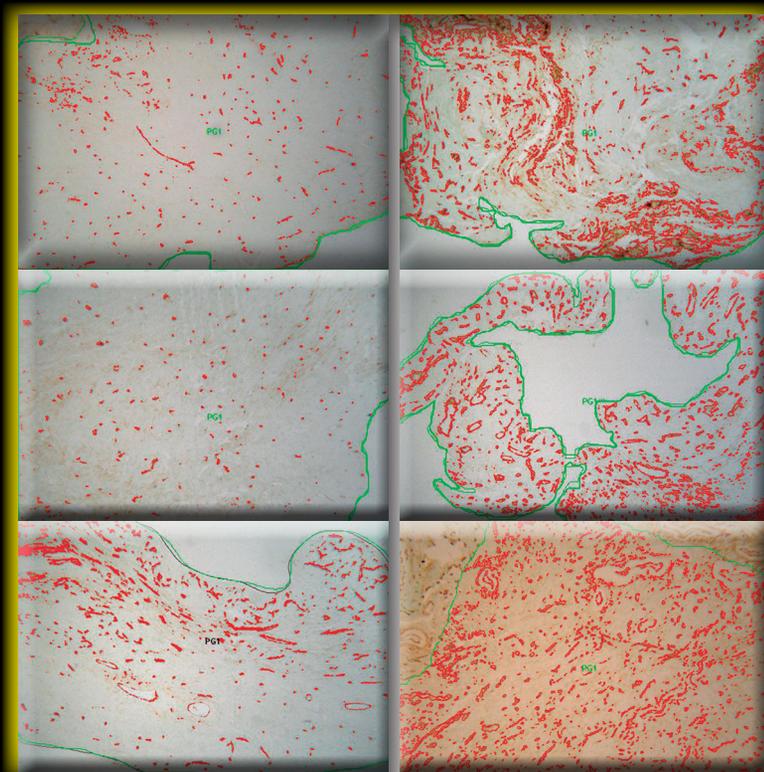


# Reproducción

ÓRGANO OFICIAL DE LA SOCIEDAD ARGENTINA DE MEDICINA REPRODUCTIVA



**SAMeR**  
Sociedad Argentina de  
Medicina Reproductiva

# Reproducción

Volumen 30 - Nº 2 - Junio de 2015

Órgano oficial de la Sociedad Argentina de Medicina Reproductiva (SAMeR)

## Comisión Directiva 2015-2016

**Presidente**  
A. Gustavo Martínez

**Vice-Presidente**  
Gustavo Botti

**Secretario**  
Stella Lancuba

**Pro-Secretario**  
Edgardo Young

**Tesorero**  
Gustavo Estofán

**Pro-Tesorero**  
Martín Vilela

**Comité Científico**  
**Presidente**  
Sebastián Gogorza

**Vocales Titulares**  
Gabriel Fiszbajn  
Juan Aguilera  
Gastón Rey Valzacchi  
Alicia Pené

**Vocales Suplentes**  
Marcela Irigoyen  
Fabián Lorenzo

**Comité de Fiscalización**  
**Titulares**  
Edgardo Andreatta  
Fernanda Raffo  
Matías Marconi

**Comité de Fiscalización**  
**Suplentes**  
Marco Vitale  
Adriana Grabia  
Luciano Sabatini

## Comité Editorial

**Editores en jefe**  
Guillermo Terrado - Silvia Ciarmatori

**Editor en jefe honorario**  
Anibal Acosta

**Editores**  
Valeria Basconi  
Marisa Geller  
Adriana Grabia  
Laura Mitelberg  
Alicia Pené  
Martín Vilela  
Sandra Miasnik

## Colaboradores Internacionales

Marcelo J. Barrionuevo  
Claudio Benadiva  
Juan Antonio García Velasco  
Isaac Kligman  
J. Ricardo Loret de Mola  
Sergio Oehninger  
Carlos Simón Vallés  
Carlos Sueldo

**Secretario Editorial**  
Marcelo Garcea

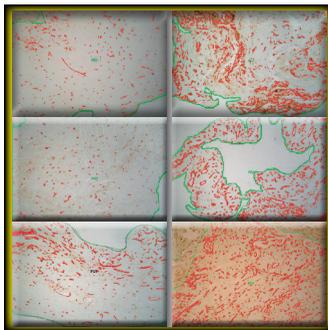
**Encargado de Edición y Publicidad**  
Raúl Groizard

**Diseño y armado digital**  
Candela Florencia Córdova

**Corrector**  
Hernán Sassi

## Administración

**Secretaria Ejecutiva**  
Fernanda Alemán



*Inmunomarcación vascular selectiva con anticuerpo monoclonal CD34 de tejidos ováricos con y sin endometrioma.*

*Gentileza del Dr Martín Vilela. Pregna. Medicina Reproductiva*

Es una publicación afiliada a la *International Federation of Fertility Societies* (IFFS) y a la Asociación Latinoamericana de Medicina Reproductiva ALMER (Ex- FLASEF).

