

Actividades Científicas de SAMeR

Comentarios de la III reunión científica mensual de SAMeR

Martín Vilela

Subdirector del IFER y Miembro de la Comisión Directiva de SAMeR.

Reproducción 2011;26:137-139

El jueves 18 de agosto del corriente año se realizó la 3° reunión científica mensual de SAMeR, como es habitual, en la Fundación Cassará, organizada por los capítulos de Fertilización Asistida y el de Biología de la Reproducción de esta sociedad.

En esta oportunidad el tema de la reunión fue "Falla reiterada de implantación en FIV". Dado que es un tema que involucra tanto a clínicos como a biólogos, se dividieron las charlas en subtemas, a saber:

El primer expositor, el **Licenciado Claudio Bisioli**, director del Laboratorio de Embriología de Pregna, abordó el tema de las **Causas Embrionarias**. Bisioli comentó que la selección de embriones humanos con alto poder de implantación es de fundamental interés en los programas de fecundación *in vitro*. La evaluación morfológica subjetiva usando microscopía óptica sigue siendo el método de rutina, ya que en la práctica se sigue usando la vieja clasificación embrionaria basada en la observación de los mismos a las 48 o 72 hs para conocer el número y calidad de sus células, la presencia de inclusiones citoplasmáticas y el nivel de fragmentación. Recientemente se ha llegado a un consenso internacional para definir una sola manera de clasificar embriones y de este modo hacer que las comparaciones inter-laboratorios sean posibles (*Alpha Scientists in Reproductive Medicine y ESHRE Special Interest Group of Embryology. The Istanbul consensus workshop on embryo assessment: proceedings of an expert meeting. Human Reproduction 2011; 26(6):1270-1283*).

En los últimos años se han ido incorporando otros aspectos que podrían ser tenidos en cuenta para una mejor evaluación de la morfología embriona-

ria: la observación de la forma y alineación de los pronúcleos, el número de núcleos de cada blastómera ("multinucleación") y el clivaje temprano. Es posible que en un futuro muy cercano los laboratorios de FIV evalúen en forma rutinaria la calidad embrionaria a través de al menos tres medidas:

- El estudio de su integridad cromosómica a través de métodos de *screening* genético preimplantatorio (PGS según su sigla en inglés) que incluya el *screening* de todos los cromosomas como la hibridación genómica comparativa (CGH según su sigla en inglés).
- La visualización continua de los embriones en desarrollo a través de la cinematografía de lapsos de tiempo, lo que permitirá comparar el desarrollo de los embriones de una cohorte para elegir los mejores (como la morfología clásica, pero no en un par de "fotos" a las 48 o 72 horas, sino en continuado).
- El estudio del perfil metabólico, el cual indicará qué metabolitos produce y cuáles toma (o no) de su ambiente un embrión en crecimiento con el mejor potencial de implantación.

Respecto del PGS, se comentó que a pesar de que se conoce que aproximadamente un 68% de los ovocitos presentan anomalías cromosómicas, el PGS se encuentra en una etapa de grandes cuestionamientos debido a las discrepancias en sus resultados según diferentes grupos de trabajo. Mencionó especialmente el trabajo de Mastenbroek y col (Mastenbroek, y col. *In Vitro Fertilization with Preimplantation Genetic Screening*. NEJM 2007; 357:9-17) que demuestra que esta técnica no mejora las tasas de nacido vivo e incluso las disminuye en edad materna avanzada. Sin embargo, este metanálisis ha recibido numerosas críticas en estudios posteriores (*Schoolcraft y col,*

Correspondencia: Martín Vilela
E-mail: marvilela@yahoo.com

Fertil Steril 2009;9:157) que, si bien no demuestran diferencias significativas, muestran una tendencia a la disminución de las tasas de aborto en pacientes abortadoras recurrentes. Con respecto a las alternativas a la técnica clásica de biopsia embrionaria en día 3, Bisioli mencionó a la biopsia del trofoectodermo en estadio de blastocisto, debido a que podría reducir el error de diagnóstico que resulta del mosaicismo. También mencionó la biopsia del corpúsculo polar, la cual presenta la ventaja de otorgar más tiempo para el análisis genético. Finalmente se refirió a la técnica del CGH como una herramienta en desarrollo que posee la ventaja de poder analizar todos los cromosomas.

