

Clinical use of 64-row multislice computed tomography hysterosalpingography in the evaluation of female factor infertility

Patricia Carrascosa, Mariano Baronio, Carlos Capuñay, Elba Martín López, Sergio Papier, Carlos Sueldo

Fertil Steril. 2008;90(5):1953-1958.

Reproducción 2010;25:40-43

Summary

Objective. To evaluate the potential clinical value of 64-row multislice computed tomography hysterosalpingography (MSCT-H) in the evaluation of female patients with a diagnosis of infertility and compare it with the use of standard X-ray hysterosalpingography (HSG). **Design.** Comparative prospective study. **Setting.** Outpatient Imaging Diagnostic Centre, Diagnostico Maipu, Buenos Aires, Argentina, and a universityaffiliated fertility institute (Centro de Estudios en Ginecología y Reproduccion, Buenos Aires, Argentina). **Patient(s).** Twenty-two female patients with a diagnosis of infertility. **Intervention(s).** Sixty-four-row MSCT-H and conventional X-ray HSG. **Main Outcome Measure(s).** Diagnostic accuracy of MSCT-H for the evaluation of cervical, uterine, and tubal pathology. **Result(s).** We found that 64-row MSCT-H was useful in identifying female reproductive tract abnormalities, showing in the per patient analysis a sensitivity of 100% and a specificity of 85.71%. This new procedure can be performed without a tenaculum, making it well tolerated. Clinical complications did not occur in any of the patients participating in the study. **Conclusion(s).** Sixty-four-row MSCT-H is a valuable alternative diagnostic technique in the infertility workup algorithm for the evaluation of the female reproductive tract. (Fertil Steril 2008;90:1953-1958. 2008 by American Society for Reproductive Medicine).

Uso clínico de la histerosalpingografía por tomografía computada multislice de 64 filas en la evaluación de la mujer infértil

Resumen

Objetivo. Evaluar el valor clínico potencial de la histerosalpingografía (HSG) por tomografía computada multislice de 64 filas (MSCT-H) en la evaluación de mujeres con diagnóstico de infertilidad y compararla con el uso de HSG convencional. **Diseño.** Estudio prospectivo comparativo. **Material y métodos.** 22 mujeres con diagnóstico de infertilidad fueron estudiadas en los centros Diagnóstico Maipú y CEGYR de Bs As, Argentina. **Resultados.** El uso de MSCT-H resultó útil en la identificación de anomalías en el tracto reproductivo femenino y en la evaluación de la patología tubárica, cervical y uterina evidenciando una sensibilidad de 100% y una especificidad de 85.71%. Este nuevo procedimiento puede llevarse a cabo evitando la colocación de la pinza erina, siendo mejor tolerado. No se observaron complicaciones clínicas en ninguna participante del estudio. **Conclusiones.** El MSCT-H es una técnica de diagnóstico alternativo en el algoritmo para la evaluación del tracto reproductivo femenino.

Comentario de los autores

Los primeros pasos en la implementación de algoritmos de reconstrucción y procesamiento de imágenes de Tomografía Computada (TC) a partir de los cuales es posible generar una visión del interior de una estructura hueca creando una visión "endoscópica" fueron dados a mediados de la década del noventa. A partir del primer reporte de Vining y cols. en 1994 mostrando la posibilidad de evaluar el colon por TC nace lo que hoy se conoce como colonoscopia virtual. Desde entonces, muchos han sido los avances tecnológi-

Trabajos argentinos publicados en el exterior

cos que permitieron reafirmar y expandir el uso de estas técnicas virtuales a otras áreas como el árbol laringotraqueobronquial, el tracto digestivo superior, el aparato urinario y el vascular.

Dos fueron los motivos principales que nos impulsaron al desarrollo de esta nueva técnica diagnóstica. El primer motivo, poder brindarle al médico derivante una información más completa y detallada del aparato reproductor femenino que la brindada por el método tradicional realizado con radiología convencional, la clásica histerosalpingografía. Gracias al importante avance tecnológico que mostró la TC en los últimos años con la aparición en 1999 de los tomógrafos multidetectores, y especialmente con la nueva generación de equipos de 64 filas que ofrecen una excelente resolución espacial, es posible obtener imágenes de alta calidad y con excelente detalle anatómico.

