

Long-term follow-up results of fertility sparing surgery in patients with epithelial ovarian cancer

Juan Pablo Anchezar, Juan Sardi, Alejandro Soderini

Gynecologic Oncology Program, Buenos Aires University, Buenos Aires, Argentina.

J Surg Oncol 2009;100(1):55-58.

Reproducción 2010;25:102-103

Summary

Background and objective. To assess clinical and obstetric outcome in young patients with epithelial ovarian cancer treated with fertility sparing surgery. **Methods.** Eighteen patients younger than 40 years carrying epithelial ovarian tumors were submitted to fertility sparing surgery between 1988 and 2003. Disease-free (DFS) and overall survival (OS) were analyzed using the Kaplan-Meier method. Statistical analysis was performed with the chi(2) test. **Results.** Disease free survival (DFS) 83.3% and overall survival (OS) 94.4% of patients treated with conservative surgery at 10 years. Up to date, six of seven patients who attempted pregnancy delivered seven healthy newborns. **Conclusions.** Conservative surgery in young women with epithelial ovarian cancer is an appropriate therapeutic option in patients who wish to preserve childbearing potential. Long-term follow-up results shows excellent overall survival and pregnancy results.

Tratamiento conservador de la fertilidad en pacientes con cáncer epitelial de ovario. Seguimiento a largo plazo.

Resumen

Objetivo. Evaluar el resultado obstétrico y de sobrevida en pacientes jóvenes portadoras de carcinoma epitelial del ovario tratadas mediante una cirugía conservadora de la fertilidad. **Material y métodos.** Dieciocho pacientes menores de 40 años con carcinoma epitelial verdadero del ova-

rio fueron sometidas a un tratamiento quirúrgico conservador de la fertilidad entre 1998 y 2003. La sobrevida libre y la sobrevida global fueron analizadas mediante el método de Kaplan-Meier, y el análisis estadístico fue realizado mediante el *test* X². **Resultados.** La sobrevida libre de enfermedad fue de 83,3% y la sobrevida global fue de 94,4% a 10 años de seguimiento. Seis de siete pacientes que buscaron embarazo lograron concebir siete recién nacidos sanos y a término. **Conclusión.** El tratamiento conservador de la fertilidad es una opción en pacientes jóvenes con cáncer epitelial de ovario y deseos de preservar su posibilidad de procrear. El seguimiento alejado de este grupo de pacientes muestra excelentes resultados en sobrevida y posibilidad de lograr embarazos exitosos.

Comentario de los autores

Cada vez más nos enfrentamos a la eventualidad de intentar preservar la fertilidad en pacientes jóvenes con tumores ginecológicos.

Esto se debe, en parte, al aumento de la tasa de natalidad en las pacientes mayores de 35 años debido a la postergación de la maternidad por razones sociales y/o profesionales. A modo de ejemplo, la tasa de natalidad de madres primerizas en mujeres mayores de 40 años ha aumentado un 44% en Estados Unidos entre 1990 y 2002.

El atraso de la maternidad hace que muchas mujeres se encuentren con el diagnóstico de un cáncer ginecológico sin haber iniciado su familia y con fuertes deseos de preservar su posibilidad de lograrlo. Esto genera un enorme desafío para los médicos que tratamos estas pacientes.

El trabajo fue realizado en la sección de Ginecología Oncológica del Hospital de Clínicas,

Correspondencia: Juan Pablo Anchezar

E-mail: janch@intramed.net

Trabajos argentinos publicados en el exterior

Universidad de Buenos Aires, cuando los autores trabajábamos en ella.

Si bien existían otras publicaciones internacionales con respecto al tratamiento conservador de la fertilidad en este tipo de tumores, muchas de ellas incluían pacientes con otras estirpes celulares (tumores germinales, por ejemplo) o pacientes con tumores epiteliales de bajo potencial de malignidad.

Nosotros quisimos mostrar los resultados en las pacientes con carcinomas epiteliales verdaderos que no son los más frecuentes en este grupo poblacional, pero son los que generan más controversias a la hora de intentar un tratamiento conservador

del útero y al menos de parte de un ovario.