Para comunicar cambios de dirección, reclamar números no recibidos, solicitar reimpresiones de artículos, solicitar números adicionales o colocar avisos; dirigirse por correo o e-mail a las direcciones mencionadas.

Las opiniones y afirmaciones expresadas en artículos, editoriales u otras secciones de *Reproducción* corresponden a los respectivos autores.

Ni el Comité Editorial de la publicación ni la Sociedad Argentina de Medicina Reproductiva (SAMeR) se hacen cargo de ellas.

ISSN: 0327-9294



Tucumán 1613 - 6 Piso Dto C y D (C1050AAG), Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina  
Tel./Fax: (0054-11) 4371-2257/2358 - E-mail: info@samer.org.ar - www.samer.org.ar  
E-mail: reproduccion@reproduccion.org.ar - www.reproduccion.org.ar

## ÍNDICE

<b>EDITORIAL</b>	<b>Se busca</b> <i>Guillermo Terrado</i>	<b>47</b>
<b>TRABAJO LIBRE</b>	<b>Funcionalidad del parénquima ovárico adyacente a endometriomas: Estudio vascular inmunohistoquímico</b> <i>Martín Vilela</i>	<b>48</b>
	<b>Todos los extremos son malos: valor predictivo de los métodos diagnósticos en pacientes con baja y alta respuesta</b> <i>Guillermo Terrado, Marcelo Garcea, Fabio Sobral, Laura Kopcow, Alejandro Oubiña, Ignacio de Zúñiga</i>	<b>59</b>
	<b>Receptividad endometrial: La ecografía <i>Doppler</i> y la aplicación de sildenafil ofrecen mejores resultados en pacientes con fracasos en los tratamientos de fertilización <i>in vitro</i>. Resultados preliminares</b> <i>Edgardo Andreatta, Alfredo C Elena, Claudio R Distilo, Guillermo Landi, Carmen E Machado, Alicia I Pené, Néstor A Pirrotta</i>	<b>63</b>
<b>REVISIÓN</b>	<b>Actualización sobre enfermedades tiroideas en mujeres con abortos recurrentes</b> <i>Mariana López, Constanza Branzini, Ismael De Baisi, Stella Maris Lancuba</i>	<b>72</b>
<b>CONCLUSIONES DE LAS REUNIONES CIENTÍFICAS DE SAMeR</b>	<b>VII Jornada SAB-SAMeR 21/08/2014</b>	<b>80</b>
<b>NOVEDADES DE SAMeR</b>	<b>Actividades científicas Jornadas conjuntas</b>	<b>83</b>
<b>CENTROS ACRED</b>	<b>Listado de centros acreditados</b>	<b>84</b>

## Se busca

Reproducción 2015;30:47



Todos estamos permanentemente buscando algo. Siempre. Buscamos estudiar, progresar, crecer. Esto es así tanto en lo individual como en lo colectivo, y SAMER no es la excepción. Nuestra sociedad ha crecido como nunca en los últimos años. Tenemos cada vez más cursos, más socios, más integrantes en los congresos, jornadas y reuniones mensuales. Cada vez más importante es la influencia que tiene para acompañar los importantísimos cambios que se han venido produciendo en nuestra especialidad. Se requiere su presencia y accionar para acreditar centros de fertilidad y especialistas en medicina reproductiva. Se solicita su opinión para reglamentar leyes y hasta para brindar la información médica necesaria que permita fundamentar los cambios del nuevo Código Civil de nuestro país.

Cuando hace poco más de 3 años acepté el ofrecimiento de desempeñarme como editor en jefe de la revista *Reproducción* junto a la Dra Silvia Ciarmatori, buscaba poder seguir ayudando al crecimiento de la Sociedad desde otro lado, siempre con la premisa de que la misma siga progresando y se desarrolle a la par de otros logros mencionados. Fue así que decidimos cambiar su estética de portada, armar un nuevo comité editorial de excelencia y solicitar la colaboración de destacados colaboradores extranjeros. Desarrollamos nuevas

secciones, mantuvimos la tirada de 4 números anuales y solicitamos la redacción de los resúmenes de las publicaciones en inglés, con la finalidad de poder algún día lograr la tan ansiada indexación de nuestra revista.

Pero vaya a saber uno porqué, a pesar de los esfuerzos en solicitar material para publicar, solo conseguimos la respuesta de unos pocos, y esta situación lamentablemente se ha venido agravando con el tiempo. Desde las reuniones mensuales de comité editorial intentamos aguzar el ingenio para proponer nuevas estrategias que nos permitan lograr una mayor colaboración.