Un segundo tema abordado en su exposición fue el de la Metabolómica, técnica que evalúa el potencial implantatorio del embrión a través del análisis de sus metabolitos, tomando en cuenta que un embrión produce entre 2.500 y 3.000 metabolitos, un número sensiblemente menor que el número de sus genes (25 a 30.000, estudiados a través de la genómica). Como ejemplo de estudio metabolómico, se comentó que los embriones con cariotipo 46 XX consumen más glucosa, al igual que embriones analizados que han generado embarazo. Para estudiar algunos de estos metabolitos se utilizan distintos tipos de espectrofotometría. En particular, Bisioli presentó resultados de Pregunta y de la Universidad Nacional de La Plata obtenidos luego del estudio de medios de cultivo de embriones individuales, donde los líquidos pertenecientes a embriones que produjeron embarazo mostraron un perfil espectrofotométrico diferente al de los que no implantaron.

El segundo expositor fue el **Dr Roberto Inza**, médico especialista en reproducción del *staff* del IFER, que abordó el tema de las fallas implantatorias de **causa uterina**. Al respecto, se mencionó a la ecografía como el estudio más básico y utilizado como evaluación primaria de la cavidad, pero que solo puede limitarse a ver el espesor y el patrón endometrial. También se mencionó al *Doppler* endometrial y subendometrial, pero la técnica central que dominó esta exposición fue la Histeroscopia, que constituye el *goldstandard* en la evaluación y tratamiento de patología intracavitaria clásica como pólipos endometriales, miomas submucosos y sinequias uterinas. La histeroscopia, si bien su indicación permanece en dis-

cusión en pacientes con fallas reiteradas, permite el diagnóstico de patología endometrial "sutil" (micropólipos, endometritis) en un 18 a 50% de las pacientes con fallas reiteradas de implantación que presentaban diagnóstico de imágenes hormonales. Por otra parte, el hecho de tomar una biopsia endometrial en el ciclo previo a un tratamiento de FIV podría aumentar su probabilidad de implantación posterior, según señalan algunos autores. El Dr Inza también mencionó algunos marcadores endometriales de implantación como el *Test* de integrina $\alpha 5 \beta 3$, que es un marcador de regulación mitótica endometrial, y que se encuentra disponible comercialmente aunque existen pocas series publicadas respecto de su utilidad. Se mencionó también los trabajos del Dr Carlos Simón del Instituto Valenciano de Infertilidad (IVI) sobre transcriptómica del endometrio mediante análisis genómico de *microarrays* en los cuales se describe una "firma" transcriptómica de receptividad endometrial, que ha demostrado gran especificidad aunque todavía una baja sensibilidad. Se mencionó también la importancia de tomar en cuenta la funcionalidad del miometrio-subendometrial que genera una contractilidad funcional según el momento del ciclo en el útero no gestante (por ejemplo, aumenta en el período preovulatorio y disminuye en la ventana de implantación). Este músculo subendometrial tiene receptores de estrógeno y progesterona que se van expresando en las diferentes fases del ciclo. Algunas patologías como la endometriosis o la adenomiosis pueden alterar este peristaltismo con la consecuente disminución de la fertilidad.

Finalmente se hizo hincapié en la Endometritis Crónica Inespecífica, patología que está descrita en hasta un 30% de las pacientes con falla de FIV y que produce una disminución de la tasa de implantación. Esta patología está generada por productos secretados por bacterias de difícil cultivo, y de diagnóstico histopatológico, a través de un típico infiltrado linfoplasmocitario del tejido endometrial. Ante su diagnóstico, debe tratarse empíricamente (dado que es difícil establecer el germen causal) con antibióticos del tipo de la Ciprofloxacina y el Metronidazol previo a un nuevo tratamiento de FIV.