El segundo, y no por ello menos importante, es ofrecerle a la paciente un procedimiento más sencillo, mucho menos invasivo y doloroso con una duración menor y a su vez con menor dosis de radiación.

La histerosalpingografía virtual (HSG-V) se realiza con un equipo de tomografía computada. Es un procedimiento diagnóstico ambulatorio, mínimamente invasivo que no requiere sedación ni anestesia. La técnica se basa en la utilizada en el estudio radiológico clásico de histerosalpingografía con adaptaciones propias a la nueva metodología. Con la paciente acostada en la camilla del tomógrafo en posición ginecológica, se procede a la asepsia de la región perineal y la colocación de un espéculo. Luego se realiza la asepsia de la región del cuello uterino y la colocación de una fina cánula plástica en el orificio cervical externo. Es importante destacar que no es necesario efectuar tracción alguna sobre el cuello uterino, evitando el uso de pinza erina u otros dispositivos que habitualmente son utilizados en el método convencional.

Posteriormente se efectúa la instilación del contraste a través de la cánula, utilizando para ello una bomba de inyección automática que permite una administración paulatina y constante del contraste. El contraste que se utiliza es una dilución de 3 ml de yodo en 17 ml de solución fisiológica. Es posible también en pacientes con antecedentes de reacciones adversas al yodo, la utilización de

una dilución de gadolinio, contraste utilizado en los estudios de resonancia magnética, obteniendo también una excelente calidad de imagen.

Durante la inyección del medio de contraste se inicia la adquisición de las imágenes de tomografía de la región de la pelvis. La duración del *scan* es de aproximadamente 3-4 segundos.

Una vez obtenidas, las imágenes axiales crudas son reprocesadas en una estación de trabajo utilizando diferentes herramientas de post-procesamiento entre las que se destacan:

- a. Reconstrucciones multiplanares, bidimensionales en plano sagital, coronal. Con esta técnica se logra desplegar en un solo plano la silueta uterina, evitando la superposición de estructuras. En estas imágenes se efectúan las mediciones de las lesiones y la evaluación de la pared miometrial.
- b. Proyecciones en máxima intensidad que permiten una adecuada identificación de las trompas uterinas, de su morfología, disposición en la cavidad pelviana y permeabilidad.
- c. Reconstrucciones 3D con ventana de transparencias que permiten evaluar tridimensionalmente el aparato ginecológico, siendo de gran ayuda para la confirmación de lesiones detectadas por las formas de análisis.
- d. Imágenes de endoscopia virtual que muestran el interior del canal cervical y la cavidad endometrial, así como del interior de las trompas cuando éstas están dilatadas.

El espectro es amplio. En el canal cervical se pueden identificar la presencia de pliegues cervicales engrosados, pólipos cervicales, dilataciones glandulares, estenosis cervicales y sinequias.

Con respecto a la cavidad endometrial, los pólipos endometriales son la patología más frecuente. Permite también el diagnóstico de lesiones como sinequias intrauterinas, improntas de miomas submucosos y focos de adenomiosis. Tiene un valor agregado en la evaluación de malformaciones uterinas, ya que además de la visualización de la morfología de la cavidad endometrial brinda información del contorno externo de la silueta uterina (Figuras 2 A, D y 3 A, C). Permite determinar el espesor de la pared del útero, la detección de núcleos miomatosos intramurales y subserosos, y la valoración de las cicatrices de cesáreas previas.

Trabajos argentinos publicados en el exterior

A nivel de las trompas, brinda información de su anatomía. Permite establecer si existe pasaje del contraste a la cavidad peritoneal o si existe estenosis u obstrucción. En casos de hidrosalpinx ofrece la posibilidad de evaluar el interior de la luz tubaria, (Figura 1 A,D).

Por último, no debemos olvidar que al ser una tomografía, podemos estudiar las restantes estructuras de la pelvis y evidenciar hallazgos asociados, como quistes de ovario, teratomas de ovario, o bien patología extra-ginecológica.

Como en todo nuevo procedimiento, hicimos nuestra experiencia comparando el método con los tradicionales, los cuales se tomaron como métodos de referencia.

