha de la familia RNasa III, sintetizada en el núcleo, que procesa un micro-RNA primario largo y lo transporta para generar uno pequeño en forma de horquilla, denominado pre-micro-RNA. Este último es trasladado por la proteína exportina 5 (XPO5) desde el complejo de poro nuclear al citoplasma, donde es escindido por Dicer, en un pequeño dúplex de RNA. Más tarde, la hebra con un extremo relativamente inestable en el lado 5' del dúplex se elige como la hebra guía que se unirá a la familia de proteínas Argonauta (AGO) para formar un complejo efector denominado complejo silenciador inducido por RNA (RISC). RISC es el que ejecuta la función de silenciamiento del RNA o de represión traduccional<sup>8</sup>.

Múltiples estudios muestran que los micro-RNA cumplen una función reguladora en la reproducción femenina y que están involucrados en la regulación de la ovogénesis, fertilización, implantación y placentación<sup>9</sup>. Además, se ha demostrado que la disregulación de los micro-RNA se asocia a trastornos reproductivos, como el síndrome del ovario poliquístico<sup>9</sup> y la endometriosis<sup>10</sup>. Otros estudios revelaron que también pueden secretarse en el entorno extracelular. Estos micro-RNA extracelulares permanecen en formas estables y están protegidos de las RNAsas endógenas, lo que señala que podrían ser biomarcadores no invasivos para la detección y el diagnóstico de afecciones patológicas, incluidos los cánceres<sup>8</sup>.

Los micro-RNA están regulados por mecanismos similares a otros RNA, como la activación o inhibición transcripcional, la represión epigenética y las tasas de degradación controlada. Un 52% de los micro-RNA humanos se encuentran en regiones intergénicas, el 40% dentro de las regiones intrónicas de los genes y el 8% final son exónicos<sup>11</sup>. Los micro-RNA intrónicos están regulados por su gen huésped y se procesan a partir del intrón, pero pueden tener una región promotora distinta. Los micro-RNA intergénicos tienen, en general, elementos promotores independientes.

La señalización en dirección 5 inicia la transcripción de los micro-RNA y puede crear bucles de retroalimentación dirigiéndose a sus propios factores de transcripción<sup>12</sup>.

La importancia de los micro-RNA en el desarrollo embrionario temprano se ha identificado en una gran variedad de especies, desde *Caenorhabditis elegans* hasta los mamíferos. Se comprobó que la regulación génica mediada por micro-RNA es esencial para la embriogénesis adecuada, como lo demuestra la reducción de la supervivencia embrionaria de los embriones mutantes de diferentes especies<sup>13,14</sup>. Se observó que en mutantes con una delección de miR-29b, este micro-RNA podría contribuir a la interrupción de la metilación del DNA por regular la expresión de DNMT3a/b, lo que conduce al bloqueo temprano del desarrollo embrionario en ratones<sup>15</sup>. Al inducir a las células madre embrionarias a diferenciarse en células trofodérmicas y analizando posteriormente los perfiles de expresión de los micro-RNA, se encontró que miR-297, miR-96, miR-21, miR-29c, let-7, miR-214, miR-125a, miR-424 y miR-376a estaban involucrados en la especificación del trofodermo<sup>16</sup>. Además, se encontró que miR-519d, miR-378a-5p, miR-376 y miR-155 regulan la capacidad de migración e invasión de las células trofoblásticas humanas<sup>17,18</sup>.

En otros estudios, las células madre endometriales humanas (hESC) se deciduizaron in vitro mediante la adición de progesterona y estradiol durante 9 días para explorar el efecto de la deciduización en la expresión de micro-RNA. Con esta estrategia, Estella et al. encontraron 26 micro-RNA regulados por aumento y 17 regulados por disminución después de la deciduización in vitro de las células del estroma del endometrio humano<sup>19</sup>. Tochigi et al. hallaron que la transfección de miR-542-3p en células hESC suprimió la expresión génica de la proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina-1 (IGFBP-1), lo que condujo a la supresión de prolactina (PRL) y WNT4, genes marcadores deciduales, y a la inhibición de la deciduización en las células del estroma endometrial humano<sup>20</sup>. Esto señala que miR-542-3p cumple un papel importante en la regulación de la deciduización endometrial.

También en el desarrollo del blastocisto los micro-RNA son fundamentales. Los estudios realizados en blastocistos humanos por Rosenbluth et al. identificaron 754 micro-RNA expresados en blastocistos femeninos y masculinos utilizan-

do un ensayo de micromatrices<sup>21</sup>. Estos autores confirmaron, mediante PCR cuantitativa en tiempo real, que los micro-RNA más expresados eran miR-372, miR-720 y miR-302c. Además, al comparar embriones masculinos con femeninos, descubrieron que el miR-518d-5p estaba 5,6 veces más expresado en los embriones masculinos, lo que indica un cierto grado de diferenciación sexual, incluso, en la etapa de desarrollo de los blastocistos. El miR-518-d pertenece al grupo más grande de micro-RNA que se expresan exclusivamente en la placenta humana, y participa en el desarrollo y la implantación de esta<sup>21</sup>. Los resultados demuestran que los blastocistos humanos expresan una gran cantidad de micro-RNA esenciales para la supervivencia y el desarrollo del embrión, así como para la conservación de la pluripotencia de las células madre.

Por otro lado, Rosenbluth et al. demostraron que los micro-RNA pueden detectarse en medios de cultivo de fertilización in vitro (FIV), donde se expresan de manera diferencial según el método de fertilización, el estado cromosómico y el resultado del embarazo<sup>22</sup>. Esto permite suponer que los micro-RNA se pueden utilizar como biomarcadores potenciales para predecir el éxito después de la FIV.

Un biomarcador ideal de una enfermedad debe ser específico del trastorno, poder detectarse temprano en el proceso de la enfermedad, ser accesible desde el tejido periférico (no invasivo), ser estable y reproducible, y estar asociado a un mecanismo conocido. Existen muchos desafíos para identificar nuevos biomarcadores basados en proteínas, debido a la complejidad de la estructura de estas y sus diversas modificaciones postraduccionales. Los micro-RNA pueden ser más atractivos como biomarcadores por su menor complejidad y especificidad tisular y porque no tienen modificaciones postraduccionales conocidas. Son estables en la sangre, la orina y los tejidos y, por lo tanto, pueden servir como posibles biomarcadores para muchas afecciones. Sin embargo, la precisión y la exactitud de la medición de los micro-RNA no están exentas de desafíos. Un micro-RNA es una secuencia muy corta de nucleótidos con contenido de GC altamente variable, lo que conduce a diferentes propiedades de hibridación y hace que su detección sea muy exigente. Además, la cantidad minúscula presente en el suero o la orina requiere avances adicionales en la tecnología a fin de diseñar técnicas

precisas y altamente sensibles para su detección.

La receptividad endometrial es un evento complejo que ocurre durante la fase lútea media del ciclo menstrual conocida como ventana de implantación. Durante este período, el endometrio desarrolla características que permiten la adhesión e invasión del embrión al epitelio uterino. Esta receptividad está influida por diversos mediadores moleculares, incluidos factores de crecimiento, citoquinas, quimioquinas, lípidos y moléculas de adhesión, cuya expresión está regulada por estrógenos y progesterona<sup>23</sup>.

En este contexto, los micro-RNA se han propuesto como candidatos para desempeñar un papel en la receptividad endometrial. En este sentido, Hu et al. identificaron a Reck como gen diana de miR-21, un micro-RNA altamente expresado en los sitios de implantación en el día 5 de preñez en el ratón, lo que señala su importancia durante la implantación de los embriones<sup>24</sup>. Este micro-RNA se encontró reducido en el día 9 de preñez en ratas con diabetes pregestacional, lo cual denota anomalías en la función decidual<sup>25</sup>. Asimismo, al tiempo de señalar la capacidad de los nutrientes de modular la expresión de micro-RNA, en este mismo estudio se identificó la capacidad nutrigenómica de dietas enriquecidas en PUFA para evitar esta anomalía en la expresión de miR-21 en la decidua de ratas con diabetes pregestacional<sup>25</sup>.

En los seres humanos, diversos estudios evaluaron la expresión de diferentes micro-RNA en la fase de secreción media del endometrio, vinculados a la regulación de la proliferación y diferenciación de las células epiteliales durante los cambios cíclicos endometriales<sup>4</sup>. En uno de ellos, Kuokkannen et al. aislaron células epiteliales endometriales de biopsias tomadas de mujeres en fases proliferativas tardías y de secreción media del ciclo menstrual y compararon los micro-RNA expresados mediante ensayos de micromatrices. Evidenciaron incrementos en la expresión de 12 micro-RNA en el endometrio secretor: miR-29b, miR-29c, miR-30b, miR-30d, miR-31, miR-193a-3p, miR-203, miR-204, miR-200c, miR-210, miR-582-5p y miR-34526. Algunos de estos micro-RNA regulan los genes del ciclo celular, lo que sugiere que pueden suprimir la proliferación celular.

Los micro-RNA también cobran relevancia durante las primeras etapas de formación de la placenta. El papel principal de la placenta como interfaz materno-fetal ha guiado históricamente

nuestra comprensión de los procesos que culminan en complicaciones del embarazo. Las anomalías en el desarrollo placentario podrán conducir a una vascularización placentaria reducida o anómala, alteraciones en el flujo sanguíneo y de oxígeno, y suministro de nutrientes al embrión o a la placenta<sup>27</sup>. Si bien esta última expresa varios micro-RNA durante el embarazo, la función de la mayoría de estos aún no se ha dilucidado por completo<sup>28</sup>. Un estudio que analizó micro-RNA de placentas del primero y el tercer trimestre identificó 208 micro-RNA que promueven funciones distintas y que se expresaron de manera diferente en los dos trimestres<sup>29</sup>. Esto indica que los micro-RNA tienen diferentes papeles durante el desarrollo placentario y que su desregulación podría estar asociada a patologías gestacionales. Por lo tanto, las anomalías en los niveles de estos micro-RNA pueden servir como biomarcadores no invasivos para la placentación defectuosa.

La preeclampsia es una de las principales causas de mortalidad materna y fetal/neonatal. Un estudio mostró que el nivel de miR-210 aumenta, mientras que el miR-152 desciende en muestras de suero de pacientes con preeclampsia<sup>30</sup>. Por lo tanto, la cuantificación de miR-210 en el suero materno podría usarse para mejorar el diagnóstico de preeclampsia utilizando métodos no invasivos. Otro estudio mostró que miR-24, miR-26a, miR-103, miR-130b, miR-181a, miR-342-3p y miR-574-5p aumentan significativamente en el plasma de las embarazadas que padecen una preeclampsia grave<sup>31</sup>.

En la placenta de pacientes con diabetes gestacional, se ha identificado un incremento en la expresión de miR-518d, que es un regulador negativo de la expresión del receptor nuclear PPAR $\alpha$ , clave en la regulación de procesos metabólicos y antiinflamatorios<sup>32,33</sup>. Los recientes resultados de nuestro grupo de trabajo señalan que las dietas enriquecidas con aceite de oliva extra virgen, el cual provee de ácidos grasos insaturados que activan a los receptores nucleares PPAR, evitan tanto el incremento de miR-518d como la reducción de su gen diana PPAR $\alpha$ <sup>34</sup>.

Otra posible función clave de los micro-RNA es su potencial uso como biomarcadores no invasivos en las fallas de la fertilidad. McCallie et al. realizaron reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (qPCR) en blastocistos descongelados vitrificados humanos para un conjunto de 12 micro-RNA encontrados en embriones de ratón y

células madre embrionarias humanas. Observaron por primera vez que los blastocistos morfológicamente similares derivados de las pacientes con infertilidad por factor masculino y poliquistosis ovárica presentaban perfiles de micro-RNA anormales. Más específicamente, en comparación con los blastocistos de mujeres fértiles de control, las pacientes con infertilidad por factor masculino tuvieron una disminución significativa de la expresión de dos micro-RNA (let-7a y miR-24), mientras que las pacientes con poliquistosis ovárica presentaron una expresión reducida en otros seis micro-RNA (let-7a, miR-19a, miR-19b, miR-24, miR-92 y miR-93)<sup>35</sup>. Los genes blanco de estos micro-RNA que se expresan diferencialmente están asociados a procesos biológicos de ontología génica y funciones moleculares vinculados al crecimiento y la transcripción celular, o la unión a ácidos nucleicos<sup>35</sup>.

Estos hallazgos dejan entrever que embriones de calidad similar podrían conducir a resultados clínicos diferentes, quizá producto de perfiles de micro-RNA aberrantes expresados en los embriones que contribuyen al fracaso de la implantación. Si bien es clásico que los micro-RNA regulen negativamente la expresión génica, cabe destacar que para algunos micro-RNA, su acción sobre el gen blanco puede dar lugar a una regulación positiva de su expresión<sup>35</sup>.

Rosenbluth et al. estudiaron la expresión de micro-RNA en embriones euploides y aneuploides. Observaron que algunos de ellos, incluidos miR-141, miR-27b, miR-339-3p y miR-345, se expresaban de manera diferente en embriones euploides y en aneuploides<sup>21</sup>. Los micro-RNA podrían ser, entonces, indicadores tempranos del pronóstico del desarrollo en los embriones humanos desde el comienzo de la concepción, evidente en el día 5 del desarrollo. Los genes blanco de estos micro-RNA que se expresan diferencialmente en embriones euploides al comparar con embriones aneuploides son esenciales para regular el desarrollo, la proliferación celular y la diferenciación. Los resultados de este estudio indican que los micro-RNA identificados podrían ser posibles marcadores de un potencial embrión humano<sup>21</sup>.

Otro posible uso importante de los micro-RNA como biomarcadores es en la endometriosis. En efecto, una de las principales consecuencias de la endometriosis es la infertilidad: el 25-50% de las mujeres con infertilidad son diagnosticadas con endometriosis y también se estima que el 30-50%

de las mujeres con endometriosis son infértiles. La endometriosis, debido a sus efectos desfavorables en la calidad de vida, la productividad laboral y el estado de fertilidad, es un trastorno importante en las mujeres en edad reproductiva<sup>36</sup>. Existe un fuerte vínculo entre la endometriosis y la disregulación de las vías apoptóticas. Se sabe que el número de células de supervivencia ingresadas en la cavidad peritoneal aumenta en estas mujeres debido a una reducción en la tasa de apoptosis durante las etapas tardías secretoras/menstruales y proliferativas tempranas<sup>37,38</sup>.

En investigaciones recientes se estudió cómo los micro-RNA pueden participar en la fisiopatología de la endometriosis al mediar las vías apoptóticas en el endometrio<sup>39</sup>. Los micro-RNA pueden afectar la apoptosis de muchas maneras: pueden regular cada paso de la apoptosis de manera estimulante e inhibitoria. Una vez considerado el papel fundamental de la apoptosis en la endometriosis, se cree que estos RNA podrían mejorar la comprensión de su patogenia y quizá proporcionar también procedimientos diagnósticos y terapéuticos más eficaces<sup>40</sup>.

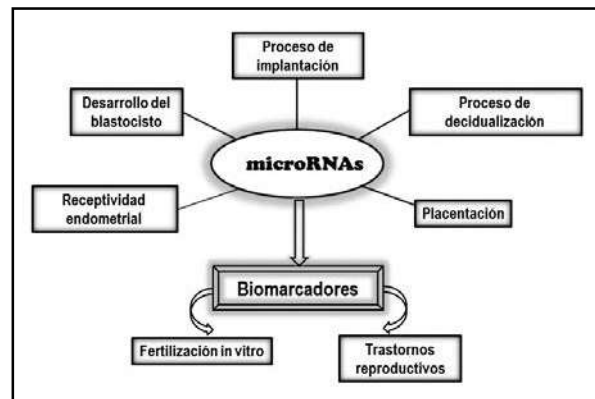
Zhang et al. investigaron el papel de miR-141-3p en la endometriosis y demostraron que está regulado negativamente en el endometrio ectópico. El miR-141-3p es uno de los muchos micro-RNA que contribuyen a la apoptosis al reducir la expresión de BCL-2 e inducir la expresión de Bax. Esto implica que no solo se lo puede considerar un factor relacionado con la patogenia, sino que puede usarse también como un biomarcador y un objetivo terapéutico. Asimismo, miR-9 puede reducir la expresión del mRNA de BCL-2 y, por lo tanto, inducir la apoptosis<sup>41</sup>. Dada la menor expresión observada de este micro-RNA, se piensa que puede estar relacionado con la patogenia de la endometriosis<sup>41</sup>.