La revista *Reproducción* es el “órgano oficial de difusión de la sociedad” y como tal pierde su sentido si no cumple con la premisa de lograrlo.

La revista busca nutrirse de nuestra labor científica.

La revista busca crecer con nuestro aporte.

La revista busca ser el medio por el que podamos comunicar lo que hacemos.

La revista busca ser de *todos*.

**Dr Guillermo Terrado**

*Editor en jefe*

En esta sección los trabajos presentados deberán reunir las siguientes condiciones:

1. Deberán estar escritos en castellano.
2. Preferentemente en Word.
3. No deberán superar preferentemente las 25 carillas de hoja tamaño A4, escritas en cuerpo de letra 12, a doble espacio.
4. El ordenamiento de los mismos deberá seguir la estructura clásica de:
  - a. Título.
  - b. Autores, centro al que pertenecen y correo electrónico de contacto.
  - c. Resumen en castellano y en inglés (excluyente) de no más de 200 palabras.
  - d. Palabras clave: no más de 5 (cinco).
  - e. Introducción.
  - f. Material y métodos.
  - g. Resultados.
  - h. Discusión.
5. Las abreviaturas deberán ser definidas al ser mencionadas por primera vez,

excepto aquellas aceptadas por convención (por ejemplo, FIV, ICSI, etc).

6. Tablas y cuadros: en blanco y negro, teniendo especial cuidado de ser bien referidos desde el texto.
  7. Figuras: todas serán en blanco y negro.
  8. Bibliografía: las citas se harán en el texto y se ordenarán en forma correlativa al final del trabajo por orden de aparición. Las citas de revistas deberán consignarse de la siguiente manera:
    - a) apellido completo e iniciales de los 3 primeros autores, sin puntos y separados por comas; si hubiera más, puede colocarse "et al"; b) título del trabajo; c) abreviatura del nombre de la revista (tal como figuran en el Index Medicus); y e) año, volumen, número de la revista (optativo), página inicial y final.
- En todos los casos el envío de trabajos, comentarios y publicaciones deberá hacerse por correo electrónico a la dirección de la secretaria de SAMeR: info@samer.org.ar

## Funcionalidad del parénquima ovárico adyacente a endometriomas: Estudio vascular inmunohistoquímico

Dr Martín Vilela

Versión acortada de la Tesis Doctoral del Dr Martín Vilela, aprobada por la Facultad de Medicina, UBA.

Reproducción 2014;30:48-58

### Resumen

*Existen históricas controversias sobre la influencia de la cirugía del endometrioma sobre la función ovárica posterior, pero son escasas las investigaciones acerca de cuál es la influencia del endometrioma sobre el tejido ovárico que lo circunda, es decir, previo al accionar de la cirugía. Se plantea la hipótesis según la cual podría existir una alteración de la histología ovárica adyacente al quiste endometriósico con compromiso de la vascularización e irrigación del aparato folicular. **Objetivo.** Evaluar si la presencia de un endometrioma ovárico se asocia a una disminución en la fertilidad de la mujer a través de un mecanismo de alteración en la vascularización del parénquima ovárico que lo circunda, disminución de su población folicular y/o alteración de su índice de proliferación celular. **Material y métodos.** Evaluación sobre una cohorte prospectiva de pacientes en edad fértil con endometrioma ovárico unilateral operadas por laparoscopia. Posteriormente a la quistectomía se obtuvieron muestras para estudio del tejido ovárico adyacente al endometrioma resecaado (grupo estudio) y del ovario contralateral sano de la misma paciente (grupo control). Se realizó recuento folicular histológico e in-*

*munohistoquímica para cuantificación de vascularización mediante tinción con anticuerpo monoclonal CD34 (específico para endotelio vascular) y para proliferación celular con PCNA. Asimismo, se evaluó correlación entre el tamaño del endometrioma ovárico y los parámetros mencionados del parénquima ovárico adyacente al quiste endometriósico. **Resultados.** Se evaluaron los tejidos ováricos adyacentes a quistes endometriósicos removidos y tejidos ováricos de ovarios contralaterales en 32 pacientes intervenidas quirúrgicamente. El promedio de edad de las pacientes fue  $30,5 \pm 4,1$  años, (rango: 24 a 40). El promedio de tamaño de los quistes endometriósicos fue  $5,05 \pm 1,59$  cm (rango: 3,5 a 8 cm). Se encontró significativa menor población folicular ( $2,18 \pm 2,7$  vs  $6,21 \pm 6,2$  folículos en campos 100X,  $P < 0,05$ ), menor vascularización (área vascular relativa  $2,87 \pm 1,65$  vs  $4,46 \pm 2,4$ ,  $P < 0,05$ ) y menor proliferación celular ( $5,2 \pm 1,8$  vs  $7,4 \pm 4,2$ ,  $P < 0,05$ ) en los tejidos ováricos adyacentes a quistes endometriósicos en comparación a los tejidos ováricos sanos contralaterales. Por otra parte no se encontró correlación significativa entre el tamaño de los quistes endometriósicos y el número de folículos del parénquima ovárico adyacente [coeficiente  $r$  (Pearson) =  $-0,24$ , IC 95%:  $-0,44 - 0,11$ ,  $P = 0,17$ , NS], ni con el patrón de vascularización [coeficiente  $r$  (Pearson) =  $-0,054$ , IC 95%:  $-0,39 - 0,30$ ,  $P = 0,76$ , NS] ni con el pa-*