En la comparación con la histerosalpingografía tradicional, nuestra experiencia con HSG-V realizada con un tomógrafo de 64 filas en 100 pacientes demostró una sensibilidad y especificidad del 100% y 92,80% para la detección de patología cervical, 100% y 85,71% para la detección de patología uterina, y 100% y 100% para la evaluación de la patología tubaria.

Con respecto a la histeroscopia convencional, en nuestra experiencia en 39 pacientes, la HSG-V demostró una sensibilidad y especificidad del 87,5% y 88% para la detección de patología cervical, y 93% y 92% para la detección de patología uterina.

Entre las ventajas del método destacamos: I) la menor invasividad del procedimiento, ya que no requiere de la tracción del cuello uterino, II) una

mejor tolerancia por parte de la paciente, quien refiere un escaso o nulo discomfort en la mayoría de los casos (81% de las pacientes, basados en nuestra encuesta de discomfort), por ser un estudio de corta duración (10-15 minutos) y que no requiere de cambios de posición de la paciente durante el mismo, III) una menor exposición a la radiación (2.58 ± 0.75 mSv, en comparación con los $5,13 \pm 0,24$ mSv del método tradicional), IV) posibilidad de identificar lesiones de escasos milímetros, y V) la valoración de las trompas en casi el 100% de los pacientes gracias a la alta resolución de la TC multidetector de 64 filas.

Con respecto a las indicaciones, la principal es el estudio de la infertilidad.

La repercusión y la aceptación del método por la comunidad médica ha sido muy satisfactoria, lo mismo que el interés generado en las diferentes sociedades científicas, habiendo sido aceptado para presentar en diversos congresos nacionales e internacionales. Hemos logrado publicar nuestra experiencia también en revistas científicas nacionales e internacionales tanto del ámbito radiológico como de la medicina reproductiva. También hemos recibido el primer premio al mejor desarrollo tecnológico otorgado por la Sociedad Americana de Medicina Reproductiva durante su 63^{er} Congreso Anual en el año 2007. También la Sociedad Argentina de Radiología nos otorgó el premio *Magna Cum Laude* al mejor trabajo presentado en formato póster electrónico durante el 54^{to} Congreso Anual en el año 2008.

Figura 2 A, D.

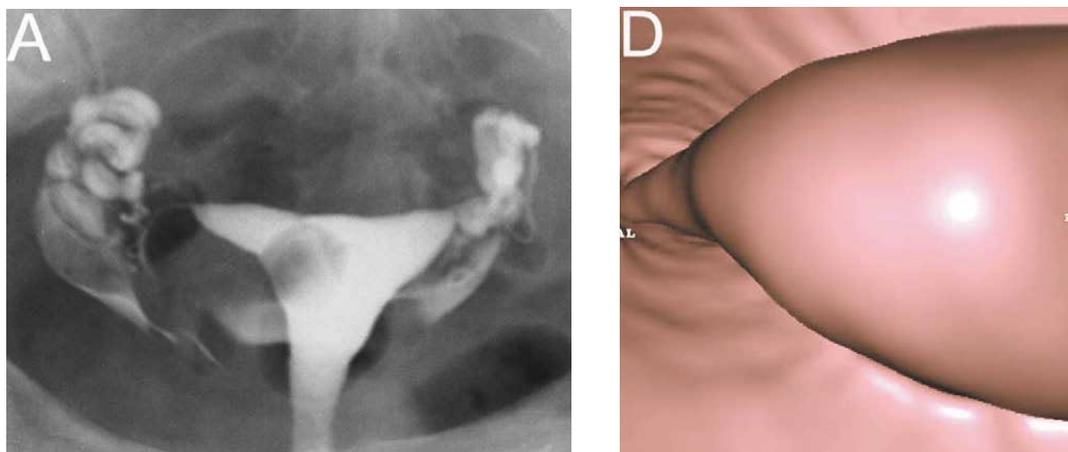


Figura 3 A, C.