Además del posible uso de micro-RNA como biomarcadores en la endometriosis<sup>42</sup>, desde el punto de vista del tratamiento hay algunos estudios que los utilizaron para regular la expresión de diferentes genes y vías de señalización involucradas en la apoptosis. Entre ellos, Petracco et al. caracterizaron la expresión de miR-135a y miR-135b en el endometrio de mujeres con endometriosis y sin ella durante todo el ciclo menstrual y su papel en la regulación de HOXA10, un factor de transcripción importante en la proliferación y diferenciación del endometrio<sup>43</sup>. Encontraron que las mujeres con endometriosis tenían una expre-

sión significativamente mayor de miR-135a y miR-135b en el endometrio de fase proliferativa y una mayor expresión de miR-135b durante la mayor parte del ciclo en comparación con las mujeres sin endometriosis. Esto coincidió con una disminución de la expresión de HOXA10, identificado como un micro-RNA que podría utilizarse como blanco terapéutico para tratar la infertilidad causada por la endometriosis<sup>43</sup>.

Los trabajos descriptos señalan el posible uso de estos micro-RNA como biomarcadores de utilidad para las decisiones diagnósticas y terapéuticas en el tratamiento de la endometriosis. Sin embargo, a pesar de todos los nuevos conocimientos, todavía hay numerosos obstáculos en ese sentido. Entre ellos, la existencia de muchos micro-RNA que están involucrados y son responsables de reprimir la apoptosis y conducir a la progresión de la enfermedad, como también el desconocimiento de posibles efectos secundarios con su administración. Además, es necesario encontrar sistemas de suministro adecuados que puedan aumentar la estabilidad de los micro-RNA, protegerlos contra la degradación dentro del cuerpo y llevarlos al sitio específico de la enfermedad<sup>44</sup>. Aun así, el descubrimiento de los micro-RNA ha abierto nuevos horizontes para desentrañar los mecanismos patológicos de diversas enfermedades y ha dado una nueva dimensión al campo de los biomarcadores<sup>45,46</sup>.

En conclusión, la evidencia actual identifica la importancia de la regulación de la expresión génica mediada por micro-RNA en las diferentes etapas del desarrollo (Figura 1). Con ello, comienza a esclarecerse la función de los micro-RNA de origen endometrial como reguladores de los genes involucrados en el proceso de implantación, las primeras etapas de la formación de la placenta y la gestación. Será importante mejorar la comprensión de la función de los micro-RNA en las fallas implantatorias, en la endometriosis y en las patologías gestacionales, así como determinar su promisorio función como biomarcadores de estados patológicos y su seguimiento. La progresión de este fértil campo de estudio quizás permita, en un futuro, identificar micro-RNA que cumplan una función en la terapéutica de las fallas reproductivas y las patologías de la gestación.



**Figura 1:** Principales procesos de desarrollo donde participan los micro-RNA.

## AGRADECIMIENTO

Este trabajo fue parcialmente financiado por la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica de Argentina (PICT 2017-126).

## REFERENCIAS

- Gellersen B, Brosens JJ. Cyclic decidualization of the human endometrium in reproductive health and failure. *Endocr Rev.* 2014;35:851-905.
- Brosens JJ, Gellersen B. Death or survival--progesterone-dependent cell fate decisions in the human endometrial stroma. *J Mol Endocrinol.* 2006;36:389-98.
- Vinketova K, Mourdjeva M, Oreshkova T. Human decidual stromal cells as a component of the implantation niche and a modulator of maternal immunity. *J Pregnancy.* 2016;2016:8689436.
- Galliano D, Pellicer A. MicroRNA and implantation. *Fertil Steril.* 2014;101:1531-44.
- Dey SK, Lim H, Das SK, et al. Molecular cues to implantation. *Endocr Rev.* 2004;25:341-73.
- Baek D, Villen J, Shin C, Camargo FD, Gygi SP, Bartel DP. The impact of microRNAs on protein output. *Nature.* 2008;455:64-71.
- Selbach M, Schwanhaussner B, Thierfelder N, et al. Widespread changes in protein synthesis induced by microRNAs. *Nature.* 2008; 455:58-63.
- Liang J, Wang S, Wang Z. Role of microRNAs in embryo implantation. *Reprod Biol Endocrinol.* 2017;15:90.
- Tesfaye D, Salilew-Wondim D, Gebremedhn S, et al. Potential role of microRNAs in mammalian female fertility. *Reprod Fertil Dev.* 2016;29:8-23.
- Teague EM, Print CG, Hull ML. The role of microRNAs in endometriosis and associated reproductive conditions. *Hum Reprod Update.* 2010;6:142-65.
- Hsu PW, Huang HD, Hsu SD, et al. miRNAMap: genomic maps of microRNA genes and their target genes in mammalian genomes. *Nucleic Acids Res.* 2006;34: D135-9.
- Mohr AM and Mott JL. Overview of microRNA biology. *Semin Liver Dis.* 2015;35: 3-11.

13. Suh N and Blelloch R. Small RNAs in early mammalian development: from gametes to gastrulation. *Development*. 2011;138:1653-61.
14. Laurent LC. MicroRNAs in embryonic stem cells and early embryonic development. *J Cell Mol Med*. 2008;12:2181-8.
15. Zhang J, Wang Y, Liu X, et al. Expression and potential role of microRNA-29b in mouse early embryo development. *Cell Physiol Biochem*. 2015;35:178-87.
16. Viswanathan SR, Mermel CH, Lu J, et al. MicroRNA expression during trophoblast specification. *PLoS One*. 2009;4:e6143.
17. Xie L, Mouillet JF, Chu T, et al. C19MC microRNAs regulate the migration of human trophoblasts. *Endocrinology*. 2014;155:4975-85.
18. Fu G, Ye G, Nadeem L, et al. MicroRNA-376c impairs transforming growth factor-beta and nodal signaling to promote trophoblast cell proliferation and invasion. *Hypertension*. 2013;61:864-72.
19. Estella C, Herrer I, Moreno-Moya JM, et al. miRNA signature and Dicer requirement during human endometrial stromal decidualization in vitro. *PLoS One*. 2012;7:e41080.
20. Tochigi H, Kajihara T, Mizuno Y, et al. Loss of miR-542-3p enhances IGFBP-1 expression in decidualizing human endometrial stromal cells. *Sci Rep*. 2017;7:40001.
21. Rosenbluth EM, Shelton DN, Sparks AE, Devor E, Christenson L and Van Voorhis BJ. MicroRNA expression in the human blastocyst. *Fertil Steril*. 2013;99:855-61 e3.
22. Rosenbluth EM, Shelton DN, Wells LM, Sparks AE and Van Voorhis BJ. Human embryos secrete microRNAs into culture media a potential biomarker for implantation. *Fertil Steril*. 2014;101:1493-500.
23. Salamonsen LA, Nie G, Hannan NJ, Dimitriadis E. Society for Reproductive Biology Founders' Lecture 2009. Preparing fertile soil: the importance of endometrial receptivity. *Reprod Fertil Dev*. 2009;21:923-34.
24. Hu SJ, Ren G, Liu JL, et al. MicroRNA expression and regulation in mouse uterus during embryo implantation. *J Biol Chem*. 2008;283:23473-84.
25. Roberti SL, Gatti CR, Fornes D, Higa R, Jawerbaum A. Diets enriched in PUFAs at an early postimplantation stage prevent embryo resorptions and impaired mTOR signaling in the decidua from diabetic rats. *J Nutr Biochem*. 2021;95:108765.
26. Kuokkanen S, Chen B, Ojalvo L, et al. Genomic profiling of microRNAs and messenger RNAs reveals hormonal regulation in microRNA expression in human endometrium. *Biol Reprod*. 2010;82:791-801.
27. Ananth CV. Ischemic placental disease: a unifying concept for preeclampsia, intrauterine growth restriction, and placental abruption. *Semin Perinatol*. 2014;38:131-2.
28. Mouillet JF, Chu T and Sadovsky Y. Expression patterns of placental microRNAs. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*. 2011;91:737-43.
29. Gu Y, Sun J, Groome LJ and Wang Y. Differential miRNA expression profiles between the first and third trimester human placentas. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2013;304:E836-43.
30. Gunel T, Zeybek YG, Akcakaya P, et al. Serum microRNA expression in pregnancies with preeclampsia. *Genet Mol Res*. 2011;10:4034-40.
31. Wu CF, Huang FD, Sui RF, Sun JX. Preeclampsia serum up-regulates CD40/CD40L expression and induces apoptosis in human umbilical cord endothelial cells. *Reprod Biol Endocrinol*. 2012;10:28.
32. Zhao C, Zhang T, Shi Z, et al. MicroRNA-518d regulates PPAR-alpha protein expression in the placentas of females with gestational diabetes mellitus. *Mol Med Rep*. 2014;9:2085-90.
33. Wahli W, Michalik L. PPARs at the crossroads of lipid signaling and inflammation. *Trends Endocrinol Metab*. 2012;23:351-63.
34. Gomez Ribot D, Diaz E, Fazio MV, et al. An extra virgin olive oil-enriched diet improves maternal, placental, and cord blood parameters in GDM pregnancies. *Diabetes Metab Res Rev*. 2020:e3349.
35. McCallie B, Schoolcraft WB, Katz-Jaffe MG. Aberration of blastocyst microRNA expression is associated with human infertility. *Fertil Steril*. 2010;93:2374-82.
36. Macer ML, Taylor HS. Endometriosis and infertility: a review of the pathogenesis and treatment of endometriosis-associated infertility. *Obstet Gynecol Clin North Am*. 2012;39:535-49.
37. Gebel HM, Braun DP, Tambur A, et al. Spontaneous apoptosis of endometrial tissue is impaired in women with endometriosis. *Fertil Steril*. 1998;69:1042-7.
38. Meresman GF, Bilotas MA, Lombardi E, et al. Effect of GnRH analogues on apoptosis and release of interleukin-1beta and vascular endothelial growth factor in endometrial cell cultures from patients with endometriosis. *Hum Reprod*. 2003;18:1767-71.
39. Bjorkman S and Taylor HS. MicroRNAs in endometriosis: biological function and emerging biomarker candidates. *Biol Reprod*. 2019;100:1135-46.
40. Taghavipour M, Sadoughi F, Mirzaei H, et al. Apoptotic functions of microRNAs in pathogenesis, diagnosis, and treatment of endometriosis. *Cell Biosci*. 2020;10:12.
41. Zhang Y, Yan J, Pan X. miR-141-3p affects apoptosis and migration of endometrial stromal cells by targeting KLF-12. *Pflugers Arch*. 2019;471:1055-63.
42. Mari-Alexandre J, Sanchez-Izquierdo D, Gilabert-Estelles J, et al. miRNAs regulation and its role as biomarkers in endometriosis. *Int J Mol Sci*. 2016; 17.
43. Petracco R, Grechukhina O, Popkhadze S, et al. MicroRNA 135 regulates HOXA10 expression in endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011;96:E1925-33.
44. Panir K, Schjenken JE, Robertson SA, Hull ML. Non-coding RNAs in endometriosis: a narrative review. *Hum Reprod Update*. 2018;24: 497-515.
45. Weber JA, Baxter DH, Zhang S, et al. The microRNA spectrum in 12 body fluids. *Clin Chem*. 2010;56:1733-41.
46. Blondal T, Jensby Nielsen S, Baker A, et al. Assessing sample and miRNA profile quality in serum and plasma or other biofluids. *Methods*. 2013;59:S1-6.

# Fracturas vertebrales luego de la discontinuación del denosumab. Revisión del tema y análisis de nuestra casuística

## *Vertebral fractures after denosumab discontinuation. Literature review and analysis of our cases*

Carolina Pelegrin<sup>1</sup>, Fernando Jerkovich<sup>2</sup> y María Belén Zanchetta<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Médica Especialista en Clínica Médica, Endocrinología y Magíster en Osteología, Instituto de Diagnóstico e Investigaciones Metabólicas (IDIM). Sociedad Argentina de Endocrinología y Metabolismo (SAEM), Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

<sup>2</sup> Médico Especialista en Clínica Médica y Endocrinología, IDIM. SAEM. Latin American Thyroid Association, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

<sup>3</sup> Médica Especialista en Endocrinología, Magíster en Osteología, IDIM. SAEM, SAO, AAOMM, IOF, ASBMR, Endocrine Society, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

Contacto de la autora: Carolina Pelegrin

E-mail: idim@idim.com.ar

Correspondencia: Av. Rivadavia 5712

Recibido: 29 de Septiembre de 2021

Aceptado: 5 de Octubre de 2021

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

### Resumen

El denosumab (Dmab) es un potente antiirresortivo cuyo mecanismo de acción produce un efecto reversible tras su suspensión. En los últimos años, se observó una rápida pérdida ósea, incremento de los marcadores de remodelación (MRO) y mayor riesgo de fracturas vertebrales múltiples por rebote (rebound-associated vertebral fractures: RAVF) posterior a su suspensión. Estas fracturas se describen tanto en pacientes que habían recibido Dmab para el tratamiento de la osteoporosis posmenopáusica como en mujeres tratadas con inhibidores de la aromatasa. Se estima que las RAVF tienen una incidencia de alrededor del 10%, suelen ser múltiples (media 4-5 vértebras), ocurren entre los meses 7 y 20 después de la última inyección del Dmab, se localizan más a menudo en la unión toracolumbar (D12-L1) y se asocian a altos niveles de beta-crosslaps (beta-CTX) en el momento de la fractura. El tratamiento con bisfosfonatos (terapia de consolidación) luego de la discontinuación del Dmab disminuye el incremento de los MRO, atenúa la pérdida ósea y parece tener un efecto protector en la ocurrencia de RAVF, por lo que está fuertemente recomendada una terapia de consolidación al suspender el Dmab. Es fundamental explicarles a las pacientes la importancia de una adecuada adherencia al tratamiento, el riesgo que conlleva la omisión o retardo en la administración del fármaco y que la discontinuación debe ser supervisada por el médico. El tratamiento para las RAVF aún no está del todo establecido, aunque se recomiendan antiirresortivos potentes (denosumab o zoledronato) o una combinación de denosumab y teriparatida.

**Palabras clave:** fracturas vertebrales por rebote, fracturas vertebrales múltiples, discontinuación del denosumab.

### Abstract

*Denosumab (Dmab) is a powerful antiirresortive, whose mechanism of action results in a reversible post-suspension effect. In recent years, rapid bone loss, an increase in remodeling markers (BTM) and an increased risk of rebound associated vertebral fractures (RAVFs) after suspension have been reported. These fractures are described both in patients who had received Dmab for the treatment of post-menopausal osteoporosis and in women treated with aromatase inhibitors. It is estimated that RAVF have an incidence of around 10%, they are usually multiple (average 4-5 vertebrae), occur between month 7 and 20 after the last injection of Dmab, more frequently located in the thoraco-lumbar junction (D12-L1), and are associated with high levels of serum beta Crosslaps® at the time of the fracture. Treatment with bisphosphonates (consolidation therapy) after discontinuation of Dmab reduces the increase in BTM, attenuates bone loss and seems to have a protective effect on the occurrence of RAVFs; thus, a consolidation therapy is strongly recommended when suspending Dmab. It is essential to explain to our patients the importance of adequate adherence to treatment, the risk involved in the omission or delay in the administration of the drug, and that discontinuation should be supervised by the physician. Treatment for RAVF is not yet fully established, although strong antiirresortives (denosumab or zoledronate) or a combination of denosumab and teriparatide are recommended.*

**Key words:** denosumab discontinuation, rebound associated vertebral fractures, multiple vertebral fractures.



## INTRODUCCIÓN

El denosumab es un anticuerpo monoclonal dirigido contra el ligando del Rank (RANKL) que inhibe en forma reversible la unión con su receptor en la superficie de los osteoclastos y bloquea así la maduración, la función y la sobrevivencia de estos últimos. Además, disminuye la resorción, incrementa la densidad mineral ósea (DMO) y reduce el riesgo de fracturas. Después de 3 años de tratamiento, disminuye el riesgo de fracturas vertebrales radiológicas un 68%, de fracturas clínicas no vertebrales un 28% y de fracturas de cadera un 40%<sup>1</sup>. Su uso durante 10 años se acompaña de un continuo incremento de la DMO, y se alcanzan aumentos del 21,7% en la columna lumbar y del 9% en el cuello femoral. En esos 10 años, el riesgo anual de fracturas permanece bajo: 0,70-1,47% para las fracturas vertebrales y 0,84-2,59% para las no vertebrales<sup>2</sup>.

El tratamiento está indicado en pacientes con alto riesgo de fractura en las siguientes situaciones clínicas: mujeres posmenopáusicas y hombres con osteoporosis, mujeres y hombres con osteoporosis inducida por glucocorticoides, hombres que reciben terapia de privación hormonal y mujeres en tratamiento con inhibidores de la aromatasa.