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

trón de proliferación celular de ese tejido [coeficiente  $r$  (Pearson)=0,129, IC 95%:-0,45 – 0,22,  $P = 0,47$ , NS]. **Conclusión.** La funcionalidad del tejido ovárico adyacente a un quiste endometriósico puede verse afectada por la presencia del mismo quiste ya que la población folicular, la vascularización y la proliferación celular del tejido adyacente a ese quiste se encuentran significativamente disminuidas cuando se las compara con similares parámetros del tejido ovárico contralateral sano de la misma paciente. Este compromiso tisular no se encuentra asociado al tamaño del quiste endometriósico en cuestión, lo cual sugiere que esta alteración se encuentra condicionada por la presencia del endometrioma mismo.

**Palabras claves.** Endometrioma, función ovárica, cd-34, fiv.

## Ovarian tissue surrounding endometrioma function: vascular immunohistochemical analysis

### Summary

**Objective.** To assess the function of ovarian tissue surrounding endometrioma by evaluating vascularization, follicle count and proliferation index. **Design.** Prospective study. **Materials and methods.** 32 patients less than 40 years old with clinical ovarian unilateral > 3cm endometrioma diagnosis were operated by laparoscopy. After ovarian stripping cystectomy, an ovarian surrounding endometrioma tissue sample was taken (study group); another ovarian tissue sample from contralateral ovary without endometrioma was taken as control group. Samples were processed for histological primordial follicle count, immunohistochemical vascular assesment with monoclonal CD34 antibody specific for endothelial cells and cell proliferation index with PCNA. Both study and control groups main outcome measures were compared by  $\chi^2$  and non-parametric tests. Statistical correlation between ovarian endometrioma size and immunohistochemical parameters was also tested. **Results:** Patients' average age was  $30,5 \pm 4,1$  years. 7 endometriomas came from right ovary and 25 from left ovary. Endometriomas average size was  $5 \pm 1,5$  cm (3,5 to 8 cm range). There was significantly lower primordial follicular count ( $2,18 \pm 2,7$  vs  $6,21 \pm 6,2$ ,  $P < 0,05$ ), lower vascular immunos-

tained area ( $2,87 \pm 1,65$  vs  $4,46 \pm 2,4$ ,  $P < 0,05$ ) and lower proliferation cell index ( $5,2 \pm 1,8$  vs  $7,4 \pm 4,2$ ,  $P < 0,05$ ) in ovarian parenchyma surrounding endometriomas compared with ovarian contralateral tissue without endometrioma. No correlation was found between endometrioma size and primordial follicular count, vascular immunostained area, nor proliferation cell index of the endometrioma surrounding tissue [Pearson coefficient: -0,24 (IC 95%: -0,44 – 0,11, NS); -0,054 (IC 95%: -0,39 – 0,30, NS) and 0,129 (IC 95%: -0,45 – 0,22, NS) respectively]. **Conclusions.** Endometrioma affects surrounding ovarian tissue function as primordial follicle count, vascularization and proliferation cell index are diminished compared with contralateral non-endometrioma ovaries. These changes are not associated with endometrioma size.

**Key words.** Endometrioma, CD34, immunohistochemical, ovarian-function

### Introducción

El endometrioma o quiste endometriósico es uno de los tumores ováricos con frecuente indicación quirúrgica en pacientes en edad reproductiva ya que se vincula a cuadros clínicos de esterilidad o de dolor pélvico crónico. Para su tratamiento, la técnica quirúrgica ideal es aquella que presente bajas tasas de recidiva, pero a la vez que respete al máximo las condiciones de vitalidad y vascularización del parénquima ovárico restante, ya que un grupo significativo de estas pacientes serán sometidas a estimulación ovárica posterior.