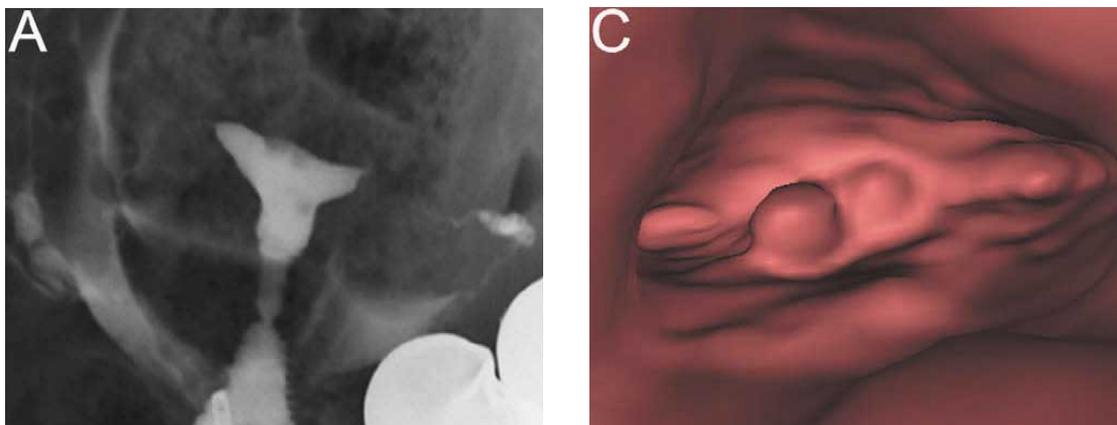
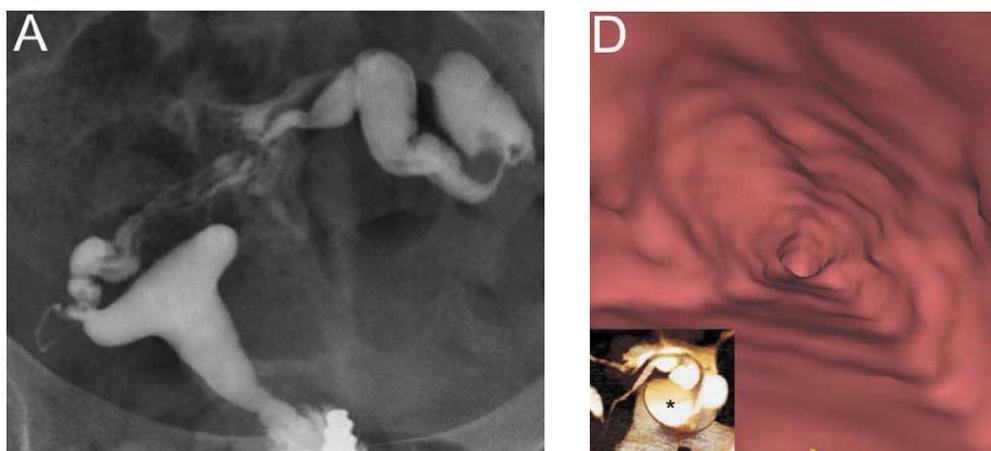


Figura 1 A, D.



Spatiotemporal analysis of the protein expression of angiogenic factors and their related receptors during folliculogenesis in rats with and without hormonal treatment

Dalhia Abramovich, Celin Alejandra Rodríguez, Fátima Hernández, Marta Tesone, Fernanda Parborell

Instituto de Biología y Medicina Experimental (IBYME)-CONICET, Buenos Aires, Argentina.

Reproduction 2009;137(2):309-320.

Reproducción 2010;25:43-45

Summary

This study investigated the protein expression and cellular localization of ANGPT1, ANGPT2, and their receptor TEK, as well as vascular endothelial growth factor A (VEGFA) and its receptor KDR (VEGFR2) during folliculogenesis. To obtain follicles at different stages for immunohistochemistry and western analyses, we used prepubertal untreated, diethylstilbestrol- and equine chorionic gonadotropin-treated rats. To confirm that these hormonal treatments reflect physiological change, we used non-treated adult rats. No expression of ANGPT1 was observed in granulosa cells (Gc) from immature hormone-treated and non-treated rats at any follicular stage. By contrast, ANGPT1 expression in theca cells (Tc) increased with follicular maturation. ANGPT2 protein was either absent or weakly expressed in Gc at all follicular stages. In Tc, minimal expression of ANGPT2 protein was detected in the preantral follicle (PF), whereas it was stronger in the early antral follicle (EAF) and preovulatory follicle (POF). TEK staining was absent in Gc but was intense in Tc at every follicular stage. Staining for VEGFA was either absent or weakly present in Gc and Tc in PF and EAF, although in POF it was stronger in Gc and Tc. Staining for KDR was absent in Gc and very low in Tc from PF. Gc and Tc of EAF showed positive staining for KDR and in POF the staining was stronger. These results were confirmed by western immunoblot. A similar pattern of expression of these proteins was observed in cycling rats. In conclusion, we observed that the protein expression of ANGPT1, ANGPT2, VEGFA and their receptors increased during follicular development in rats.