Debido a su mecanismo de acción, su efecto es reversible después de la discontinuación. En 2011, Bone et al. informaron los efectos del tratamiento con 60 mg de Dmab durante 24 meses sobre la DMO y observaron que los marcadores de remodelación ósea (MRO) fueron reversibles tras la suspensión. Esos autores hallaron un aumento de los MRO por encima del valor pretratamiento que persistió durante 2 años y una pérdida densitométrica a niveles de pretratamiento después de un año de suspendido el fármaco. En este estudio no se encontraron fracturas vertebrales clínicas<sup>3</sup>. A este fenómeno, caracterizado por el importante incremento de los MRO luego de la discontinuación del fármaco, se lo denominó efecto rebote<sup>4</sup>. Aunque su fisiopatología aún no está dilucidada en su totalidad, podría deberse a una pérdida súbita de la inhibición de los osteoclastos que se encontraban en reposo, sumada a una hiperactivación de estas células luego del aclaramiento del Dmab<sup>5</sup>.

En 2013 se publicó un análisis retrospectivo del ensayo FREEDOM que estudió la incidencia de fracturas asociadas a la suspensión del Dmab en 797 pacientes del estudio FREEDOM (470

placebo, 327 Dmab) que discontinuaron el tratamiento luego de haber recibido de 2 a 5 dosis de Dmab o de placebo. No encontraron diferencias significativas en la ocurrencia de fracturas entre ambos grupos. Cabe destacar que la media de seguimiento después de la suspensión fue de solo 0,8 años/paciente<sup>6</sup>.

Múltiples estudios que evaluaron la incidencia de fracturas al suspender el Dmab no hallaron un exceso en el riesgo de sufrirlas luego de la discontinuación. Sin embargo, no eran estudios correctamente diseñados para evaluar las fracturas vertebrales una vez suspendido el fármaco y no se realizaron radiografías de columna de rutina<sup>3,4</sup>.

El impacto clínico de la discontinuación del Dmab se conoció a finales de 2015, cuando comenzaron a publicarse numerosos casos de fracturas vertebrales múltiples tras la suspensión del fármaco (RAVF)<sup>7-15</sup>. Estas fracturas se describen tanto en las pacientes que lo habían recibido para el tratamiento de la osteoporosis posmenopáusica como en las tratadas con inhibidores de la aromatasa. Más tarde, se publicó un segundo análisis del estudio FREEDOM y su extensión, el cual concluyó que la discontinuación del Dmab se asoció a un incremento del riesgo de fracturas vertebrales comparable con el de la rama del placebo. Sin embargo, hubo una mayor incidencia de fracturas vertebrales múltiples en las pacientes que suspendieron el fármaco<sup>16</sup>.

En cuanto a la fisiopatología de las RAVF, se cree que después de la desaparición del efecto biológico del Dmab habría una activación en masa y simultánea de los osteoclastos con un alto índice RANK-L/OPG (osteoprotegerina). Esto produce un aumento del número y la profundidad de las lagunas de resorción, con adelgazamiento y perforación de las trabéculas, acumulación de microdaño y fatiga del tejido ante las cargas fisiológicas<sup>14</sup>. Siguiendo esta línea de pensamiento, el grupo de Anastasilakis et al. publicó un interesante trabajo en el que se comparó a pacientes con fracturas vertebrales que nunca recibieron tratamiento con pacientes con RAVF asociadas a la discontinuación del Dmab y pacientes sin fracturas. Los autores encontraron que las pacientes con RAVF tenían mayores niveles de MRO, menores niveles de micro-ARN que inhiben la vía osteoclástica y niveles más altos de ARNm del RANK y de catepsina K que estimulan la misma vía<sup>17</sup>.

En una revisión reciente que analizó distintos

estudios observacionales, se describieron las características de las RAVF. Los autores estimaron una incidencia de entre 1/10 y 1/100 de fracturas vertebrales en pacientes no tratadas con bisfosfonatos (terapia de consolidación) tras la suspensión del Dmab. La media del número de fracturas fue de 4-5 vértebras, ocurrieron entre los meses 7 y 20 después de la última inyección del Dmab y se asociaron a altos niveles de beta-CTX en el momento de la fractura. En uno de los estudios, las pacientes más jóvenes presentaron un riesgo mayor de fracturas vertebrales ( $5,4 \pm 2,0$  contra  $2,8 \pm 1,3$  para mujeres de 65 años o menos frente a mujeres mayores de esa edad, respectivamente). Un hallazgo importante es que la vertebroplastia realizada luego de este tipo de fracturas se asoció a un aumento del riesgo de ulteriores fracturas, por lo que el procedimiento está contraindicado en ese contexto clínico<sup>4</sup>.

En nuestra experiencia con un grupo de 15 pacientes con RAVF pos-Dmab (datos no publicados) encontramos, en forma similar a la revisión antes mencionada, que la edad de las pacientes al presentar las RAVF fue de 70 años (mediana, rango 53-86), el número de fracturas fue de 5 (mediana, rango 2-8) y ocurrieron 10,5 meses después de la última inyección de Dmab (mediana, rango 7-19 meses). Al igual que en otros trabajos, las vértebras más afectadas fueron L1 y D12. El 40% de las pacientes tenían antecedentes de fracturas vertebrales y un 66% habían recibido bisfosfonatos antes del tratamiento con Dmab. Tres pacientes recibieron bisfosfonatos pos-Dmab y en 2 de ellas las fracturas vertebrales pos-Dmab fueron morfométricas. El 30% de las pacientes suspendieron el tratamiento por decisión propia o por omisión, lo cual destaca la importancia de educar a las pacientes respecto de la correcta adherencia y suspensión planificada y supervisada por un médico. De este grupo de pacientes, el 86,6% tenían uno o más factores de riesgo para osteoporosis o fracturas y solo el 13% no tenían ningún riesgo. Si bien puede haber un sesgo de selección porque somos un centro de derivación en osteología, creemos sumamente importante tener en cuenta estas condiciones para estratificar el riesgo de cada paciente. Las características de este grupo de pacientes se ilustran en la Tabla 1.

Posteriormente, se publicó un gran estudio retrospectivo del Grupo Suizo para el Estudio del Dmab, en el cual se incluyeron 797 mujeres posmenopáusicas con osteoporosis o mujeres con

Variable (n, %)	
Edad en el momento de la fractura (años, mediana, rango)	70 (53-86)
Altura (m, media, DE)	1,55 ± 0,01
Peso (kg, media, DE)	60,3 ± 6,8
IMC (kg/m <sup>2</sup> , media, DE)	24,8 ± 2,5
Número de fracturas pos-Dmab (n, mediana, rango)	5 (2-8)
Tiempo entre última inyección Dmab y fracturas vertebrales (meses, mediana, rango)	10,5 (7-19)
Vértebras afectadas (n, %)	
L1	7 (47%)
D12	5 (33%)
L2	4 (27%)
L3	4 (27%)
D7	4 (27%)
D11	4 (27%)
D10	3 (20%)
L4	3 (20%)
D8	2 (13%)
D1	1 (7%)
D6	1 (7%)
L5	1 (7%)
Tratamiento previo con bisfosfonatos (antes de Dmab) (n, %)	
Sí	10 (66 %)
No	5 (33 %)
Tratamiento pos-Dmab (n, %)	
Ibandronato	1 (7%)
Zoledronato	2 (13%)
Ninguno	12 (80%)
Fracturas vertebrales previas (n, %)	
No	9 (60%)
Sí	6 (40%)
Causas de suspensión (n, %)	
Omisión	4 (27%)
Target	3 (20%)
Desconocida	3 (20%)
Decisión propia	2 (13%)
Evento adverso	2 (13%)
Deterioro densitométrico de la cadera	1 (7%)
Condición de riesgo OPS/fractura (n, %)	
Corticosteroides	3 (20%)
Tabaquismo	2 (13%)
Fracturas previas	8 (53%)
Fractura de cadera materna	1 (7%)
Gamapatía monoclonal de significado incierto	2 (13%)
Menopausia < 45 años	4 (27%)
Caidas frecuentes	2 (13%)
Alcoholismo	1 (7%)
Sarcopenia	1 (7%)

**Tabla 1.** Características de la población

cáncer de mama medicadas con inhibidores de la aromatasa (n = 134) que había recibido al menos dos inyecciones de denosumab y se realizó un seguimiento durante un año. Lo novedoso de este estudio es el gran tamaño muestral y que se diseñó específicamente para determinar los factores predisponentes y el efecto de los bisfosfonatos sobre el riesgo de fracturas vertebrales posterior al Dmab. Los autores informaron una incidencia de fracturas vertebrales luego de la suspensión del Dmab del 10,3%: D12 y L1 fueron las vértebras más afectadas. Los predictores de riesgo de RAVF fueron el antecedente de fractura de cadera familiar y la historia personal de fracturas vertebrales; este último, el predictor de riesgo más robusto. También describieron como factores de riesgo una baja DMO de la cadera total durante y después de la discontinuación del Dmab, el aumento de los MRO y la pérdida de DMO en la cadera total al suspender el fármaco. Es importante destacar que el tratamiento con bisfosfonatos, sobre todo después de la discontinuación, tuvo un fuerte efecto protector, mientras que los bisfosfonatos administrados antes de la terapia con Dmab no agregaron una disminución adicional al riesgo de fracturas vertebrales en las pacientes que recibieron bisfosfonatos pos-Dmab. Las fracturas no vertebrales tras la discontinuación del fármaco incrementaron 6 veces el riesgo de RAVF. Si bien estas fracturas fueron poco frecuentes, deberían considerarse un factor de riesgo importante para fracturas vertebrales asociadas a rebote. En este trabajo, el tratamiento con inhibidores de la aromatasa no se asoció a un mayor riesgo de fracturas vertebrales luego de la suspensión del Dmab. En cuanto a las causas de suspensión, un 61,5% de las pacientes lo hicieron por indicación médica, un 35,4% por decisión propia y un 4,3% por decisión del odontólogo<sup>18</sup>.

### **FRACTURAS VERTEBRALES POR REBOTE EN PACIENTES CON CÁNCER DE MAMA TRATADAS CON INHIBIDORES DE LA AROMATASA**

En las mujeres con cáncer de mama temprano tratadas con inhibidores de la aromatasa, el tratamiento con Dmab redujo el riesgo de fracturas clínicas un 50%, con independencia de la densitometría basal<sup>19</sup>. Esto, sumado a su cómoda administración, lleva a que sea un fármaco muy utilizado para preservar la masa ósea en estos casos.

Dado que una gran parte de las pacientes que

reciben inhibidores de la aromatasa tienen bajo riesgo de fracturas, se pensó que la discontinuación del Dmab no traería aparejado un aumento del riesgo de RAVF. Sin embargo, también se publicaron casos de fracturas vertebrales múltiples luego de la discontinuación del Dmab, en forma similar a lo informado en pacientes con osteoporosis que discontinuaron el fármaco<sup>11,14</sup>. En 2018, en el congreso de la American Society of Bone and Mineral Research (ASBMR), se presentó un subanálisis del estudio ABCSG-18, en el cual se realizó el seguimiento de más de 3000 mujeres con cáncer de mama incipiente asignadas al azar a recibir Dmab (60 mg cada 6 meses) o placebo. Los autores describieron un HR 2,44 para las fracturas vertebrales y de 3,52 para las fracturas vertebrales múltiples en las pacientes que suspendieron el Dmab frente al placebo. Este aumento del riesgo lo hallaron sólo en las que finalizaron el tratamiento con inhibidores de la aromatasa antes o más de 6 meses después de la última dosis de Dmab/placebo, mientras que no observaron diferencias en las que terminaron el tratamiento con inhibidores de la aromatasa dentro de los 6 meses posteriores a la interrupción de Dmab/placebo. Se concluyó que las fracturas asociadas al rebote pos-Dmab podían evitarse si se suspendían los inhibidores de la aromatasa dentro de los 6 meses<sup>20</sup>. Más tarde, González-Rodríguez et al. publicaron una serie de 60 fracturas vertebrales espontáneas en 15 pacientes en tratamiento con inhibidores de la aromatasa que discontinuaron el Dmab (8,2 ± 2,0 dosis). Tras un seguimiento de más de 24 meses, informaron de 1 a 11 (media 4) fracturas clínicas localizadas más a menudo a nivel toracolumbar, que se produjeron entre los meses 7 y 16 después de la última inyección de Dmab. Las fracturas fueron de aparición más temprana en las pacientes con terapia con Dmab más prolongada y en aquellas sin osteoporosis previa. Todas las pacientes reiniciaron Dmab y, posteriormente, a 8 pacientes se les rotó a un bisfosfonato, sin detectar nuevas fracturas<sup>21</sup>. A diferencia del trabajo antes mencionado (ABCSG-18, seguimiento), los autores encontraron que 10 de 15 pacientes suspendieron simultáneamente el Dmab y los inhibidores de la aromatasa, por lo que consideran que esta estrategia sería insuficiente para evitar el rebote.

Recientemente, Yeung et al. publicaron un estudio retrospectivo en un intento de identificar la incidencia de fracturas vertebrales en pacientes

con cáncer de mama no metastásico que hubieran recibido al menos 2 dosis de Dmab (60 mg) y luego lo discontinuaron. Incluyeron a 335 mujeres posmenopáusicas y a un hombre, y realizaron el seguimiento durante una media de 18,5 meses desde la última aplicación de Dmab. El 92% de las participantes también recibían inhibidores de la aromataasa, un 26% tenían una prueba de densidad ósea normal, un 50% osteopenia y un 24% osteoporosis. Durante el seguimiento, se observó un solo caso de fracturas vertebrales múltiples, aunque es importante destacar que el 20% de las pacientes recibieron bisfosfonatos, los cuales podrían haber tenido un papel protector en la ocurrencia de RAVF. El 70% (82) de las pacientes que discontinuaron los inhibidores de la aromataasa (115) lo hicieron antes de la última inyección del Dmab o antes del fin del efecto biológico del fármaco. Según los autores, esto podría haber mitigado el riesgo de RAVF, dado que al suspender los inhibidores de la aromataasa las pacientes podrían tener un aumento del nivel de estradiol, el cual podría surtir un pequeño efecto antirresortivo. Concluyeron que el 88% de las pacientes tuvieron un retraso de al menos 6,5 meses en la aplicación del Dmab y que, si bien en este estudio el hallazgo de RAVF fue muy bajo, el riesgo existe y destacan que los médicos que tratan a pacientes con cáncer de mama deberían conocer el riesgo de retrasar o suspender el Dmab y educar a sus pacientes al respecto<sup>22</sup>.

Aunque los hallazgos acerca de la discontinuación del Dmab en pacientes tratadas con inhibidores de la aromataasa difieren entre algunos trabajos, la mayoría de los autores coinciden en que se debe administrar un bisfosfonato después de la suspensión del Dmab, en línea con las recomendaciones actuales<sup>21,22</sup>.

## **FRACTURAS VERTEBRALES POR REBOTE EN LOS HOMBRES**

En cuanto a la ocurrencia de RAVF en los hombres en tratamiento con privación androgénica y suspensión del Dmab, no hemos encontrado publicaciones al respecto, aunque se han comunicado al menos 2 casos<sup>23</sup>. Dada la falta de estudios en este grupo, recomendamos seguir los mismos lineamientos que para la osteoporosis en las mujeres posmenopáusicas.

## **FRACTURAS VERTEBRALES POR REBOTE EN PACIENTES QUE RECIBEN CORTICOTERAPIA**

En relación con la suspensión de Dmab en las pacientes que reciben corticoterapia, recientemente se publicó un estudio de postratamiento de pacientes con artritis reumatoide en tratamiento con corticosteroides que fueron asignadas al azar a recibir Dmab 60 mg o Dmab 180 mg o placebo por un año. En 82 participantes se realizó un seguimiento durante 12 meses tras la discontinuación del Dmab o del placebo. En el grupo pos-Dmab, los autores hallaron una pérdida de ganancia en la DMO a valores basales y un aumento gradual de los beta-CTX a valores de pretratamiento, los cuales fueron similares a los valores de las pacientes que habían recibido el placebo<sup>24</sup>. Se trata de un estudio con tamaño muestral pequeño, relativo a un subgrupo de pacientes que recibieron terapia con Dmab solo durante un año, con un seguimiento relativamente breve y advertimos que no hace mención a las RAVF. Si consideramos que la corticoterapia per se es un factor de riesgo sufrir fracturas en cascada<sup>25</sup> y que se informaron numerosos casos de RAVF pos-Dmab en pacientes en tratamiento con corticosteroides, creemos, al igual que muchos autores<sup>11</sup>, que es necesaria una terapia de consolidación luego de interrumpir el Dmab en este grupo de pacientes<sup>26</sup>.