La técnica quirúrgica más frecuentemente utilizada es la cistectomía o decapsulación laparoscópica, con tasas de embarazo posterior variables según diferentes autores, que en algunos casos alcanzan hasta el 80%.<sup>1</sup> Sin embargo, algunos investigadores postulan que no existe una cápsula ovárica alrededor del endometrioma y que la extirpación de su pared puede provocar la pérdida de corteza ovárica viable, por lo que proponen otras técnicas alternativas (fenestración y coagulación de la superficie interna del quiste, con o sin administración posterior de agonistas GnRh).<sup>2-4</sup> En el año 2005 la Colaboración Cochrane publicó un metaanálisis sobre trabajos prospectivos randomizados demostrando que la resección de la cápsula

del endometrioma es superior a las técnicas ablativas respecto de recurrencia del endometrioma, recurrencia de síntomas como dismenorrea y dolor pelviano crónico e, inclusive, en cuanto a tasas de embarazo espontáneo posteriores a la cirugía.<sup>5</sup>

El tratamiento del endometrioma previo a los procedimientos de FIV sigue siendo un tema de controversia, ya que existen publicaciones en las que se sostiene que éstos no deberían ser operados, dado que podría alterar su respuesta posterior. García Velasco y col sugieren que los resultados de FIV de pacientes operadas por endometrioma son similares a aquellas que no son intervenidas quirúrgicamente y se realizan el FIV en presencia del quiste endometriósico.<sup>6</sup> Como contrapartida, Tinkanen comparó en forma retrospectiva las respuestas en FIV en pacientes operadas de endometriomas versus un grupo con recurrencia de endometrioma no operadas y la tasa de embarazo fue significativamente superior (38 vs 22%) en aquellas pacientes sin endometrioma.<sup>7</sup> Estos resultados pueden reafirmarse por trabajos anteriores en los cuales se observa una menor tasa de ovocitos captados, número y calidad embrionaria en pacientes que presentan endometriomas durante el estímulo para el FIV.<sup>8,9</sup> En experiencias previas de nuestro grupo de trabajo, comparando los resultados en FIV de pacientes operadas por endometrioma con los de pacientes que se realizan FIV por factor tubario (grupo control), éstos resultaron estadísticamente similares en cuanto a número de folículos, ovocitos captados, y embarazo.<sup>10</sup>

### Hipótesis de trabajo

La gran mayoría de los trabajos de investigación en los que se evalúa la reserva ovárica o la respuesta ovárica a la estimulación folicular suelen incluir como factor de riesgo la influencia de cirugías ováricas previas, especialmente cuando se trata de endometriomas, ya que se postula que la agresión quirúrgica sobre el aparato folicular puede afectar a la respuesta ovárica. Sin embargo, son escasas las investigaciones acerca de cuál es la influencia del endometrioma por sí mismo sobre el tejido ovárico que lo circunda.<sup>11-13</sup> En estudios histológicos preliminares observacionales sobre tejido ovárico adyacente a quistes endometriósicos operados hemos hallado, en numerosos casos, la presencia de gran fibrosis capsular comprimiendo

al tejido ovárico adyacente y folículos englobados dentro de una gran fibrosis estromal.<sup>14</sup> También observamos vasos de paredes gruesas, con hiperplasia de la íntima y calibre disminuido, con tinción de hematoxilina-eosina, aunque esto presentaba limitaciones en lo que era la evaluación histológica vascular.

Por este motivo se plantea la hipótesis según la cual podría existir una alteración de la histología ovárica adyacente al quiste endometriósico con compromiso de la vascularización e irrigación del aparato folicular. Es decir, la función ovárica se encontraría previamente dañada por efecto de la presencia del endometrioma mismo, y no sería la cirugía (si se practica mediante una técnica atraumática adecuada) la causante de este daño como se cree en general. En consecuencia, con el objetivo de confirmar, desechar o complementar esta hipótesis, me propuse realizar un estudio cuali-cuantitativo del parénquima ovárico adyacente al endometrioma, con el fin de evaluar la presencia de folículos, vascularización y proliferación de ese tejido.

### Objetivo

El objetivo general de esta investigación es evaluar si la presencia de un endometrioma ovárico se asocia a una disminución en la fertilidad de la mujer a través de un mecanismo de alteración en la vascularización del parénquima ovárico que lo circunda, disminución de su población folicular y alteración de su índice de proliferación celular. Asimismo también se propone establecer si el tamaño del endometrioma influye en la vascularización y el número de folículos del ovario.

### Materiales y métodos

Se realizó la evaluación sobre una cohorte prospectiva de pacientes con diagnóstico presuntivo de endometrioma ovárico unilateral por ecografía ginecológica transvaginal. Este diagnóstico fue confirmado mediante la realización de una cirugía laparoscópica con el objetivo de reseca ese quiste endometriósico. El sustrato de la investigación consistió en evaluar el parénquima ovárico adyacente al endometrioma (población expuesta) pareándolo con el parénquima ovárico del ovario contralateral sano de la misma paciente (población no expuesta).