Análisis espaciotemporal de la expresión proteica de factores angiogénicos y sus receptores asociados durante la foliculogénesis en ratas con y sin tratamiento hormonal

Resumen

Este estudio investigó la expresión proteica y la localización celular de ANGPT1, ANGPT2 y su receptor TEK, así como el factor de crecimiento vascular endotelial A (VEGFA) y su receptor KDR (VEGFR2) durante la foliculogénesis. Para obte-

ner folículos en diferentes estadios para inmunohistoquímica y análisis western utilizamos ratas prepuberales no tratadas, y tratadas con dietilestilbestrol y gonadotropina coriónica equina. Para confirmar que estos tratamientos hormonales reflejan cambios fisiológicos usamos ratas no tratadas adultas. No se observó expresión de ANGPT1 en las células granulosas (Gc) de ratas inmaduras tratadas y no-tratadas en ningún estadio de la foliculogénesis. En contraste, la expresión de ANGPT1 en las células de la teca (Tc) aumentó con la maduración folicular. La proteína ANGPT2 estuvo o ausente o pobremente expresada en las Gc en todos los estadios foliculares. En las Tc, se detectó mínima expresión de ANGPT2 en el folículo preantral (PF), mientras que era más intensa en el folículo antral temprano (EAF) y en el preovulatorio (POF). El marcado para TEK estuvo ausente en las Gc, pero fue intenso en las Tc en cada estadio folicular. El marcado para VEGFA fue débil o inexistente en las Gc y Tc en los PF y EAF, aunque en los POF fue más intensa en las Gc y Tc. El marcado para KDR estuvo ausente en las Gc y fue muy tenue en las Tc de los PF. Las Gc y las Tc de los EAF fueron positivas para el marcado para KDR y en los POF fue más intenso. Estos resultados se confirmaron por *western immunoblot*. Se observó un patrón semejante de expresión de estas proteínas en las ratas cíclicas. En conclusión, observamos que la expresión de las proteínas ANGPT1, ANGPT2, VEGFA y sus receptores aumentaba durante el desarrollo folicular en las ratas.

Comentario de los autores

En el adulto, el *ovario* es uno de los pocos órganos donde ocurre el desarrollo, mantenimiento y regresión de vasos sanguíneos. Si bien los folículos preantrales no poseen vasculatura propia a medida que el antro se desarrolla durante la foliculogénesis, el tejido tecal adquiere vasculatura en forma de dos redes capilares en la teca externa e interna. Se ha postulado que el desarrollo y crecimiento de estos capilares estaría controlado por factores angiogénicos producidos por las células de granulosa. Estos factores actuarían en forma conjunta, estimulando el crecimiento y mediando la reorganización de células endoteliales en estructuras vasculares más complejas. Entre estos factores, se destacan el VEGF (factor de creci-

Trabajos argentinos publicados en el exterior

miento del endotelio vascular), Angiopoyetina 1 (ANGPT1) y Angiopoyetina 2 (ANGPT2).

Los defectos en la angiogénesis ovárica pueden contribuir a una variedad de desórdenes como la anovulación e infertilidad, la pérdida de embarazo, *el síndrome de hiperestimulación ovárica (OHSS)*, *la poliquistosis ovárica (PCOS)* y *los neoplasmas ováricos*.

Una de las características que poseen tanto las pacientes con OHSS como con PCOS, es una angiogénesis alterada donde se observan niveles elevados de VEGFA en suero y fluido folicular.