La posibilidad de contar con un seguimiento prolongado fue otro de los puntos destacados a la hora del diseño del trabajo.

El auge de los tratamientos conservadores debe basarse en dos premisas fundamentales que son las siguientes:

- Demostrar resultados de sobrevida similares a los tratamientos estándar.
- Mostrar resultados obstétricos satisfactorios.

Este trabajo muestra que en este grupo de pacientes estas dos premisas esenciales pudieron ser logradas con éxito.

Pentoxifylline and antioxidants improve sperm quality in male patients with varicocele

Alejandro Oliva, Alejandro Dotta, Luc Multigner

Unidad de Andrología, Servicio de Urología, Hospital Italiano de Rosario, Rosario, Argentina.

Fertil Steril 2008;91(4 Suppl):1537-1538

Reproducción 2010;25:103-104

Summary

We examined the effect of 12 weeks of daily oral administration of pentoxifylline with zinc and folic acid on the semen quality of 36 men with varicocele-associated infertility in an open, uncontrolled study. After 4 weeks of treatment, the proportion of morphologically normal sperm cells was significantly increased; these changes persisted until at least 4 weeks after the end of treatment.

El uso de pentoxifilina y antioxidantes mejora la calidad del semen en pacientes con varicocele

Resumen

En un estudio abierto no controlado hemos examinado el efecto sobre la calidad espermática

de la pentoxifilina, zinc y ácido fólico administrados en forma oral durante 12 semanas, en 36 hombres con infertilidad asociada a varicocele. Luego de 4 semanas de tratamiento, la proporción de células espermáticas morfológicamente normales aumentó significativamente. Estos cambios persistieron hasta por lo menos 4 semanas después de la finalización del tratamiento.

Comentario de los autores

Como es sabido, los resultados en grandes series del tratamiento quirúrgico del varicocele en la población que consulta por esterilidad son muy contradictorios. Esta intervención, tratamiento invasivo no libre de algunos efectos colaterales, no deja de ser tema de mucha controversia. La otra alternativa es el tratamiento con fertilidad asistida de alta complejidad con el consecuente impacto en términos de costo-efectividad.

Pensando en la posibilidad de encontrar alguna

Correspondencia: Juan Pablo Anchezar
E-mail: janch@intramed.net

Trabajos argentinos publicados en el exterior

estrategia de tratamiento médico con ninguno o muy pocos efectos colaterales es que decidimos revisar el tema, básicamente de los avances que ha habido en la fisiopatología de este cuadro en los últimos años.

Se confirmaron como mecanismos de daño, por un lado, la influencia de los cambios de temperatura a nivel testicular (por efectos vasomotores periféricos), y por otro, la participación de esta patología sobre el sistema ROS en el escenario seminal, aumentando el nivel de radicales libres.

Trabajos de los años '90 mostraban un efecto empírico beneficioso (tanto *in vitro* como *in vivo*) de la pentoxifilina sobre la calidad seminal, sin precisar demasiado los mecanismos involucrados. En los últimos tiempos se han publicado algunos

trabajos que mostraban el beneficio que los antioxidantes tenían sobre el sistema ROS, demostrando el mejoramiento de la calidad seminal.

Básicamente esto fue lo que nos llevó a pensar que la combinación de una droga con actividad vasodilatadora y modificaciones reológicas -como la pentoxifilina- asociada a antioxidantes que permitirían regular el equilibrio podría tener acción terapéutica en el varicocele.

En la actualidad se está evaluando la hipótesis de que el varicocele produciría ciertas alteraciones específicas a nivel de la cola espermática y que este tratamiento produciría una corrección de esas alteraciones, siendo éste uno de los índices -no el único- del impacto final buscado.

Relación entre la ultraestructura cromatínica y la fragmentación del ADN en espermatozoides humanos

VY Rawe, CR Alvarez, HW Uriondo, G Alvarez, R Lipowicz, H Chemes

Centro de Estudios en Ginecología y Reproducción (CEGYR), Capital Federal, Buenos Aires, Argentina; Laboratory of Testicular Physiology and Pathology, Center for Research in Endocrinology, National Research Council (CONICET), Endocrinology Division, Buenos Aires Children's Hospital, Capital Federal, Buenos Aires, Argentina. *Fert Steril* 2009;92(Suppl 3):142-143.