## **ESTRATEGIAS PARA DISMINUIR EL REBOTE DE LOS MARCADORES DE REMODELACIÓN Y LA PÉRDIDA DE LA DENSIDAD MINERAL ÓSEA**

En un intento de disminuir el efecto rebote y la pérdida densitométrica luego de la discontinuación del Dmab, se han realizado numerosos estudios que muestran resultados disímiles, probablemente porque muchos son observacionales, algunos con un tamaño muestral pequeño, y las poblaciones estudiadas no son homogéneas en cuanto a la duración del tratamiento con Dmab, al tratamiento previo recibido, el bisfosfonato utilizado luego de la discontinuación, etc.<sup>27-36</sup>. Sin embargo, parecería que luego de terapias breves con Dmab, el tratamiento con alendronato en dosis de 70 mg semanal o con zoledronato 5 mg anual durante un año previene el rebote y la pérdida de DMO. En cambio, para tratamientos más prolongados con Dmab no sería suficiente.

A partir de la evidencia publicada hasta el momento, la European Calcified Tissue Society (ECTS) señala que, de optarse por la discontinuación del Dmab, el tratamiento de consolidación con bisfosfonatos (alendronato o zoledronato) por 1 a 2 años, sumado a un adecuado seguimiento, sería suficiente para preservar la masa ósea tras una terapia con Dmab de corta duración (< 2,5 años), pero que no alcanzaría para tratamientos prolongados (> 2,5 años) o para pacientes de alto riesgo. La ECTS propone preferentemente el zoledronato como terapia de consolidación, pero con un seguimiento estricto con beta-CTX séricos y umbrales bajos de decisión (< 280 ng/L) para repetir la administración del zoledronato<sup>37</sup>. Coincidimos con esta estrategia activa y dinámica y agregamos, teniendo en cuenta las últimas publicaciones y nuestra experiencia, insistir en la importancia de evaluar la presencia de predictores de riesgo de RAVF pretratamiento (fracturas vertebrales pre-Dmab y condiciones de riesgo asociadas, particularmente el antecedente de fractura de cadera familiar). También, hay que tener en cuenta la baja DMO en cadera total durante y después de la discontinuación del Dmab, el aumento de los MRO y la pérdida de DMO en cadera total al suspender el Dmab para estratificar el riesgo de cada paciente y definir la estrategia por seguir.

## TRATAMIENTO

En relación con el manejo de las RAVF, aún no existen guías definidas para el tratamiento de estas fracturas, aunque varios grupos sugieren utilizar antirresortivos potentes (Dmab o zoledronato) para disminuir rápidamente la alta remodelación ósea, o una combinación de Dmab y teriparatida. Sin embargo, aún hay poca evidencia clínica sobre cuál es el tratamiento óptimo para estas pacientes<sup>37</sup>. Respecto de la última opción, es un tratamiento costoso y de difícil implementación en nuestro medio.

En relación con la monoterapia con teriparatida para este tipo de fracturas, algunos autores desaconsejan su uso inmediatamente luego de la RAVF, ya que puede disminuir de forma transitoria la DMO, particularmente a nivel cortical, y aumentar aún más el nivel de beta-CTX séricos.<sup>4,38</sup>

Anastasilakis et al. publicaron hace poco un estudio retrospectivo en el cual incluyeron a 39 pacientes posmenopáusicas que habían sufrido

RAVF luego de la discontinuación del Dmab, a quienes se les reinstauró un tratamiento osteoactivo: Dmab (n = 20), zoledronato (n = 8), teriparatida (n = 8) o teriparatida/Dmab (n = 3). Tras un año de seguimiento, encontraron que los tres regímenes terapéuticos preservaron la DMO en la columna lumbar y el cuello femoral. Más aun, observaron una tendencia al alza a nivel lumbar con todos los esquemas de tratamiento, excepto el zoledronato. Tres pacientes presentaron fracturas vertebrales adicionales a pesar de la reinstauración del tratamiento (2 con zoledronato y 1 con teriparatida)<sup>39</sup>.

De modo similar, nuestro grupo presentó un trabajo retrospectivo en el cual incluyeron 9 pacientes con RAVF. Después de un año de reinstaurado el tratamiento con Dmab (n = 4), teriparatida (n = 3) y zoledronato (n = 2), no se encontró ganancia o pérdida significativa densitométrica en ninguna de las regiones estudiadas. Respecto de los marcadores de remodelación ósea, los niveles de beta-CTX y BGP (osteocalcina) disminuyeron de forma significativa con Dmab (p = 0,030 y p = 0,02 respectivamente) y no mostraron cambios significativos con el zoledronato o la teriparatida. Sin embargo, se observó una tendencia al aumento en los niveles de beta-CTX y de BGP con esta última (beta-CTX + 117,6%; p = 0,524; BGP + 186,9%; p = 0,443). Ninguna paciente sufrió nuevas fracturas vertebrales durante el año de seguimiento<sup>40</sup>. No obstante, ambos trabajos tienen un tamaño muestral pequeño y son necesarios estudios más grandes para obtener conclusiones más robustas respecto del tratamiento para utilizar luego de RAVF.

Cabe una mención especial para el romosozumab, un anticuerpo monoclonal humano anti-osteoclastina aprobado en la Argentina a comienzos de 2021. Se trata del fármaco osteoactivo más potente, que rápidamente aumenta la DMO a través de un efecto dual: estimula la formación ósea e inhibe la resorción<sup>42,43</sup>. En 2019, Kendler et al. demostraron que un segundo curso de romosozumab a continuación de un año de Dmab aumentó 2,3% la DMO lumbar y mantuvo el valor en la cadera<sup>41</sup>. Sin embargo, posteriormente se observó el caso de una paciente de 60 años que presentó RAVF múltiples (n = 5) durante el segundo ciclo de romosozumab tras la discontinuación del Dmab. Los autores muestran que el romosozumab no tuvo efecto supresor sobre el rebote lue-

go de la discontinuación del Dmab y la DMO en la columna no aumentó<sup>44</sup>. Por lo tanto, el papel del romosozumab después de la suspensión del Dmab no está aún claramente definido.

Si bien no existe consenso en cuanto a la terapia farmacológica de la RAVF, la mayoría de los autores contraindican la realización de una vertebroplastia luego de estas fracturas debido a que se publicaron numerosos informes de fracturas vertebrales adicionales tras este procedimiento<sup>37</sup>. Tampoco está recomendada la manipulación externa de la columna en el período inmediato a la ocurrencia de las RAVF<sup>4</sup>.

## CONCLUSIONES

Debido al efecto reversible del Dmab, tras su suspensión se produce un aumento de los MRO, una pérdida de la ganancia en la DMO y pueden ocurrir RAVF ( $\geq 1/100$  y  $\leq 1/10$ ) en las pacientes no tratadas. Este comportamiento se observa en las mujeres con osteoporosis, en las tratadas con inhibidores de la aromatasas o con corticosteroides, y en los hombres.

El tratamiento con bisfosfonatos luego de la discontinuación del Dmab disminuye el incremento de MRO, atenúa la pérdida ósea y parece tener un efecto protector en la ocurrencia de RAVF, por lo que está fuertemente recomendada una terapia de consolidación al suspender el Dmab.

Consideramos fundamental explicar a los pacientes, antes de iniciar la terapia con Dmab, que después de la suspensión del fármaco deben realizar un tratamiento de consolidación con bisfosfonatos e instruirlos sobre la importancia de adherencia adecuada y del riesgo que conlleva la omisión o el retardo en la administración del fármaco.

Es imperativo comunicar a los odontólogos y a la comunidad médica en general los riesgos que trae aparejada la suspensión del Dmab sin un tratamiento y un seguimiento adecuados.

El tratamiento para las RAVF aún no está del todo establecido, aunque se recomiendan antirresortivos potentes (Dmab o zoledronato), o una combinación de Dmab y teriparatida.

## REFERENCIAS

1. Cummings SR, San Martin J, McClung MR, et al. FREEDOM Trial. Denosumab for prevention of fractures in postmenopausal women with osteoporosis. *N Engl J Med* 2009;361(8):756-65.
2. Bone HG, Wagman RB, Brandi ML, et al. 10 years of denosumab treatment in postmenopausal women with osteoporosis: results from the phase 3 randomised FREEDOM trial and open-label extension. *Lancet Diabetes Endocrinol* 2017;5:513-23.
3. Bone HG, Bolognese MA, Yuen CK, et al. Effects of denosumab treatment and discontinuation on bone mineral density and bone turnover markers in postmenopausal women with low bone mass. *J Clin Endocrinol Metab* 2011;96(4):972-80.
4. Lamy O, Stoll D, Aubry-Rozier B, Rodriguez EG. Stopping Denosumab. *Curr Osteoporos Rep*. 2019 Feb;17(1):8-15.
5. Fassio A, Adami G, Benini C, Vantaggiato E, et al. Changes in Dkk-1, sclerostin, and RANKL serum levels following discontinuation of long-term denosumab treatment in postmenopausal women. *Bone* 2019;123:191-5.
6. Brown JP, Roux C, Törring O, et al. Discontinuation of denosumab and associated fracture incidence: analysis from the Fracture Reduction Evaluation of Denosumab in Osteoporosis Every 6 Months (FREEDOM) trial. *J Bone Miner Res*. 2013 Apr;28(4):746-52.
7. McClung MR. Cancel the denosumab holiday. *Osteoporos Int* 2016;27(5):1677-82.
8. Anastasilakis AD, Makras P. Multiple clinical vertebral fractures following denosumab discontinuation. *Osteoporos Int* 2016; 27(5):1929-30.
9. Aubry-Rozier B, Gonzalez-Rodriguez E, Stoll D, Lamy O. Severe spontaneous vertebral fractures after denosumab discontinuation: three case reports. *Osteoporos Int* 2016; 27(5):1923-5.
10. Popp AW, Zysset PK, Lippuner K. Rebound-associated vertebral fractures after discontinuation of denosumab-from clinic and biomechanics. *Osteoporos Int* 2016;27(5):1917-21.
11. Polyzos SA, Terpos E. Clinical vertebral fractures following denosumab discontinuation. *Endocrine* 2016;54(1):271-2.
12. Lamy O, Gonzalez-Rodriguez E, Stoll D, Hans D, Aubry-Rozier B. Severe rebound-associated vertebral fractures after denosumab discontinuation: nine clinical cases report. *J Clin Endocrinol Metab* 2017 Feb 1;102(2):354-8.
13. Anastasilakis AD, Polyzos SA, Makras P, Aubry-Rozier B, Kaouri S, Lamy O. Clinical features of 24 patients with rebound associated vertebral fractures after denosumab discontinuation: systematic review and additional cases. *J Bone Miner Res* 2017;32:1291-6.
14. Zanchetta MB, Boailchuk J, Massari F, Silveira F, Bogado C, Zanchetta JR. Significant bone loss after stopping long-term denosumab treatment: a post FREEDOM study. *Osteoporos Int* 2018; 29:41-7.
15. Fernández Fernández E, Benavent Núñez D, Bonilla Hernán G, Monjo Henry I, García Carazo S, Bernad Pineda M, et al. Multiple vertebral fractures following discontinuation of denosumab treatment: Ten clinical cases report. *Reumatol Clin (Engl Ed)*. 2020 Nov-Dec;16(6):480-484.
16. Cummings SR, Ferrari S, Eastell R, et al. Vertebral fractures after discontinuation of denosumab: a post hoc analysis of the randomized placebo-controlled FREEDOM trial and its extension. *J Bone Miner Res*. 2018;33(2):190-8.

17. Anastasilakis AD, Yavropoulou MP, Makras P, et al. Increased osteoclastogenesis in patients with vertebral fractures following discontinuation of denosumab treatment. *Eur J Endocrinol.* 2017 Jun;176(6):677-83.
18. Burckhardt P, Faouzi M, Buclin T, Lamy O; and the Swiss Denosumab Study Group. Fractures After Denosumab Discontinuation: A Retrospective Study of 797 Cases. *J Bone Miner Res.* 2021 Sep;36(9):1717-28.
19. Gnant M, Pfeiler G, Dubsy PC, et al. Adjuvant denosumab in breast cancer (ABCSCG-18): a multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet.* 2015 Aug 1;386(9992):433-43. doi: 10.1016/S0140-6736(15)60995-3.
20. Pfeiler G, Steger GG, Egle D, et al. Fracture risk after stopping adjuvant denosumab in hormone receptor positive breast cancer patients on aromatase inhibitor therapy—an analysis of 3425 postmenopausal patients in the phase III ABCSCG-18 trial. *American Society for Bone and Mineral Research, Montreal, 2018.*
21. González-Rodríguez E, Aubry-Rozier B, Stoll D, Zaman K, Lamy O. Sixty spontaneous vertebral fractures after denosumab discontinuation in 15 women with early-stage breast cancer under aromatase inhibitors. *Breast Cancer Res Treat.* 2020 Jan;179(1):153-9.
22. Yeung M, Ho K, Fournier MN, Farooki A. Vertebral fractures after denosumab discontinuation in breast cancer survivors: a single institution experience. *HSS J.* 2021 Jul;17(2):185-91.
23. Anagnostis P, Paschou SA, González-Rodríguez E, et al. Vertebral fractures in males with osteoporosis after denosumab discontinuation: a report of two cases. *J Clin Rheumatol.* 2019 Jan 4.
24. Saag KG, McDermott MT, et al. The effect of discontinuing denosumab in patients with rheumatoid arthritis treated with glucocorticoids. *Arthritis Rheumatol.* 2021 Sep 17.
25. Che H, Breuil V, Cortet B, et al. Vertebral fractures cascade: potential causes and risk factors. *Osteoporos Int.* 2019 Mar;30(3):555-63.
26. Gonzalez-Rodriguez E, Aubry-Rozier B, Stoll D, Lamy O. Bisphosphonates as a First-Line Treatment for Glucocorticoid-Induced Osteoporosis: Comment on the Article by Saag et al. *Arthritis Rheumatol.* 2019 Oct;71(10):1770-1.
27. McClung MR, Wagman RB, Miller PD, Wang A, Lewiecki EM. Observations following discontinuation of long-term denosumab therapy. *Osteoporos Int.* 2017;28:1723-32.
28. Reid IR, Horne AM, Mihov B, Gamble GD. Bone loss after denosumab: only partial protection with zoledronate. *Calcif Tissue Int.* 2017;101:371-4.
29. Horne AM, Mihov B, Reid IR. Bone loss after romosozumab/denosumab: effects of bisphosphonates. *Calcif Tissue Int.* 2018;103:55-61.
30. Freemantle N, Satram-Hoang S, Tang ET, et al. DAPS Investigators. Results of the DAPS (Denosumab Adherence Preference Satisfaction) study: a 24-month, randomized, crossover comparison with alendronate in postmenopausal women *Osteoporos Int* 2012;23:317-26
31. Lehmann T, Aeberli D. Possible protective effect of switching from denosumab to zoledronic acid on vertebral fractures. *Osteoporos Int.* 2017;28:3067-8.
32. Zanchetta MB, Pelegrin C, Costanzo P, et al. Bisphosphonates prevent bone loss associated with denosumab discontinuation. *Bone Miner Res.* 2019;(S1):S114-S115.
33. Everts-Graber J, Reichenbach S, Ziswiler HR, Studer U, Lehmann T. A Single Infusion of Zoledronate in Postmenopausal Women Following Denosumab Discontinuation Results in Partial Conservation of Bone Mass Gains. *J Bone Miner Res.* 2020 Jul;35(7):1207-15.
34. Anastasilakis AD, Papapoulos SE, Polyzos SA, Appelman-Dijkstra NM, Makras P. Zoledronate for the Prevention of Bone Loss in Women Discontinuing Denosumab Treatment. A Prospective 2-Year Clinical Trial. *J Bone Miner Res.* 2019 Dec;34(12):2220-8.
35. Sølling AS, Harsløf T, Langdahl B. Treatment with zoledronic acid subsequent to denosumab in osteoporosis *J Bone Mine Res.* 2020;35(10):1858-70.
36. Ramchand SK, David NL, Lee H, Eastell R, Tsai JN, Leder BZ. Efficacy of Zoledronic Acid in Maintaining Areal and Volumetric Bone Density After Combined Denosumab and Teriparatide Administration: DATA-HD Study Extension. *J Bone Miner Res.* 2021 May;36(5):921-30.
37. Tsourdi E, Zillikens MC, Meier C, Body JJ, et al. Fracture Risk and Management Discontinuation of Denosumab Therapy: A Systematic Review and Position Statement by ECTS. *J Clin Endocrinol Metab.* 2021;106(1):264-81.
38. Leder BZ, Tsai JN, Uihlein AV, et al. Denosumab and teriparatide transitions in postmenopausal osteoporosis (the DATA-Switch study): extension of a randomised controlled trial. *Lancet.* 2015 Sep 19;386(9999):1147-55.
39. Anastasilakis AD, Polyzos SA, Makras P, Trovas G, Yavropoulou MP, Tournis S. Efficacy of antiosteoporotic medications in patients with rebound-associated fractures after denosumab discontinuation. *J Clin Densitom.* 2021 Jan 22:S1094-6950.
40. Pelegrin C, Fariás V, Jercovich F, Zanchetta MB. What to do after rebound-associated vertebral fractures following denosumab discontinuation? A real life study. Abstract 810. Program and abstracts Virtual Congress WCO IOF-ECSEO 2021.
41. Kendler DL, Bone HG, Massari F, et al. Bone mineral density gains with a second 12-month course of romosozumab therapy following placebo or denosumab. *Osteoporos Int.* 2019 Dec;30(12):2437-48.
42. McClung MR, Grauer A, Boonen S, et al. Romosozumab in postmenopausal women with low bone mineral density. *N Engl J Med.* 2014 Jan 30;370(5):412-20. doi: 10.1056/NEJMoa1305224.
43. Padhi D, Jang G, Stouch B, Fang L, Posvar E. Single-dose, placebo-controlled, randomized study of AMG 785, a sclerostin monoclonal antibody. *J Bone Miner Res* 2011;26:19-26.
44. Kashii M, Ebina K, Kitaguchi K, Yoshikawa H. Romosozumab was not effective in preventing multiple spontaneous clinical vertebral fractures after denosumab discontinuation: A case report. *Bone Rep.* 2020 Jun 5;13:100288

# Enriquecimiento ambiental: un enfoque experimental para prevenir el parto prematuro. ¿Podemos “enriquecer el ambiente” de las embarazadas?