*Criterios de inclusión:*

- Pacientes entre 20 y 40 años, con ciclos menstruales regulares, sometidas a laparoscopia por endometrioma unilateral, con ovario contralateral libre de proceso endometriósico.

*Criterios de exclusión:*

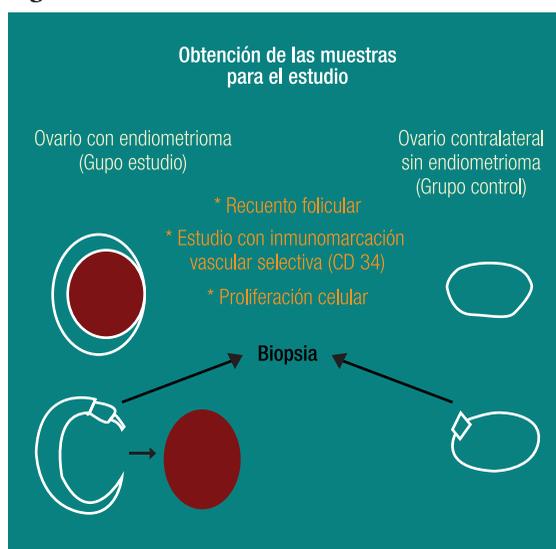
- Endometriomas incipientes (tamaño menor o igual a 1 cm).
- Menopausia precoz.
- Antecedente de cirugía previa sobre cualquiera de los dos ovarios.
- Presencia de algún otro tipo de patología ovárica (tumores no endometriósicos).
- Presencia de endometriosis en el ovario contralateral.

Las pacientes seleccionadas realizaron la cirugía laparoscópica entre los años 2004. Todas las pacientes fueron debidamente informadas y firmaron el consentimiento correspondiente. Luego se realizó el procesamiento histológico y de inmunohistoquímica de las muestras obtenidas y, por último, el procesamiento estadístico de los datos.

*a) Obtención de las muestras para estudio:*

- Población expuesta: (Grupo de estudio):  
La obtención de las muestras para estudio se realizó a partir de pacientes intervenidas quirúrgicamente por presentar endometrioma unilateral. Durante la laparoscopia, luego de resecado el endometrioma (ver técnica de resección del endometrioma), se resecó una porción de tejido ovárico macroscópicamente sano (corteza y estroma) adyacente al quiste endometriósico (Figura 1).
- Población no expuesta (Grupo control):  
Porción de tejido de ovario contralateral sano de la misma paciente.

El hecho de que el grupo control esté formado por los ovarios contralaterales sanos de las mismas pacientes con endometriomas constituyó una ventaja desde el punto de vista estadístico porque nos permitió homogeneizar ciertas características de ambas poblaciones que tienen gran impacto en el tipo de patología que se estudiaba (por ejemplo, edad, estadio de la endometriosis, presencia de esterilidad matrimonial, perfil hormonal ginecológico, etc).

**Figura 1.***b) Técnica de resección del endometrioma*

Se utilizó la técnica laparoscópica de quistectomía del endometrioma (también llamada decapsulación o *stripping*) de la manera considerada menos traumática para el parénquima ovárico.<sup>15</sup> Esta técnica consiste en disecar la cápsula del endometrioma del ovario mediante maniobras romas de tracción y contratracción suaves, en plano adecuado, de manera de no arrastrar parénquima ovárico. Esto se realiza previa punción, aspiración y lavado del contenido líquido achocolatado, ampliando con tijera el sitio sobre el cual se resecará el quiste. El logro de un correcto plano de clivaje entre la cápsula del endometrioma y el parénquima ovárico circundante constituye el paso más trascendental de esta cirugía, ya que si el plano no es el correcto, se corre el riesgo de dejar tejido endometriósico con altas posibilidades de recidiva temprana o, por el contrario, puede arrastrarse gran cantidad de parénquima ovárico sano con el consiguiente daño de la reserva folicular ovárica. La hemostasia posterior a la decapsulación se realiza con coagulador bipolar, de manera muy cuidadosa y selectiva.

*c) Procesamientos de las muestras*

Todas las muestras fueron procesadas y estudiadas de la misma manera: fijación en formol cálcico al 10%, deshidratación en serie ascendente de alcoholes, clarificación en xilol e inclusión en parafina. Secciones de 7  $\mu$ m con micrótomos *Mi-*

crom Heidelberg HM 350 y adhesión a portaobjetos cubiertos con gelatina 1% + alumbre de cromo 0,05% en H<sub>2</sub>O destilada. Posterior coloración histológica con Hematoxilina – Eosina de acuerdo con las metodologías convencionales.