Reproducción 2010;25:104-105

Comentario de los Dres Vanesa Rawe y Héctor Chemes

La integridad del núcleo espermático es de vital importancia en la generación de un embarazo y en su mantenimiento a término. Hay dos estructuras nucleares cuyas alteraciones pueden influir negativamente en la capacidad fertilizante del espermatozoide: la cromatina (constituída por el ADN espermático asociado a las protaminas) y el acrosoma.

En el presente reporte estudiamos la relación entre los defectos en la compactación de la cromatina espermática (evaluadas por microscopía elec-

trónica) y el daño del ADN (diagnosticado por la técnica de TUNEL con microscopio de epifluorescencia). Las alteraciones cromatínicas corresponden a las "vacuolas" descritas por Bartoov y col (2002), que son responsables de menores de tasas de fertilización y mayores de abortos tempranos. El método de TUNEL examina la integridad del ADN, cuya fragmentación aumentada repercute negativamente sobre los resultados en reproducción asistida.

En el estudio con 77 pacientes se dividieron las muestras y se las procesó de manera simultánea para ME y TUNEL. Luego de la evaluación a doble ciego, observamos que si bien no hubo correlación entre estos dos parámetros los valores de fragmentación del ADN fueron mayores cuando

Correspondencia: Vanesa Rawe
E-mail: vanesa.rawe@gmail.com

las anomalías cromáticas superaban el 50%, siendo este aumento más pronunciado en presencia de condiciones que afectan la calidad espermática (principalmente varicocele y leucocitospermia).

Estos resultados concuerdan con De Iuliis et al., 2009 que encontraron una estrecha correlación entre los niveles de protaminación (evidenciados con el uso de cromomicina A3) y la fragmentación del ADN. Este estudio y otros (Bianchi et al., 1993; Aoki et al., 2006; Zini et al., 2007), relacionan también los problemas de remodelado de la cromatina espermática con el daño en el ADN.

Según Aitken et al. (2009), durante la espermatogénesis existen defectos en el remodelado de la cromatina que pueden venir dados por una anormal relación Protamina1 y 2 (Sakkas et al., 1998; Carrell et al., 2008; De Iuliis et al., 2009) y altos niveles de histonas testiculares (especialmen-

te H2AX). Esto generaría un estado de 'vulnerabilidad de la cromatina' que la convertiría en más susceptible al daño por especie oxígeno reactivas (especialmente si está comprometido el fino balance entre mecanismos de defensa presentes en plasma seminal y un medio ambiente adecuado).

En resumen, nuestras investigaciones recientes indican que la microscopía electrónica y el TUNEL examinan diferentes patologías en la cromatina y el ADN espermáticos y son complementarias al momento de entender la causa de las fallas de fertilización. Por ello deben ser indicados simultáneamente cuando el espermograma muestra valores muy bajos de morfología con criterio estricto (menores al 4%) ya que hay pacientes en los que las alteraciones nucleares se manifiestan por aumentos aislados de alguno de ellos no acompañados por modificaciones del otro.

ICSI outcome using annexin v columns to select nonapoptotic spermatozoa

Vanessa Rawe, Christian Alvarez Sedó, Heidy Uriondo, Sergio Papier, Sandra Miasnik, Florencia Nodar.

Centro de Estudios en Ginecología y Reproducción (CEGYR), Capital Federal, Buenos Aires, Argentina; Laboratory of Testicular Physiology and Pathology, Center for Research in Endocrinology, National Research Council (CONICET), Endocrinology Division, Buenos Aires Children's Hospital, Capital Federal, Buenos Aires, Argentina.

Reproducción 2010;25:105-106

Summary

Objective. To evaluate if the use of magnetic active cell sorting (MACS) combined with Annexin V microbeads reduces sperm DNA fragmentation levels in apoptotic semen samples to be used for ICSI.