## *Environmental enrichment: an experimental approach to preventing preterm birth* *Can we “enrich” pregnant women’s environment?*

Julieta Aylén Schander<sup>1</sup>, Carolina Marvaldi<sup>1</sup>, Fernanda L. de la Cruz Borthiry<sup>1</sup>, Julieta Aisemberg<sup>1</sup>, Federico Jensen<sup>2</sup>, Manuel Luis Wolfson<sup>1</sup> y Ana María Franchi<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratorio de Fisiopatología de la Preñez y el Parto, Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICETUBA), Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

<sup>2</sup> Laboratorio de Inmunología de la Reproducción, Centro de Estudios Farmacológicos y Botánicos, CONICETUBA, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

Contacto de la autora: Julieta Aylén Schander

E-mail: juli.schander@gmail.com

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

### Resumen

El estilo de vida antes y durante el embarazo afecta la salud materna y fetal. Numerosos estudios han demostrado que las intervenciones orientadas a reducir el estrés y la ansiedad materna tienen efectos positivos en algunas complicaciones de la gestación, como la preeclampsia, la pérdida temprana del embarazo, la diabetes gestacional y el parto prematuro. En modelos con animales, el enriquecimiento ambiental, definido como una combinación de estímulos biológicamente significativos y no invasivos de la vía sensitiva en combinación con actividad física, se ha evaluado en patologías de los sistemas sistema nervioso e inmunitario. Previamente, mediante un modelo murino de inflamación durante la preñez inducido por la administración sistémica de lipopolisacárido bacteriano, demostramos que el enriquecimiento ambiental materno, aplicado de manera periconcepcional, disminuye un 40% la tasa de parto prematuro y mejora las secuelas en la descendencia.

Dado que en los seres humanos las intervenciones preconcepcionales suelen ser menos frecuentes y más difíciles de planificar, en este trabajo evaluamos la aplicación del protocolo de enriquecimiento ambiental solo durante la gestación. Utilizando el mismo modelo inflamatorio, observamos que la tasa de parto prematuro disminuyó en las hembras expuestas a un ambiente enriquecido solo durante el período gestacional. Sin embargo, no observamos mejoras en la tasa de preñez ni en la mortalidad perinatal.

### Abstract

*Lifestyle before and during pregnancy affects maternal and fetal health. Several studies have shown that interventions aimed at reducing maternal stress and anxiety have positive effects on some pregnancy complications, such as preeclampsia, early pregnancy loss, gestational diabetes, and preterm birth. In animal models, environmental enrichment, defined as a combination of biologically significant, non-invasive stimuli from the sensory pathway mixed with voluntary physical activity, has been evaluated in numerous pathologies of the nervous and immune systems. Previously, using a murine model of inflammation during pregnancy, induced by systemic administration of bacterial lipopolysaccharide, we demonstrated that maternal environmental enrichment, applied periconceptionally, reduces the preterm birth rate by 40% and improves the sequelae in the offspring.*

*Since preconception interventions are also usually scarcer and difficult to plan in women, in this study we evaluate the application of the environmental enrichment protocol only during pregnancy. Using the same inflammatory model, we observed that the preterm birth rate decreased in those females exposed to an enriched environment only during the gestational period. However, we did not find improvements in the pregnancy rate nor perinatal mortality.*

*Maternal environmental enrichment could be a non-invasive and preventive therapy for pregnancy*



El enriquecimiento ambiental materno podría ser una terapia no invasiva y preventiva para las complicaciones del embarazo humano, que podría disminuir el riesgo de sufrir un parto prematuro y, en consecuencia, las secuelas presentes en los niños que nacen demasiado pronto.

**Palabras clave:** parto prematuro, estilo de vida materno, enriquecimiento ambiental.

Revista de la Sociedad Argentina de Endocrinología Ginecológica y Reproductiva 2022; Vol. XXIX N° 1 Enero-Junio de 2022: 16-24

*complications transferable to pregnant women. This treatment could reduce the risk of preterm birth, and consequently, the sequelae present in children born too soon.*

**Keywords:** pre-term birth, enriched environment, maternal lifestyle.

Journal of the Argentine Society of Gynecological and Reproductive Endocrinology 2022; Vol. XXIX N° 1 January-June 2022: 16-24

## INTRODUCCIÓN

La prematuridad es la primera causa mundial de mortalidad en los niños menores de 5 años. Además, en casi todos los países que disponen de datos fiables al respecto, las tasas de nacimientos prematuros están en aumento<sup>1</sup>. Esto parece estar asociado principalmente al aumento de la edad materna y a la prevalencia de algunas enfermedades como la diabetes y la hipertensión, muy relacionadas con el estilo de vida de la madre antes y durante la gestación. Asimismo, el aumento de embarazos múltiples debido al incremento de los tratamientos de fertilización asistida contribuye al incremento de la tasa de partos prematuros. Por último, el empoderamiento económico de las mujeres ha ido modificando su rutina, incluso durante la gestación, lo que viene asociado, también, a un aumento de los niveles de estrés que conlleva el mundo laboral. Se ha demostrado que el estrés materno es un factor que contribuye al desencadenamiento del parto prematuro<sup>2</sup>.

Cada año nacen en el mundo unos 15 millones de bebés antes de llegar a término, es decir, más de uno en 10 nacimientos. Cerca de un millón de niños prematuros mueren anualmente debido a complicaciones en el parto. Además, los bebés prematuros que sobreviven tienen mayores posibilidades de sufrir algún tipo de discapacidad de por vida, en particular, relacionadas con el aprendizaje, así como problemas visuales y auditivos<sup>1</sup>.

Las tasas de supervivencia presentan notables disparidades entre los distintos países del mundo. En contextos de ingresos bajos, la mitad de los bebés nacidos a las 32 semanas mueren por no haber recibido cuidados sencillos como no aportar al recién nacido el calor suficiente o no haber

proporcionado apoyo a la lactancia materna, así como por no haberles administrado atención básica para combatir infecciones y problemas respiratorios. En los países de ingresos altos, casi la totalidad de estos bebés sobreviven. Sin embargo, se ha visto que estos niños tienen un riesgo más elevado de sufrir complicaciones durante su vida.

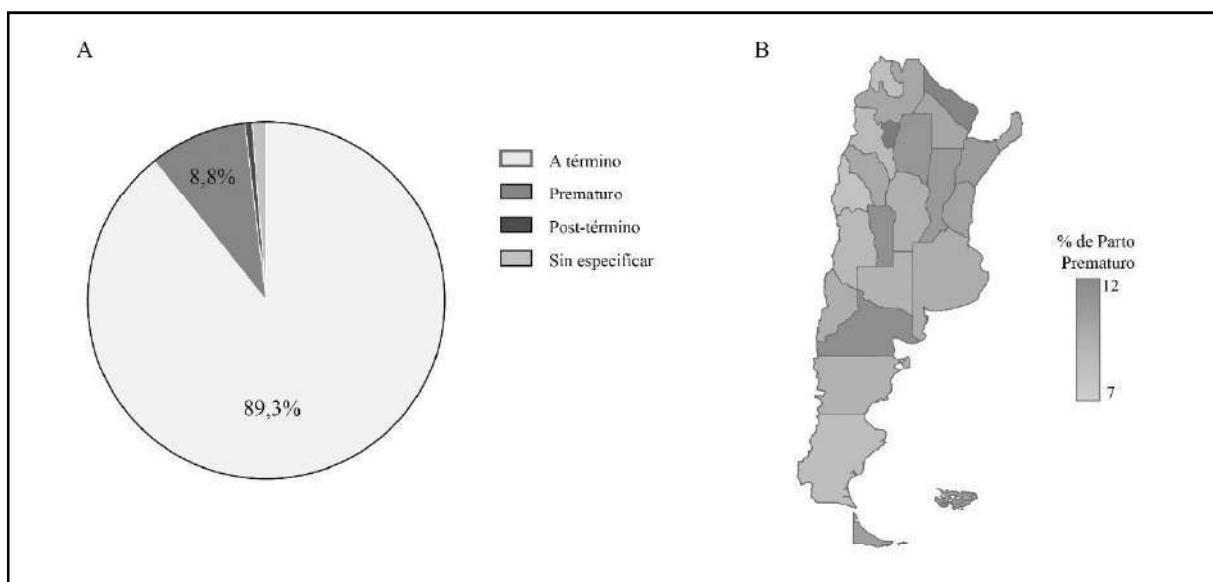
En la Argentina, según la Dirección de Estadística e Información de Salud (DEIS), durante 2018 la tasa de parto prematuro (PP) fue de un 8,8% con variación interprovincial (Figura 1). Además, el 50% de la mortalidad en menores de un año se atribuyó al nacimiento prematuro. Según datos provenientes de un trabajo publicado en 2017 en Archivos Argentinos de Pediatría, en los 10 años precedentes el número de partos de pretérmino aumentó un 19,1% y las muertes neonatales de nacidos prematuros crecieron un 16,5%<sup>3</sup>.

La cuestión trasciende lo sanitario y tiene un gran impacto tanto social como económico. Por un lado, gran parte de estos recién nacidos requieren cuidados especiales de por vida, lo que representa un alto costo para los sistemas de salud; por el otro, desde el punto de vista social, los niños prematuros tienen tasas más altas de parálisis cerebral, déficits sensitivos, trastornos de aprendizaje y enfermedades de las vías respiratorias, respecto de los nacidos a término, lo que dificulta su desarrollo y conlleva dificultades a sus familias<sup>4</sup>. También se ha demostrado que para los niños prematuros existe un mayor riesgo de sufrir enfermedades crónicas en la edad adulta, como la obesidad, la diabetes y la hipertensión<sup>5</sup>.

Un 40-50% de los nacimientos prematuros son idiopáticos o espontáneos. Cerca del 30% se relacionan con rotura prematura de membranas y un

25%-30% son atribuibles a indicaciones médicas por causa materna o fetal<sup>4</sup>. El parto pretérmino espontáneo es un síndrome de origen multifactorial, ya que está relacionado con diferentes procesos patológicos como infecciones intrauterinas y procesos inflamatorios asociados, isquemia o sobredistensión uterina, reconocimiento alógeno anormal, enfermedades cervicales y trastornos endocrinos<sup>6</sup>. En nuestro laboratorio, hemos desarrollado un modelo murino de PP inducido por la administración sistémica de lipopolisacárido bacteriano (LPS)<sup>7-9</sup>. Esta molécula es un importante factor de virulencia de las bacterias gram negativas que es reconocido por el receptor TLR-4 y se utiliza en modelos de diversas patologías repro-

ductivas por ser un potente inflamógeno. El modelo consiste en la administración intraperitoneal de dos dosis de LPS (de *E. coli* serotipo 05:B55) separadas por 3 horas, en ratones hembras de la cepa BALB/c en el día 15 de gestación. Las hembras tratadas muestran signos normales asociados al proceso inflamatorio inducido por el LPS, como piloerección, disminución de la ingesta de alimento, inactividad y postura agachada. El parto se desencadena entre las 8 y las 10 horas después de la administración del LPS. Las crías nacen muertas o mueren a causa de su prematuridad, las madres no presentan signos adversos luego del parto y se observa un comportamiento normal al día siguiente. Además, pueden acceder a futuras preñeces.



**Figura 1:** Incidencia de parto prematuro en la República Argentina. A. Estadística poblacional del país. B. Porcentajes de parto prematuro discriminados por provincias. Fuente: DEIS 2018.

## IMPORTANCIA DEL ESTILO DE VIDA DURANTE LA GESTACIÓN

La prevención de las complicaciones y de las muertes debidas al PP comienza con un embarazo saludable. La atención de calidad antes, durante y entre embarazos garantiza que la gestación sea una experiencia positiva para todas las gestantes. Las directrices de la OMS sobre la atención prenatal incluyen intervenciones esenciales que ayudan a prevenir el PP, como el asesoramiento sobre la dieta saludable y la nutrición óptima, o el abandono del consumo de tabaco y otras sustancias; las mediciones ecográficas del feto, que ayudan a determinar la edad gestacional y a detectar los embarazos múltiples; y un mínimo

de ocho contactos con profesionales sanitarios durante el embarazo a fin de identificar y tratar otros factores de riesgo, como las infecciones. Facilitar el acceso a los anticonceptivos y promover su acceso también puede contribuir a la disminución del número de nacimientos prematuros<sup>1</sup>.

El estilo de vida de la madre antes y durante la gestación puede tener efectos sobre el resultado del embarazo y puede, aún más, tener efectos sobre la salud de la descendencia en la edad adulta. Diferentes estudios han demostrado que el estrés y la depresión materna crónica aumentan el riesgo de PP y la restricción del crecimiento intrauterino<sup>10,11</sup>. Por otro lado, algunos estudios hallaron que la práctica voluntaria de actividad física<sup>12,13</sup> y

los tratamientos antiestrés (como el acompañamiento psicológico, el acompañamiento por parte de parteras durante el embarazo, las terapias de relajación y la práctica de yoga)<sup>14-18</sup> mejoran la salud materna y reducen las enfermedades gestacionales en los seres humanos.

## ENRIQUECIMIENTO AMBIENTAL

El ambiente enriquecido (AE) es una estrategia de laboratorio que consiste en proveer una serie de estímulos a los animales a través del entorno físico y social. Se caracteriza por presentar mayor espacio para los animales que la condición estándar. Además, alberga mayor cantidad de individuos para promover la interacción social y se emplean objetos con diferentes texturas, formas y colores que estimulan la actividad física y cognitiva, y la exploración<sup>19</sup>. Se cree que el AE implica cambios ambientales que producen un nivel de estrés bajo, el cual puede ser manejado por el animal, lo que permite que sea resiliente ante estresores futuros y resulte beneficioso a largo plazo<sup>20</sup>.

En los modelos con animales, el efecto de la estimulación y el enriquecimiento ambiental suelen asociarse a mayor bienestar, mejor función cognitiva y resistencia al estrés, impulsados por cambios moleculares, celulares y fisiológicos<sup>21,22</sup>.

La estrategia de enriquecimiento ambiental en modelos animales de la enfermedad de Parkinson resultó una intervención beneficiosa<sup>23,24</sup>, que ejerce efectos neuroprotectores ante estímulos nocivos<sup>25</sup> y daño retiniano<sup>26,27</sup>. Además, puede evitar el deterioro cognitivo relacionado con la edad y las consecuencias adversas del estrés prenatal<sup>28</sup>.