### Parte 1: Evaluación de población folicular

El conteo se realizó al microscopio óptico con aumento de 100X de los cortes coloreados con Hematoxilina – Eosina distinguiendo todos los folículos primarios, secundarios y antrales presentes en un corte representativo de cada una de las muestras.

### Parte 2: Patrón de vascularización ovárica

*Para realizar la cuantificación de la angiogénesis en tejidos se tomó en cuenta:*

La elección del anticuerpo para detección de la vasculatura constituye un elemento clave para una cuantificación precisa de la densidad microvascular. En este caso realizamos una tinción inmunohistoquímica específica para endotelio vascular. El CD34 es un anticuerpo monoclonal específico contra una proteína de membrana celular superficial que se expresa en endotelio vascular de pequeños vasos.<sup>16,17</sup> Junto con el CD31, constituyen los marcadores cuantitativos más elegidos para estudios de angiogénesis por su robustez y su reproducibilidad.

#### *Número de zonas analizadas:*

Este número varía, entre distintos autores, de 3 a 5; sin embargo, esto debe ser analizado con precaución ya que tiene alta incidencia sobre el resultado final.

Los cortes histológicos fueron desparafinados con xilol e hidratados en una serie descendente de alcoholes. Posterior tratamiento con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 5% en PBS durante 10 min y con el bloqueante TNB durante 45 minutos a temperatura ambiente a fin de bloquear la actividad de peroxidases endógenas y los sitios de unión inespecífica, respectivamente. Luego fueron incubados durante toda la noche a 4°C con una dilución 1/50 del anticuerpo (*Monoclonal mouse anti-human CD34 class II<sup>®</sup>, DakoCytomation, Dinamarca*). Al día siguiente fueron enjuagados con PBS e incubados subsecuentemente con anticuerpo secundario biotinilado (anti-mouse IgG, Jackson Labs) y con Estreptavidina-Peroxidasa (*Zymed*) durante 45 minutos cada uno. Este proceso se repitió una vez más y se volvió a enjuagar con PBS.

### *Sistema de revelado y montaje:*

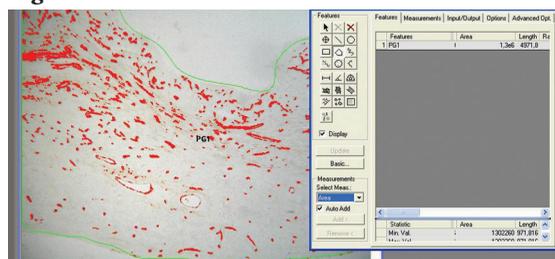
La inmunomarcación se evidenció mediante el revelado con el cromógeno diaminobenzidina (DAB) (*DakoCytomation<sup>®</sup>, Dinamarca*). Por último, se realizó una coloración de contraste (contracoloración) con Verde de Metilo y se montó en medio sintético para microscopía óptica.

### *Cuantificación:*

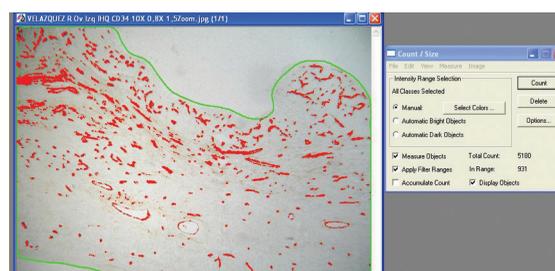
Para determinar el grado de vascularización de cada tejido se cuantificó el área ocupada por la inmunomarca mediante el uso del *software ImagePro Plus (Media Cybernetics<sup>®</sup>)* creando rutinas automatizadas para medir áreas vasculares. Se tomaron fotografías de cortes representativos de cada muestra con un aumento final de 120X en un microscopio de luz blanca (*Reichert Polyvar*) y se fijó una escala correspondiente al aumento para relacionar los pixeles con  $\mu\text{m}^2$ . Se delimitó manualmente el perímetro de cada vaso y luego se calculó el área comprendida por el mismo. Por último, se calculó el área total de la foto analizada. El área vascular relativa se determinó dividiendo el área vascular absoluta (definida como la suma de las áreas de todos los vasos correspondientes a una foto) por el área total de cada foto.