Design. Cohort study. **Materials and Methods.** MACS was used in 10 patients with high sperm DNA fragmentation levels analyzed by TUNEL. Patients had at least one ICSI without previous pregnancy and no female factor present (%37 y/o). Sam-

ples were prepared by two gradient layers, the pellet washed with binding buffer and mixed with Annexin V-microbeads. Processed sample was placed on the column and allowed to elute. The eluate was called Annexin V(-) fraction and it was used for ICSI. Viability, motility, cleaved caspase-3 and DNA fragmentation were assessed pre/post MACS, as well as fertilization and pregnancy rates. Statistical analysis: Student's t-test. **Results.** In all cases, DNA fragmentation and cleaved caspase-3 levels were reduced after MACS ($p < 0.05$). The overall mean sperm motility and viability increased 6%. The overall fertilization rate was 85% and 6 positive bhCG levels were

Correspondencia: Vanessa Rawe
E-mail: vanessa.rawe@gmail.com

Trabajos argentinos publicados en el exterior

detected. Three out of the 6 pregnancies obtained, showed a single gestational sac with positive cardiac activity. **Conclusions.** Results indicate that MACS seems to be effective in reducing the number of apoptotic spermatozoa improving pregnancy rates in ICSI patients with high sperm DNA fragmentation. A prospective randomized study should be carried out to evaluate the full value of integrating MACS during sperm preparation before ICSI.

Comentario de la Dra Vanesa Rawe

¿Cuáles son las implicaciones clínicas del estudio de fragmentación de ADN en el tratamiento de la infertilidad?

Un aspecto importante relacionado con la fragmentación del ADN espermático que está cobrando actualmente un gran relieve, es la existencia de subgrupos de parejas infértiles que consultan con una historia de infertilidad de larga evolución o fallo repetido de embarazo sin causa aparente. En muchos casos, el daño del ADN espermático puede ser uno de los factores responsables de su problema de infertilidad.

Ante la existencia de daño en el ADN espermático, en los últimos años han surgido distintas alternativas de selección espermática al momento del ICSI. Entre ellos podemos mencionar al uso de espermatozoides testiculares (del inglés: testicular sperm aspiration, TESA), la selección morfológica con alta magnificación (del inglés: Intracytoplasmic Morphologically-Selected Sperm Injection, IMSI®), la selección espermática luego del pegado al ácido hialurónico (PICSI®) y el uso de espermatozoides luego del pasaje por Colum-

nas de Anexinas V o MACS (del inglés: Magnetic Activated Cell Sorting®).

El trabajo presentado de manera oral en el Congreso de ASRM 2009 resume los resultados de 10 pacientes que procedieron al tratamiento de ICSI+MACS en CEGYR, resaltando una tasa promedio de fecundación de 79,5% y la presencia de tres embarazos evolutivos (tasa de embarazo clínico evolutivo por transferencia embrionaria= 30%). En todos los casos se transfirieron 2 embriones con al menos uno de buena calidad. En la actualidad, los tres embarazos evolutivos son niños nacidos sanos sin trastornos neonatales.

El uso de espermatozoides no apoptóticos y el consecuente mejoramiento de muestras de espermatozoides al momento del ICSI impacta de manera positiva en la calidad embrionaria y embarazos evolutivos. Sakas y cols., 2005 sugieren que el aporte del espermatozoide durante el proceso de fecundación es aproximadamente de un 10-15% (comparado con el ~80% por parte del ovocito). Cabe esperar entonces que las tasas de embarazos se incrementen en un ~15% y que la maquinaria intracelular del ovocito sea el 'cuello de botella' en este proceso. Con las MACS se logra pasar de una muestra de espermatozoides patológica en términos de fragmentación del ADN a una normal al momento del ICSI. La población de espermatozoides a ser inyectados está enriquecida en espermatozoides sanos y por lo tanto las chances de éxito son mayores. La experiencia adquirida por diferentes grupos hasta este momento así lo demuestra y a esa conclusión se arribó luego de la última reunión de biólogos de SAMER en Abril, 2010.