En nuestro laboratorio, demostramos que la aplicación periconcepcional de un protocolo de enriquecimiento ambiental disminuye la tasa de PP y la mortalidad perinatal inducida por LPS y modula la respuesta inflamatoria en los tejidos reproductivos y el líquido amniótico<sup>29,30</sup>. Otros grupos hallaron que el enriquecimiento ambiental modula la respuesta inmune inflamatoria en dos modelos de inflamación en ratones<sup>31</sup>. También se ha estudiado el efecto del enriquecimiento ambiental materno sobre el desarrollo de la descendencia<sup>32-34</sup>. Incluso se propuso que la exposición de las hembras a un AE antes del período reproductivo podría tener efectos transgeneracionales<sup>35</sup>.

Dado que en los seres humanos las intervenciones preconcepcionales suelen ser más escasas y más difíciles de planificar, decidimos evaluar si realizar una intervención de enriquecimien-

to ambiental materno solo durante la gestación podría tener, también, efectos beneficiosos en la preñez y la salud de la descendencia. El objetivo principal de este trabajo fue analizar la viabilidad de utilizar el protocolo de enriquecimiento ambiental acotado solo al período gestacional como tratamiento preventivo del PP.

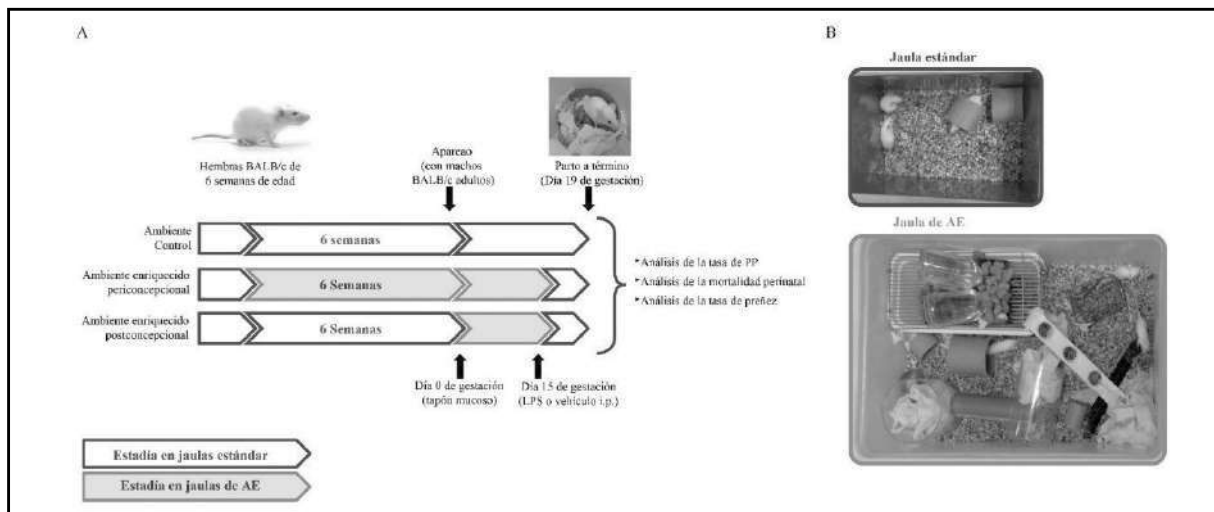
## MATERIALES Y MÉTODOS

### Animales

Para la realización de este trabajo se utilizaron ratones de la cepa BALB/c obtenidos del bioterio de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad de Buenos Aires. Se usaron hembras de 6 semanas de edad, crecidas hasta la adultez en el bioterio. Los animales fueron mantenidos en condiciones controladas de temperatura (23-25°C) y luminosidad bajo un ciclo de 12 horas de luz/12 horas de oscuridad, con agua y alimento ad libitum. Después de 6 semanas de estadía en el bioterio, se las puso en apareo con machos adultos de la misma cepa. La cópula se verificó por la presencia del tapón mucoso vaginal a la mañana siguiente, tomando ese día como el día cero (d0) de preñez. La gestación, en las condiciones de nuestro bioterio, tiene una duración de 19 días.

### Protocolo de enriquecimiento ambiental

Para evaluar si el enriquecimiento ambiental materno podía tener efectos beneficiosos, diseñamos un AE que consiste en alojar a las hembras en jaulas más grandes (640 × 420 × 200 mm) que las de tamaño estándar de laboratorio, que permiten albergar a 10 animales. Las jaulas contienen ruedas y objetos de diferentes formas, texturas y colores (juguetes, túneles, refugios y escaleras), los cuales se cambian una vez por semana. A mitad de la semana, uno de los objetos se elimina o se mueve, o se agrega uno nuevo a la jaula para estimular la actividad exploratoria. Este protocolo combina el incremento en la actividad social, exploratoria, física y cognitiva de las hembras que participan de él. La condición control (ambiente control, AC) consiste en jaulas estándares de laboratorio que alojan a 4 animales. El protocolo de enriquecimiento ambiental se aplicó en dos modalidades: de forma periconcepcional, definido como 6 semanas antes del apareo y mantenido durante la gestación; o postconcepcional, es decir, inmediatamente luego de la cópula (Figura 2).



**Figura 2:** Protocolo de enriquecimiento ambiental materno. A. Esquema del protocolo de AE periconcepcional y postconcepcional. B. Fotografías de las jaulas de AC y AE. Las hembras ingresaron al protocolo cuando tenían 6 semanas de edad y permanecieron en sus respectivas jaulas (AC o AE) por 6 semanas más. Luego fueron puestas en apareo con machos adultos de la misma cepa y el día que se observó el tapón mucoso volvieron a su jaula de origen. En el caso de las hembras que recibieron el protocolo de AE postconcepcional, luego de detectarse el tapón mucoso fueron alojadas en jaulas de AE por primera vez. En el día 15 de gestación se registró la tasa de preñez y se administró el LPS (o el vehículo) para evaluar la tasa de PP y la tasa de mortalidad perinatal.

Las hembras, provenientes de AE o AC, fueron puestas en apareo con machos BALB/c adultos en jaulas estándares (2 hembras con un macho por jaula). Una vez detectado el tapón mucoso, se alojó a las hembras en jaulas de AE (o AC respectivamente) hasta el día 15 de gestación, cuando se les administró el LPS intraperitonealmente (o la solución salina en el caso de los animales de control).

### Evaluación de la tasa de preñez

La tasa de preñez se determinó en el día 15 de gestación para los tres grupos experimentales (AC, AE periconcepcional y AE postconcepcional). Se calculó como el número de hembras preñadas en el día 15 respecto de las que presentaron tapón mucoso en el día 0. Luego, se calculó la mediana y el rango intercuartílico para realizar el análisis estadístico.

### Modelo de parto prematuro

En el día 15 de gestación, las hembras provenientes de AE o AC fueron desafiadas con 2 dosis de LPS administrado por vía intraperitoneal. La primera (0,13 mg/kg de LPS, 5 µg en 100 µl de solución salina estéril) a las 9:00 y la segunda (0,39 mg/kg, 15 µg en 100 µl de vehículo) a las 12:00. Las hembras control recibieron, en el mismo momento y por la misma vía de administración, idéntico volumen del vehículo utilizado para resuspender el LPS (100 µl de solución salina estéril).

Combinando el protocolo de enriquecimiento ambiental y el de PP inducido por LPS quedaron determinados seis grupos experimentales a los que las hembras fueron asignadas al azar:

- AC + C: ambiente de control + solución salina (SS).
- AC + LPS: ambiente de control + LPS.
- AE periconcepcional + C: ambiente enriquecido + SS.
- AE periconcepcional + LPS: ambiente enriquecido + LPS.
- AE postconcepcional + C: ambiente enriquecido solo durante la gestación + SS.
- AE postconcepcional + LPS: ambiente enriquecido solo durante la gestación + LPS.

Todos los procedimientos realizados en este trabajo fueron aprobados por el Comité Institucional para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (CICUAL) de la Facultad de Medicina (Universidad de Buenos Aires) (CD 900/2016) y se realizaron de acuerdo con la Guía para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (NIH).

### Análisis estadístico

En todos los experimentos la unidad experimental fue la madre, que fue asignada en un diseño aleatorizado a alguno de los seis grupos experimentales. Así, todas las muestras fueron independientes entre sí.

La incidencia de PP se analizó efectuando un arreglo de los datos en tablas de contingencia t. Mediante la prueba de Chi cuadrado se analizó la hipótesis de independencia entre el ambiente al que fueron expuestas las hembras y la ocurrencia de PP. Cuando se rechazó la hipótesis de independencia con un valor de  $p < 0,05$ , se concluyó que existían diferencias significativas en los porcentajes de PP entre los grupos.

La eficacia de la preñez se analizó mediante el análisis no paramétrico Kruskal-Wallis utilizando la mediana y el rango intercuartílico debido a que los datos no se distribuían de manera normal.

## RESULTADOS

### Evaluación del efecto de la exposición a un ambiente enriquecido sobre la tasa de preñez

Lo primero que evaluamos fue el porcentaje de preñez (calculado como el porcentaje de hembras preñadas en el día 15 respecto de las que presentaron tapón) en las hembras provenientes de AE periconcepcional y AC (Tabla 1). Observamos que el porcentaje de preñez fue significativamente mayor en las hembras que habían estado expuestas a AE; siendo casi del 100% en comparación con las AC cuyo porcentaje de preñez normal en las condiciones de nuestro bioterio es del 40%. Luego evaluamos si el AE postconcepcional incidía sobre la tasa de preñez y no observamos diferencias significativas en el porcentaje de hembras preñadas en comparación con las AC.

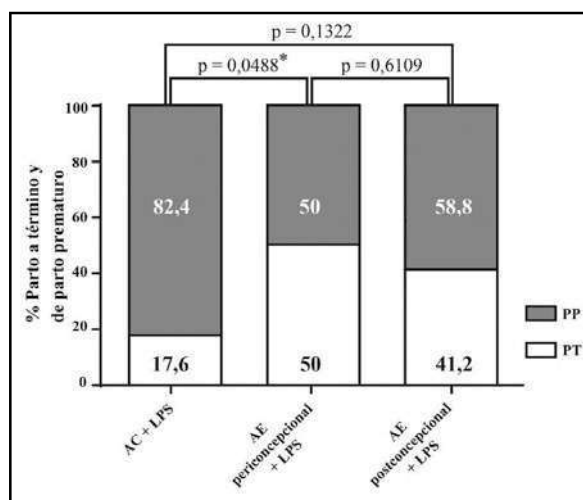
	Mediana (IQR)	N
AC	40,0 (33,3-50,0)	29
AE periconcepcional	100 (75,0-100,0)*	15
AE postconcepcional	41,45 (33,3-42,9)	33

Las hembras fueron expuestas a un AE periconcepcional, a un AE postconcepcional o a un AC. Se presentan los datos como la mediana más el rango intercuartílico (IQR). Se realizó el análisis no paramétrico de Kruskal-Wallis.  
\* Indica diferencias estadísticamente significativas entre AE periconcepcional y AC;  $p < 0,05$ .

**Tabla 1:** Porcentaje de preñez en d15 de las hembras que estuvieron en apareo y presentaron un tapón mucoso.

### Evaluación del efecto de la exposición a un ambiente enriquecido sobre la tasa de parto prematuro

A continuación, las hembras expuestas a AE postconcepcional que quedaron preñadas fueron tratadas en el día 15 de gestación con LPS. Comparamos la tasa de PP y la mortalidad perinatal entre este grupo experimental y las hembras control o las que habían estado expuestas a un AE periconcepcional. Las hembras que estuvieron en AE postconcepcional presentaron un 58,8% de PP, mientras que las alojadas en AC presentaron un 82,4%, lo que representa una disminución de la tasa de PP (Figura 3). Sin embargo, esta diferencia no resultó estadísticamente significativa. De igual manera, la diferencia entre la tasa de parto a término entre el grupo AE periconcepcional y el grupo AE postconcepcional resultó estadísticamente no significativa. Cabe destacar que ningún grupo experimental presentó PP luego de la administración del vehículo, por lo que no se incluyeron en el análisis estadístico.



**Figura 3:** Porcentaje de hembras que tuvieron parto prematuro (PP) y parto a término (PT) luego de la administración de LPS en el día 15 de gestación. Se muestran los resultados para las hembras alojadas en AC y en AE periconcepcional y postconcepcional. \* Indica diferencias estadísticamente significativas entre los porcentajes de PP del grupo AC y AE periconcepcional ( $p < 0,05$ ). Prueba de Chi cuadrado. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los porcentajes de PP de los grupos AC y AE periconcepcionales ni entre los grupos AE postconcepcional y AE periconcepcional ( $p > 0,05$ ). Prueba de Chi cuadrado.  $n = 16-17$  animales por grupo.

## Evaluación del efecto de la exposición a un ambiente enriquecido sobre la mortalidad perinatal

En último lugar, evaluamos la tasa de mortalidad perinatal en las hembras que parieron a término (Tabla 2). A diferencia del efecto protector observado sobre la mortalidad perinatal cuando las hembras eran expuestas a un AE periconcepcional, encontramos que el AE postconcepcional no protegió a las crías y que las tasas de mortalidad eran similares a las de las madres provenientes de AC.

	Incidencia de mortalidad (%)	Porcentaje promedio de crías muertas por camada	N
AC	66,7	78,1	6
AE periconcepcional + LPS	<b>20,0</b>	<b>16,7</b>	5
AE postconcepcional + LPS	71,4	61,4	7

Se evaluó la mortalidad de las crías en las hembras que parieron a término luego de la administración de LPS. Se muestra el porcentaje de madres que parieron al menos una cría muerta (incidencia de mortalidad) y el porcentaje de crías muertas dentro de la camada.

**Tabla 2:** Mortalidad perinatal en hembras expuestas a un AE periconcepcional o postconcepcional en comparación con las hembras alojadas en un AC

## DISCUSIÓN

La salud mental materna pre y periconcepcional ha sido el foco de numerosos estudios que evalúan el efecto de ciertas intervenciones orientadas a reducir el estrés y la ansiedad, como la práctica de actividad física con intensidad leve a moderada (revisado por Aune et al.<sup>36</sup> y por Wen et al.<sup>37</sup>), las técnicas de relajación (revisado por Khianman et al.<sup>15</sup>), la atención y el acompañamiento durante el embarazo por parte de parteras (revisado por Sandall et al.<sup>17</sup>) y otras intervenciones relacionadas con la inclusión social<sup>38</sup>. Numerosos estudios hallaron una asociación inversa entre la práctica de actividad física y el desencadenamiento del PP. Se comprobó que la actividad física tiene efectos positivos sobre las complicaciones del embarazo, como la preeclampsia<sup>39,40</sup>, el exceso de peso gestacional<sup>41,42</sup> y la diabetes gestacional<sup>36</sup>. Por otro lado, algunos estudios demostraron que la práctica de yoga previene el PP y el bajo peso al nacer<sup>14,16</sup>. En nuestro laboratorio, hemos demostrado, utilizando un modelo

animal, que el enriquecimiento ambiental periconcepcional tiene efectos positivos durante la gestación, previene el desencadenamiento del parto prematuro, la mortalidad perinatal inducida por un proceso proinflamatorio<sup>29,30</sup> y mejora la tasa de preñez.

En este trabajo nos resultó interesante comprobar el efecto del enriquecimiento ambiental solo durante la gestación debido a que, en la mayoría de los casos, las intervenciones para prevenir enfermedades durante el embarazo en seres humanos se dan una vez que la persona se entera de que está embarazada. Si bien no observamos diferencias estadísticas en la ocurrencia de PP entre las hembras expuestas a AE postconcepcional y las AC, observamos que la tasa de PP presenta una marcada tendencia a disminuir, lo que probablemente resultaría de relevancia estadística si aumentáramos el número de animales. Además, la tasa de parto a término no resultó estadísticamente significativa entre los grupos de AE periconcepcional y postconcepcional. El número de animales que paren a término en ambos grupos a pesar de ser sometidos a un desafío inflamatorio representa un resultado de gran relevancia biológica, ya que podría significar que “enriquecer el ambiente materno” podría evitar las complicaciones en la preñez.

Por otro lado, al aplicar el enriquecimiento ambiental solo durante la gestación, no observamos un efecto protector sobre la salud de la descendencia, como habíamos visto al probar el protocolo de AE periconcepcional<sup>29</sup>. Hay que tener en cuenta que en los modelos animales no se cuenta con cuidados perinatales, los cuales sí son posibles en los seres humanos y que, como mencionamos en la introducción, han aumentado mucho las tasas de supervivencia de los neonatos.

En cuanto a las tasas de preñez, observamos que el enriquecimiento materno periconcepcional aumentó estadísticamente el número de hembras preñadas respecto de las que presentaron un tapón mucoso en comparación con las AC. Esto no se observó en el grupo de hembras expuestas a un AE solo durante la gestación. Los mecanismos por los cuales el AE mejora la tasa de preñez deben estudiarse en profundidad, ya que podrían ser de particular relevancia para las mujeres que no logran concebir un embarazo o deben realizarse técnicas de reproducción asistida, y es un área en la que nos proponemos trabajar a futuro.