La tercera expositora, la **Dra Vanesa Rawe**, directora de REPROTEC, abordó el tema de la falla implantatoria de **causa espermática**. Comen-

tó el hecho de que desde hace aproximadamente 10 años atrás hubo un resurgimiento del estudio de la patología espermática, mencionando que "en la era del ICSI, no basta sólo con un espermograma" para la evaluación del factor masculino. Describió la patología del espermatozoide de la cabeza, cuya forma extrema es la globozoospermia, y otras patologías del centríolo que afectan la formación de los pronúcleos y el clivaje embrionario posterior, al igual que las anomalías del acrosoma como la hipoplasia acrosomal, todas ellas patologías que en general suelen tener pobres resultados luego de ICSI. Además, mencionó las patologías de la pieza intermedia que también afectan la fertilización, y las anomalías del flagelo que afectan mayormente a la movilidad espermática y tienen mejores resultados. Se hizo también mención al FISH en espermatozoides, como un interesante estudio que permite la exploración en simultáneo de varios cromosomas y debe ser realizado en al menos 10.000 espermatozoides para poder valorar la baja frecuencia de anomalías reportadas en algunos cromosomas. Los valores normales esperados van entre el 5-10%, mientras que los varones con oligoastenoteratospermia (OAT), trastornos genéticos en sangre periférica y los expuestos a quimio y radioterapia, poseen valores patológicamente aumentados.

El tema central que tocó la Dra Rawe fue el estudio de la fragmentación del ADN espermático, ya que esto repercute de manera significativa en el potencial implantatorio del embrión. El estudio que mejor evalúa esta anomalía es la técnica de TUNEL, que permite detectar la fragmentación TOTAL del ADN (sin diferenciar entre la de cadena simple y doble). El estudio que complementa la evaluación de la fragmentación del ADN es la detección de la apoptosis espermática mediante la evaluación de la Caspasa 3. La combinación de estas dos técnicas, TUNEL y Caspasa, permite además una evaluación más abarcativa en el tiempo. Las indicaciones para realizar estos estudios son: varicocele, Asteno o teratospermia severa, hombres mayores de 45 años, antecedentes de quimio o radioterapia, mala calidad embrionaria y aborto recurrente. Finalmente, la Dra Rawe explicó que hoy ya se puede evaluar la dinámica de la fragmentación del ADN espermático en el tiempo y observar el comportamiento

de esa muestra espermática en tiempo real en condiciones de cultivo *in vitro*, similar a lo que acontece en el tracto genital femenino.

El último expositor de esta reunión fue el Dr Demián Glujovsky, médico especialista en reproducción del CEGYR y revisor de la Colaboración Cochrane que planteó el tema de la falla reiterada de implantación desde la óptica de la **medicina basada en la evidencia**. Esta exposición fue breve, pero sumamente interesante dado que expuso las dificultades que se plantean desde el punto de vista de la evidencia científica en este tema, comenzando por la definición del mismo, dado que no hay consenso y las diferentes publicaciones parten de definiciones distintas. Por lo tanto, se deben interpretar los resultados en función de la definición elegida por cada autor, lo cual dificulta la comparación entre los diferentes estudios. Además, la evidencia de buena calidad encontrada fue escasa, haciéndose mención sólo a 4 revisiones sistemáticas publicadas en los últimos 5 años. Estas revisiones analizaron el beneficio de:

- Realizar una lesión endometrial en el ciclo previo (sólo se incluyeron 3 estudios): Se observó un beneficio estadísticamente significativo (además, un cuarto estudio involucró a la histeroscopia, también con beneficios).
- Uso del PGD: La evidencia disponible no apoya el uso de esta técnica para mejorar la tasa de nacidos vivos, en el contexto de fallas de implantación reiteradas.
- Uso de heparina en pacientes sin trombofilias: 1 solo ensayo clínico aleatorizado que no halló efecto favorable del uso de heparina en estas pacientes.
- Uso del Hatching Asistido: 5 estudios aleatorizados sobre 218 pacientes demuestran un Odd Ratio 1,73 a favor del uso de esta técnica.

El Dr Glujovsky se encargó de señalar que esta es la evidencia disponible, que es pobre hasta el momento, que sólo abarca temas muy puntuales y que sería el momento de realizar estudios con un diseño adecuado para poder disponer de una evidencia científica más rica sobre este tema.

Finalmente, aprovecho para agradecer y felicitar a todos los expositores de esta reunión que resultó sumamente aprovechable para todos los miembros de la sociedad que asistieron, como era esperado, en gran cantidad.