El OHSS es una complicación iatrogénica severa del crecimiento y maduración folicular ocasionada por la inducción de la ovulación con gonadotrofinas en tratamientos de fertilización asistida (Assistant Reproductive Technics, ART). Las características de la enfermedad involucran: aumento en el tamaño del ovario, sobreproducción de hormonas esteroideas y sustancias como citoquinas, angiotensina y VEGF, contribuyendo de esta manera al aumento de permeabilidad vascular, presencia de ascitis y formación de quistes. Estos quistes son de tejido luteal y hemorrágicos, y probablemente el mecanismo se deba o bien a un aumento de la proliferación/diferenciación de las células foliculares o a la inhibición de la apoptosis. El VEGF es el principal candidato involucrado en la patogénesis de OHSS.

El PCOS, por su parte, afecta a un 5 a 10% de las mujeres en edad reproductiva causando infertilidad y se caracteriza porque las pacientes presentan alteraciones endocrinas, metabólicas y reproductivas. Los principales signos y síntomas son hiperplasia de la teca interna y del estroma con excesiva producción de andrógenos, hirsutismo, obesidad, resistencia a insulina, fertilidad disminuida y ovarios poliquísticos hipertrofiados. A pesar de que este síndrome fue descrito hace más de 50 años, aún no se conoce exactamente su etiología. Varios estudios demuestran que las pacientes con PCOS tienen altos niveles de VEGFA en suero y se cree que este factor proviene de una elevada producción ovárica. Se ha demostrado que las mujeres que presentan PCOS tienen aumentado el flujo sanguíneo del estroma ovárico y que esto estaría relacionado al aumento sérico de VEGFA. Además existen mayores niveles de VEGFA en fluido folicular de pacientes con PCOS comparadas con pacientes control. Cabe destacar, que las mujeres que presentan PCOS, tienen mayor riesgo de desencadenar

OHSS cuando son sometidas a técnicas de fertilización asistida y esto estaría relacionado al aumento de la permeabilidad vascular dada por los altos niveles de VEGFA ováricos y séricos descritos en estas pacientes. Todas estas características estarían indicando que la angiogénesis juega un rol muy importante en el desarrollo de estas patologías.

Por lo tanto, el conocimiento de la función de los factores angiogénicos, VEGF y ANGPTs, tanto en la fisiología como en la patología ovárica, tendría implicancias de importancia en el tratamiento de los desórdenes ováricos que presentan una angiogénesis alterada. Es por esto que decidimos estudiar la expresión proteica y la localización celular de ANGPT1, ANGPT2 y su receptor TEK, así como el factor de crecimiento vascular endotelial A (VEGFA) y su receptor KDR (VEGFR2) durante la foliculogénesis. Para obtener folículos en diferentes estadios para inmunohistoquímica y análisis western immunoblot utilizamos ratas prepúberes no tratadas, y tratadas con dietilestilbestrol y gonadotrofina coriónica equina. Para confirmar que estos tratamientos hormonales reflejan cambios fisiológicos usamos ratas no tratadas adultas. No se observó expresión de ANGPT1 en las células granulosa (Gc) de ratas inmaduras tratadas y no-tratadas en ningún estadio de la foliculogénesis. En contraste, la expresión de ANGPT1 en las células de la teca (Tc) aumentó con la maduración folicular. La proteína ANGPT2 estuvo o ausente o pobremente expresada en las Gc en todos los estadios foliculares. En las Tc, se detectó mínima expresión de ANGPT2 en el folículo preantral (PF), mientras que era más intensa en el folículo antral temprano (EAF) y en el preovulatorio (POF). El marcado para TEK estuvo ausente en las Gc pero fue intenso en las Tc en cada estadio folicular. El marcado para VEGFA fue débil o inexistente en las Gc y Tc en los PF y EAF, aunque en los POF fue más intenso en las Gc y Tc. El marcado para KDR estuvo ausente en las Gc y fue muy tenue en las Tc de los PF. Las Gc y las Tc de los EAF fueron positivas para el marcado para KDR y en los POF fue más intenso. Estos resultados se confirmaron por Western immunoblot. Se observó un patrón semejante de expresión de estas proteínas en las ratas adultas. En conclusión, observamos que la expresión de las proteínas ANGPT1, ANGPT2, VEGFA y sus receptores aumentaba durante el desarrollo folicular en las ratas.