La naturaleza no invasiva del enriquecimiento

to ambiental materno hace que esta herramienta sea particularmente interesante a la hora de pensar en nuevas estrategias para prevenir el PP. De hecho, el AE se ha propuesto como una “farmacoterapia endógena” para enfermedades relacionadas con el sistema nervioso, en las cuales la plasticidad neuronal no se obtiene mediante la administración externa de sustancias activas<sup>27,43</sup>, sino utilizando la estimulación ambiental para mejorar el potencial reparador espontáneo que tiene el cerebro, y también para influir en el desarrollo y la dinámica de la respuesta inmune<sup>31</sup>. En concordancia con estos antecedentes, en nuestro laboratorio demostramos que la estrategia de enriquecimiento ambiental modula la fisiología materna y favorece un estado inmunoprotector<sup>29,30</sup>.

Los resultados hasta el momento en nuestro modelo animal respecto del efecto del AE sobre la gestación sugieren que el “enriquecimiento ambiental” debería ser periconcepcional para obtener mejores resultados. Sin embargo, el efecto que una estrategia de AE podría tener sobre la fisiología del embarazo humano debería estudiarse, ya que contamos con muchas más herramientas de cuidado materno que en el caso de los animales.

En general, nuestros resultados apuntan hacia los beneficios de la exposición, pre- y periconcepcional, a un AE sobre el resultado de la gestación y la prevención del PP inducido por LPS. Incluso teniendo en cuenta las limitaciones de nuestro modelo animal, nuestros resultados están de acuerdo con la hipótesis del “efecto de madre sana” que propone que los efectos a largo plazo de un estilo de vida físico y mental saludable tanto pre- como periconcepcional desempeñan un papel importante en el resultado del embarazo<sup>44</sup>. Idealmente, todas las mujeres que buscan un embarazo deberían tener fácil acceso al asesoramiento preconcepcional para manejar los factores de riesgo en el estilo de vida y la nutrición, así como el estrés y los problemas de salud mental.

Nuestros resultados contribuyen a la discusión sobre la necesidad de diseñar políticas públicas que implementen programas para mejorar la calidad de vida de las personas gestantes a fin de prevenir complicaciones durante el embarazo.

Además, proponemos que el diseño de un protocolo de enriquecimiento del ambiente materno es factible y podría ser una terapia no invasiva y preventiva de las complicaciones del embarazo

que podría disminuir la tasa de PP y las secuelas que pueden presentar los niños nacidos antes de tiempo.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a Anabel Cecilia Rodríguez y Maximiliano Cella su excelente apoyo técnico. También a Daniel González por su excelente trabajo en el cuidado de los animales utilizados en este estudio.

## FINANCIAMIENTO

Este trabajo fue financiado por la Agencia Nacional para la Promoción Científica y Tecnológica (PICT-2016/0811 y PICT-2018/01489) y el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (PIP 201/0161).

## REFERENCIAS

1. OMS. OMS [Internet]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/preterm-birth>. 2018.
2. Wadhwa PD, Entringer S, Buss C, Lu MC. The contribution of maternal stress to preterm birth: Issues and considerations. *Clin Perinatol*. 2011;38(3):351-84.
3. Finkelstein JZ, Duhau M, Fasola L, Escobar P. Mortalidad neonatal en Argentina. *Arch Argent Pediatr*. 2017;115(4):343-9.
4. Di Marco I, Asprea I. Amenaza de parto pretérmino, atención de parto pretérmino espontáneo y rotura prematura de membranas. 2015;21-7. Disponible en: <http://www.msal.gob.ar/images/stories/bes/graficos/0000000710cnt-guia-parto-pretermino.pdf>
5. Rubens CE, Sadovsky Y, Muglia L, Gravett MG, Lackritz E, Gravett C. Prevention of preterm birth: Harnessing science to address the global epidemic. *Sci Transl Med*. 2014;6(262):262sr5.
6. Romero R, Espinoza J, Kusanovic JP, et al. The preterm parturition syndrome. *BJOG An Int J Obstet Gynaecol*. 2006;113(Suppl. 3):17-42.
7. Cella M, Farina MG, Domínguez Rubio A, et al. Dual effect of nitric oxide on uterine prostaglandin synthesis in a murine model of preterm labour. *Br J Pharmacol*. 2010;161(4):844-55.
8. Domínguez Rubio AP, Correa F, Aisemberg J, et al. Maternal administration of melatonin exerts short- and long-term neuroprotective effects on the offspring from lipopolysaccharide-treated mice. *J Pineal Res* [Internet]. 2017 Nov;63(4):e12439. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28776755>
9. Bariani MV, Correa F, Leishman E, et al. Resveratrol protects from lipopolysaccharide-induced inflammation in the uterus and prevents experimental preterm birth. *Mol Hum Reprod* [Internet]. 2017;23(8):571-81. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28810692>
10. Latendresse G. The interaction between chronic stress and pregnancy: preterm birth from a biobehavioral perspective. *J Midwifery Womens Health* [Internet]. 2009 Jan 2 [cited 2019 Jul 18];54(1):8-17. Disponible en: <http://doi.wiley.com/10.1016/j.jmwh.2008.08.001>

11. Grote NK, Bridge JA, Gavin AR, Melville JL, Iyengar S, Katon WJ. A meta-analysis of depression during pregnancy and the risk of preterm birth, low birth weight, and intrauterine growth restriction. *Arch Gen Psychiatry* [Internet]. 2010 Oct;67(10):1012-24. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20921117>
12. Hegaard HK, Hedegaard M, Damm P, Ottesen B, Petersson K, Henriksen TB. Leisure time physical activity is associated with a reduced risk of preterm delivery. *Am J Obstet Gynecol* [Internet]. 2008 Feb;198(2):180.e1-5. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18226619>
13. Hegaard HK, Pedersen BK, Nielsen BB, Damm P. Leisure time physical activity during pregnancy and impact on gestational diabetes mellitus, pre-eclampsia, preterm delivery and birth weight: a review. *Acta Obstet Gynecol Scand* [Internet]. 2007;86(11):1290-6. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17851805>
14. Narendran S, Nagarathna R, Narendran V, Gunasheela S, Nagendra HRR. Efficacy of yoga on pregnancy outcome. *J Altern Complement Med* [Internet]. 2005 Apr;11(2):237-44. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15865489>
15. Khianman B, Pattanittum P, Thinkhamroj J, Lumbiganon P. Relaxation therapy for preventing and treating preterm labour. *Cochrane database Syst Rev* [Internet]. 2012 Aug 15;(8):CD007426. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22895959>
16. Deshpande CS, Rakhshani A, Rakshani A, et al. Yoga for high-risk pregnancy: a randomized controlled trial. *Ann Med Health Sci Res* [Internet]. 2013 Jul;3(3):341-4. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24116310>
17. Sandall J, Soltani H, Gates S, Shennan A, Devane D. Midwife-led continuity models versus other models of care for childbearing women. *Cochrane Database Syst Rev* [Internet]. 2013 Apr 28;(8):CD004667. Disponible en: <http://doi.wiley.com/10.1002/14651858.CD004667.pub5>
18. Cunningham SD, Lewis JB, Shebl FM, et al. Group Prenatal Care Reduces Risk of Preterm Birth and Low Birth Weight: A Matched Cohort Study. *J Womens Health (Larchmt)* [Internet]. 2018 Sep 25. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30256700>
19. Mering S, Jolkkonen J. Proper housing conditions in experimental stroke studies - special emphasis on environmental enrichment. *Front Neurosci*. 2015;9(March):106-14.
20. Sparling JE, Baker SL, Bielajew C. Effects of combined pre- and post-natal enrichment on anxiety-like, social, and cognitive behaviours in juvenile and adult rat offspring. *Behav Brain Res*. 2018 Nov;353:40-50.
21. Bakos J, Hlavacova N, Rajman M, et al. Enriched environment influences hormonal status and hippocampal brain derived neurotrophic factor in a sex dependent manner. *Neuroscience*. 2009;164(2):788-97.
22. Langdon KD, Corbett D. Improved working memory following novel combinations of physical and cognitive activity. *Neurorehabil Neural Repair*. 2012;26(5):523-32.
23. Jungling A, Reglodi D, Karadi ZN, et al. Effects of postnatal enriched environment in a model of parkinson's disease in adult rats. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2017 Feb 14;18(2). Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28216584>
24. Wi S, Lee JW, Kim M, Park C-H, Cho S-R. An Enriched Environment Ameliorates Oxidative Stress and Olfactory Dysfunction in Parkinson's Disease with  $\alpha$ -Synucleinopathy. *Cell Transplant* [Internet]. 2018 May;27(5):831-9. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29707965>
25. Horvath G, Reglodi D, Vadasz G, Farkas J, Kiss P. Exposure to enriched environment decreases neurobehavioral deficits induced by neonatal glutamate toxicity. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2013 Sep 16;14(9):19054-66. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24065102>
26. Dorfman D, Aranda ML, González Fleitas MF, et al. Environmental enrichment protects the retina from early diabetic damage in adult rats. *PLoS One* [Internet]. 2014;9(7):e101829. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25004165>
27. González Fleitas MF, Aranda ML, Dieguez HH, et al. Pre-ischemic enriched environment increases retinal resilience to acute ischemic damage in adult rats. *Exp Eye Res* [Internet]. 2018 Oct 13;178:198-211. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30326207>
28. Patten AR, Yau SY, Fontaine CJ, Meconi A, Wortman RC, Christie BR. The benefits of exercise on structural and functional plasticity in the rodent hippocampus of different disease models. *Brain Plast*. 2015;1:97-127.
29. Schander JA, Aisemberg J, Correa F, et al. The enrichment of maternal environment prevents pre-term birth in a mice model. *Reproduction*. 2020;159(4):479-92.
30. Schander JA, Marvaldi C, Correa F, et al. Maternal environmental enrichment modulates the immune response against an inflammatory challenge during gestation and protects the offspring. *J Reprod Immunol* [Internet]. 2021;144:103273. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33515908>
31. Brod S, Gobetti T, Gittens B, Ono M, Perretti M, D'Acquisto F. The impact of environmental enrichment on the murine inflammatory immune response. *JCI Insight* [Internet]. 2017;2(7):e90723. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28405616> <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC5374068> <https://insight.jci.org/articles/view/90723>
32. Connors EJ, Shaik AN, Migliore MM, Kentner AC. Environmental enrichment mitigates the sex-specific effects of gestational inflammation on social engagement and the hypothalamic pituitary adrenal axis-feedback system. *Brain Behav Immun* [Internet]. 2014;42:178-90. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbi.2014.06.020>
33. Sale A, Cenni MC, Clussi F, Putignano E, Chierzi S, Maffei L. Maternal enrichment during pregnancy accelerates retinal development of the fetus. *PLoS One*. 2007;2(11):1-8.
34. Caporali P, Cutuli D, Gelfo F, et al. Pre-reproductive maternal enrichment influences offspring developmental trajectories: motor behavior and neurotrophin expression. *Front Behav Neurosci* [Internet]. 2014;8(May):195. Disponible en: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4038762&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
35. Cutuli D, Caporali P, Gelfo F, Angelucci F, et al. Pre-reproductive maternal enrichment influences rat maternal care and offspring developmental trajectories: behavioral performances and neuroplasticity correlates. *Front Behav Neurosci* [Internet]. 2015;9(March):1-18. Disponible en: <http://journal.frontiersin.org/Article/10.3389/fnbeh.2015.00066/abstract>
36. Aune D, Schlesinger S, Henriksen T, Saugstad OD, Tonstad S. Physical activity and the risk of preterm birth: a systematic review and meta-analysis of epidemiological studies. *BJOG* [Internet]. 2017 Nov;124(12):1816-26. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28374930>



37. Wen J, Xun P, Chen C, et al. Non-occupational physical activity during pregnancy and the risk of preterm birth: a meta-analysis of observational and interventional studies. *Sci Rep* [Internet]. 2017;7:44842. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28327589>
38. Kieffer EC, Caldwell CH, Welmerink DB, Welch KB, Sinco BR, Guzmán JR. Effect of the healthy MOMs lifestyle intervention on reducing depressive symptoms among pregnant Latinas. *Am J Community Psychol* [Internet]. 2013 Mar;51(1-2):76-89. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22638902>
39. Sorensen TK, Williams MA, Lee I-M, Dashow EE, Thompson M Lou, Luthy DA. Recreational physical activity during pregnancy and risk of preeclampsia. *Hypertension* [Internet]. 2003 Jun;41(6):1273-80. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12719446>
40. Meher S, Duley L. Exercise or other physical activity for preventing pre-eclampsia and its complications. *Cochrane database Syst Rev* [Internet]. 2006 Apr 19;(2):CD005942. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16625645>
41. Löf M, Hilakivi-Clarke L, Sandin S, Weiderpass E. Effects of pre-pregnancy physical activity and maternal BMI on gestational weight gain and birth weight. *Acta Obstet Gynecol Scand* [Internet]. 2008;87(5):524-30. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18446535>
42. Stuebe AM, Oken E, Gillman MW. Associations of diet and physical activity during pregnancy with risk for excessive gestational weight gain. *Am J Obstet Gynecol* [Internet]. 2009 Jul;201(1):58.e1-8. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19467640>
43. Sale A, Berardi N, Maffei L. Environment and brain plasticity: towards an endogenous pharmacotherapy. *Physiol Rev* [Internet]. 2014 Jan;94(1):189-234. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24382886>
44. Guendelman S, Broderick A, Mlo H, Gemmill A, Lindeman D. Listening to Communities: Mixed-Method Study of the Engagement of Disadvantaged Mothers and Pregnant Women With Digital Health Technologies. *J Med Internet Res* [Internet]. 2017;19(7):e240. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28679489>

# Pruebas genéticas de preimplantación para detectar la aneuploidía: un castillo construido sobre arena

## *Preimplantation genetic testing for aneuploidy: a castle built on sand*

Gleicher N, Patrizio P, Brivanlou A.

Trends Mol Med. 2021 Aug;27(8):731-42.

**Palabras clave/Keywords:** PGT-A, fertilización in vitro, embrión mosaico, embrión aneuploide, inestabilidad cromosómica, autocorrección cromosómica

Recibido: 29/09/2021

Aceptado: 1/10/2021

### RESUMEN

Las pruebas genéticas previas a la implantación para detectar aneuploidía (*preimplantation genetic testing for aneuploidy*, PGT-A) se han convertido en un complemento de rutina en la fertilización *in vitro* (FIV) para determinar si los embriones humanos serán utilizados o eliminados clínicamente. Los estudios que afirman haber hallado mejoras en los resultados de la FIV después de PGT-A utilizaron poblaciones de pacientes muy seleccionadas o métodos estadísticos inapropiados. Además, nunca se validó clínicamente la capacidad de esas pruebas para definir un embrión humano cromosómicamente normal, mosaico o aneuploide. Tampoco cuentan con la certificación de un organismo regulador o de una organización profesional autorizada.

Debido a la alta tasa de falsos positivos, PGT-A, en realidad, reduce las posibilidades de nacimientos por FIV para muchas pacientes. Además, en investigaciones recientes se ha propuesto que presenta aspectos biológicos, matemáticos y técnicos confusos.

Por lo tanto, se la debe ofrecer clínicamente solo dentro del marco de un estudio experimental.

### COMENTARIO

Alberto Valcárcel

Instituto de Ginecología y Fertilidad, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina  
Mail de contacto: avalcarcel@hotmail.com

Este trabajo presenta una visión crítica al uso de PGT-A como método de identificación de un embrión por ser transferido o descartado luego de un procedimiento de reproducción asistida. Se opone a la idea dominante de los beneficios de

PGT-A y lo hace con argumentos que merecen ser tenidos en cuenta o, al menos, considerados antes de decidir su uso.

Los argumentos pueden llegar a parecer disruptivos, pero una lectura detenida permite cuestionarnos sobre los límites de qué prácticas están suficientemente probadas o al menos en qué poblaciones, como para que sus resultados nos lleven a aplicarlas en todo el espectro de pacientes.

El cuestionamiento incluye tanto argumentos clínicos como biológicos. Entre ellos, hay argumentos en contra que son compartidos cada vez por más cantidad de especialistas clínicos, como la supuesta inocuidad de la biopsia del trofoectodermo o el supuesto impacto favorable en los resultados de las técnicas de reproducción asistida. Recordemos que fue este último el motor original que llevó a su aplicación a gran escala en los centros de reproducción asistida.

Afirmaciones tales como que las aneuploidías son la principal causa de la falla de implantación embrionaria o que la biopsia embrionaria en el estadio preimplantatorio refleja el complemento cromosómico completo del futuro embrión y feto son cuestionadas con coherencia.

Pero, sin lugar a dudas, las críticas más interesantes –a mi entender– son las que apuntan a nuestro desconocimiento y falta de comprensión de los mecanismos básicos de la embriología y la biología humanas, como los efectos de la inestabilidad cromosómica en la etapa de embrión preimplantatorio, el sentido del mosaicismo o la capacidad de las células embrionarias de autocorregir las aneuploidías.

Algunos de estos cuestionamientos ya han sido manifestados en trabajos y revisiones por di-

versos autores<sup>1-4</sup>. En conclusión, el PGT-A es un procedimiento controvertido de la medicina reproductiva, pero muy probablemente esté entre nosotros para quedarse, al menos por un tiempo, a pesar de la controversia. Los trabajos como los de Gleicher et al. no hacen más que abrir nuevamente para cuestionar las “verdades reveladas”. El progreso de la ciencia se dio por este afán de recusación permanente, al cual considero como el principal valor del trabajo. Su lectura crítica se hace indispensable, ya que nos obliga a replantearnos los manejos de la clínica diaria.

Por último, este tipo de trabajos pone de manifiesto la verdadera necesidad de aumentar nuestro conocimiento básico de los procesos y mecanismos embriológicos iniciales, de manera de ofrecer de forma clínica los tratamientos más sólidamente diseñados y probados.

## REFERENCIAS

1. Sedo CA. Estudio genético pre-implantatorio para aneuploidía (PGT-A): una revisión crítica actualizada. *Reproducción* 2018;33:21-43.
2. Griffin DK, Ogur C. Chromosomal analysis in IVF: just how useful is it? *Reproduction*. 2018;156:F29-F50.
3. Orvieto R, Shimon C, Rienstein S, Jonish-Grossman A, Shani H, Aizer A. Do human embryos have the ability of self-correction? *Reprod Biol Endocrinol*. 2020;18:98.
4. Eggenhuizen GM, Go A, Koster MPH, Baart EB, Galjaard RJ. Confined placental mosaicism and the association with pregnancy outcome and fetal growth: a review of the literature. *Hum Reprod Update*. 2021;27:885-903.

## COMENTARIO

Soledad Andersen

Especialista en Genética Médica  
Servicio de Genética del Hospital Británico Buenos Aires,  
Ciudad de Buenos Aires, Argentina  
mandersen@hbritanico.com.ar

PGT-A es un método universalmente utilizado desde hace ya 30 años como complemento al FIV, para mejorar el resultado de cualquier transferencia seleccionando embriones que tienen una constitución cromosómica que conduzca a una transferencia exitosa.

El proceso de PGT-A implica: cultivo de embriones para 5-6 días in vitro hasta la etapa de blastocisto con la consecuente remoción de 5 a 10 células del trofotodermo; y el posterior análisis usando tecnología integral de tamizaje cromosómico (Next Generation Sequencing NGS).

Las indicaciones de PGT-A más frecuentes son antecedentes de fallas de la implantación, abortos recurrentes y edad materna avanzada. Actualmente su uso masivo lo posiciona como una técnica accesoria a la FIV, incluso en los tratamientos por ovodonación.

Los posibles resultados de PGT-A son: embrión euploide, aneuploide, mosaico y sin respuesta.

El mosaicismo cromosómico es definido como la presencia en una sola muestra, de dos o más líneas celulares con diferentes líneas cromosómicas. Al biopsiar una pequeña pieza del embrión, la presencia de mosaico puede limitarse a la región de la biopsia. En la etapa de blastocisto, la incidencia de mosaicismo reportado usando NGS varía desde un 2% hasta un 40% según bibliografía.

En 2016 la Sociedad Internacional de Diagnóstico Genético Preimplantacional (PGDIS) emitió una guía para priorizar los embriones en mosaico para la transferencia, basada en el nivel de mosaicismo y el cromosoma específico involucrado (PGDIS, 2016)

Posteriormente, en 2019 PGDIS publicó que transferir de embriones mosaico parece ser una opción relativamente segura para parejas, con bajo o mínimo riesgo de resultados negativos para el embarazo. No obstante, la transferencia de blastocistos con aneuploidías en mosaico, solo debe ser considerada siguiendo el consejo de un experto y con asesoramiento genético adecuado para los pacientes, incluyendo la realización de un NIPT o pruebas invasivas como la amniocentesis donde se puede confirmar o descartar el mosaicismo.

Otro tema interesante que desarrolla PGDIS en 2021 es que de los embriones euploides seleccionados para la transferencia podrían resultar mosaico si se biopsia en otra región del trofotodermo. Dada la naturaleza del mosaicismo y la forma en que surge durante la etapa embrionaria temprana desarrollo, es esperable que una sola muestra de biopsia caracterizada como mosaico no pruebe que el trofotodermo circundante o el resto del embrión también sea mosaico.

El aumento del nivel de mosaicismo puede ser menos favorable para obtener buenos resultados por razones técnicas (plataforma de análisis, variaciones de amplificación, análisis algoritmos) y razones biológicas (mosaicismo localizado vs mosaicismo uniforme) y por esto, no se deben asignar valores de corte precisos para la transferencia.

Un punto interesante que revisa este trabajo a discutir es el estudio del grado de invasión placentaria y su correlación con el crecimiento del cáncer metastásico. La hipótesis manejada es que ambos casos pueden ser dependientes de la presencia de aneuploidía, ya que la aneuploidía ayuda a eludir la respuesta del sistema inmunológico del huésped.

Recientemente también se demostró que las células aneuploides en embriones humanos regulan positivamente el sistema inmunológico.

Aparentemente, la adquisición de aneuploidía es una etapa típica en la diferenciación de los citotrofoblastos de seres humanos a un fenotipo invasivo. Aunque una posible conexión entre la aneuploidía del trofocotodermo y la implantación de embriones requiere más confirmación, esto también explicaría por qué la aneuploidía es tan frecuente en los embriones en etapa de preimplantación pero, luego de la implantación, desaparece rápidamente y casi por completo. Se podría especular que la selección de aneuploidías favorables podría ser útil para ayudar al proceso de implantación.

Si existe relación entre mosaicismos cromosómico e inmunotolerancia, es algo que en el futuro sabremos.

Lo que sí sabemos es que estamos como en el principio: el PGT tiene utilidad indiscutible para enfermedades monogénicas (PGT-M) y en pacientes portadores de translocaciones cromosómicas (PGT-SR). Al momento de ofrecer PGT-A, evaluar costo-beneficio en cada caso particular.

En estos casos siempre es fundamental el acompañamiento, asesoramiento y toma de decisiones mancomunadas con el paciente y los profesionales de las áreas correspondientes (genética, fertilidad y laboratorio de embriología).

Debe tenerse en cuenta que los embriones mosaicos siempre han existido y durante mucho tiempo se realizó FIV sin ser identificado como tal (sin PGT-A). Quizás, según todo lo expuesto, debamos replantearnos volver al principio.

## REFERENCIAS

1. Francesca Romana Grati, Gloria Gallazzi, Lara Branca, Federico Maggi, Giuseppe Simoni, Yuval Yaron, An evidence-based scoring system for prioritizing mosaic aneuploid embryos following preimplantation genetic screening, *Reproductive BioMedicine Online* (2018), doi: 10.1016/j.rbmo.2018.01.005

2. Analysis of implantation and ongoing pregnancy rates following the transfer of mosaic diploid-aneuploid blastocysts Elpida Fragouli, Samer Alfarawati, Katharina Spath, Dhruvi Babariya, Nicoletta Tarozzi, Andrea Borini, Dagan Wells. *Hum Genet* (2017) 136:805–819 DOI 10.1007/s00439-017-1797-
3. Levy B, Hoffmann ER, McCoy RC, Grati FR. Chromosomal mosaicism: Origins and clinical implications in pre-implantation and prenatal diagnosis. *Prenatal Diagnosis*. 2021;41:631–641
4. Capalbo, A., Poli, M., Rienzi, L., Girardi, L., Cimadomo, D., Benini, F., Farcomeni, A., Cuzzi, J., Rubio, C., Albani, E., Sacchi, L., Vaiarelli, A., Vogel, I., Hoffmann, E., Livi, C., Levi-Setti, P.E., Ubaldi, F.M. and Simón, C. A prospective double-blinded nonselection trial of reproductive outcomes and chromosomal normalcy of newborns derived from putative low/moderate-degree mosaic IVF embryos. *medRxiv* 2021:2021.2002.2007.21251201. doi:10.1101/2021.02.07.21251201

# CURSOS BIANUALES

## V Curso Bianual de Especialización en Endocrinología Ginecológica y Reproductiva 2021-2022

- 📍 **Dirigido a médicos especialistas**
- ★ **Modalidad mensual**
- 👥 **Autoridades del curso:**  
Prof. Dra. Mónica Nañez - Prof. Dr. Natalio Kuperman



**CÓRDOBA**

## XIV Curso Superior Bianual en Endocrinología Ginecológica y Reproductiva

- Dirigido a médicos especialistas** 📍
- Modalidad virtual** ★







**BUENOS AIRES**



# II Curso Internacional Universitario de Especialización en Endocrinología Ginecológica y Reproductiva

## SAEGRE 2022

-  Plataforma Virtual: Zoom
-  10 Módulos
-  Marzo a diciembre - 4° sábado - 9 a 13 hs.
-  Directores: Prof. Dra. Blanca Campostrini,  
Dra. Sandra Demayo, Prof. Dr. Manuel Nölting



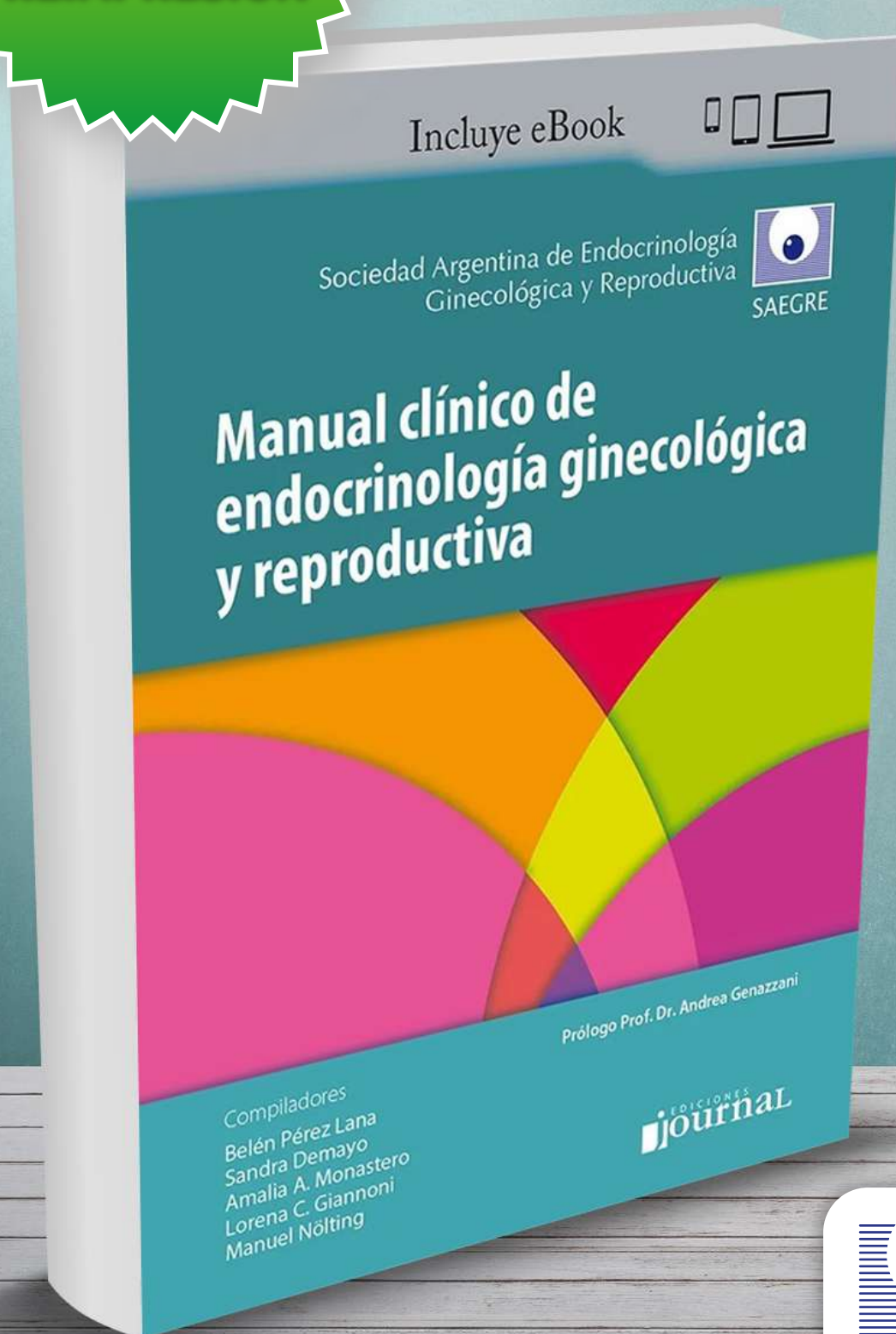
Consultas:  
[congresosaegre@gmail.com](mailto:congresosaegre@gmail.com)

### 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

**¡ÉXITO DE  
VENTAS!  
SEGUNDA  
REIMPRESIÓN**

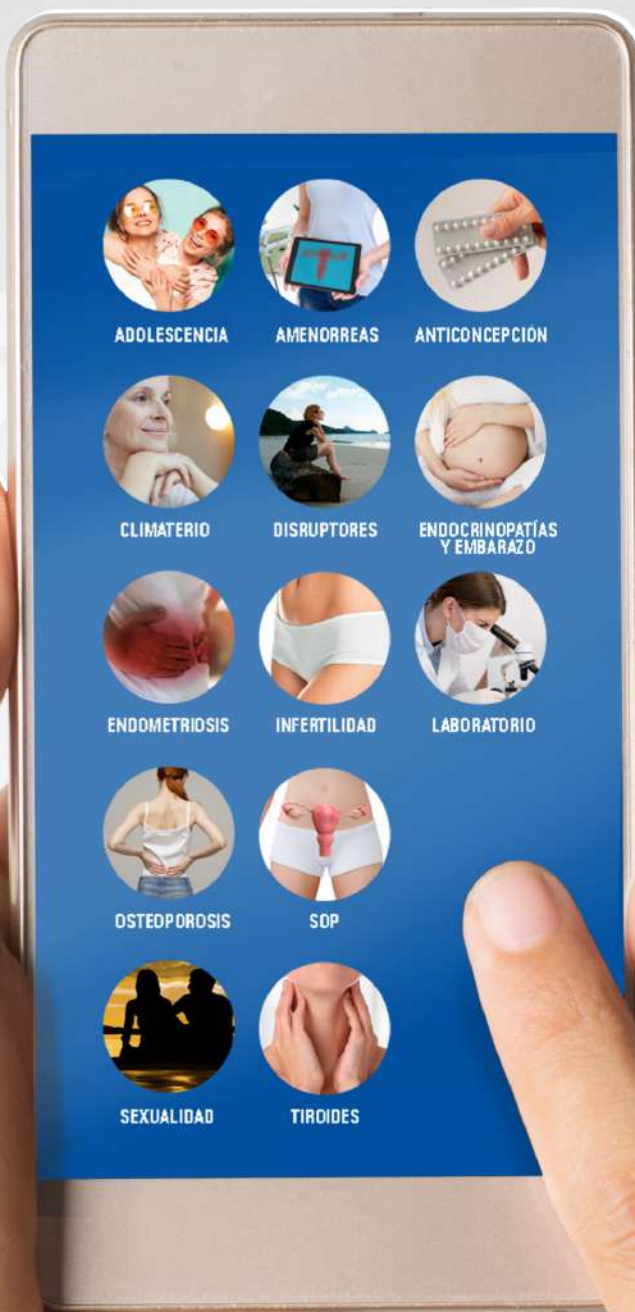
Solicita tu ejemplar ahora  
mismo enviando un email a:  
**librosozizzi@ar.inter.net**



**Programa de Formación  
Continua - Cursos  
Administrados Online**

**¿Y vos?**  
*¿Cuál vas  
a elegir?*

MÁS INFO E INSCRIPCIÓN EN  
[www.saegre.org.ar](http://www.saegre.org.ar)



**¡MUY PRONTO!**

**Psicología  
aplicada a la  
medicina  
reproductiva**