A continuación, se muestra gráficamente el proceso de cuantificación vascular:

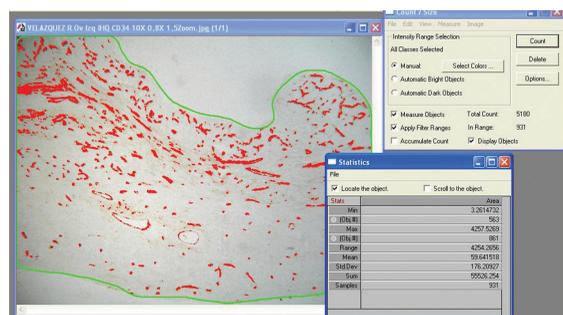
**Figuras 2.**



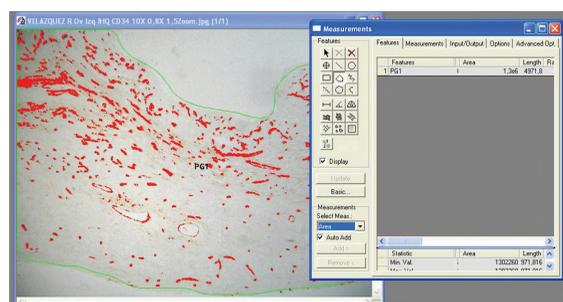
Se comienzan a seleccionar por color todos los puntos de la imagen en los que hay inmunomarca y se los "pinta" de color rojo.



Se realiza el conteo de todo lo que había sido "pintado" de rojo, exclusivamente dentro del área seleccionada en el paso anterior.



Se obtiene el dato del área total ocupada por la inmunomarca



Se mide del área dentro de la cual se realizó la medición para poder obtener el dato del % área marcada / área total.

### Parte 3: Patrón de proliferación celular

Para la evaluación de proliferación celular se realizó inmunomarcación con PCNA (Proliferating Cell Nuclear Antigen), una proteína de 36 kDa, ácida nuclear no histónica, que actúa como proteína auxiliar de la ADN polimerasa delta, indispensable en la síntesis de ADN.<sup>18</sup> Su expresión comienza en la fase G1 del ciclo celular, alcanza un máximo en la fase S y disminuye en la fase G2. Tiene una vida media de más de 20 horas. El procesamiento y cuantificación se realizó de manera similar al CD34.

### Parte 4: Correlación entre tamaño del endometrioma, población folicular, patrón de vascularización ovárica y proliferación celular.

Se realizó un estudio de correlación estadística para evaluar si existe relación entre el tamaño del quiste endometriósico y la población folicular del tejido ovárico circundante, su patrón de vascularización y el grado de proliferación celular.

#### *Métodos y modelos de análisis estadístico de los datos según tipo de variables*

El análisis estadístico incluye la comparación entre la cantidad de folículos primordiales, prima-

rios, secundarios, número de vasos capilares e índice de proliferación por inmunohistoquímica por campo entre la población expuesta y no expuesta. Dado que se trata de variables continuas, este análisis se realizó mediante *prueba de T* para datos pareados (ya que su distribución fue paramétrica normal). Los resultados son expresados a través de una media y desvío estándar. La evaluación de la correlación fue realizada mediante el *coeficiente r de Pearson* para distribuciones gaussianas.

Para calcular el tamaño muestral fue necesario conocer cuál era la cantidad esperable de folículos por campo microscópico en una mujer sana en edad fértil. En este aspecto, la literatura sobre el tema presentaba diferentes criterios de recuento folicular (recuentos foliculares globales o discriminando folículos primordiales, primarios, preantrales, etc) y diferentes aumentos. Esta variabilidad en los datos dificultó establecer una presunción certera sobre cuál sería el número de folículos presentes en las biopsias de nuestra población, por lo cual la proyección de un tamaño muestral adecuado podía ser imprecisa. Se proyectó, a modo de ejemplo, según Hovatta y col,<sup>19</sup> que la media de folículos por campo de 100X en pacientes sin patología ovárica es de  $11 \pm 6$ . Presumiendo, según la hipótesis del presente proyecto de tesis, una disminución del 50% de la población folicular de parénquimas ováricos adyacentes a endometriomas, la población mínima necesaria para poder demostrar diferencia significativa con un poder estadístico del 80% y un error alfa de 0,05, sería de 18 pacientes. Sin embargo, dada la variabilidad antes mencionada, se amplió el tamaño muestral a 32 pacientes (32 ovarios con endometriomas y 32 sin endometriomas) con el fin de generar mayor robustez para el análisis.

## Resultados

### *Consideraciones generales*

Se evaluaron los tejidos ováricos adyacentes a quistes endometriósicos removidos y tejidos ováricos de ovarios contralaterales en 32 pacientes intervenidas quirúrgicamente. En todos los casos hubo confirmación histopatológica de la naturaleza endometriósica de los quistes extraídos.

El promedio de edad de las pacientes fue  $30,5 \pm 4,1$  años, con un rango de 24 a 40.

El promedio de tamaño de los quistes endometriósicos fue  $5,05 \pm 1,59$  cm con un rango de 3,5

a 8 cm. En 7 de los casos los quistes endometriósicos correspondieron al ovario derecho, mientras que en los 25 restantes al ovario izquierdo.

### Parte 1: Evaluación de población folicular

En la Figura 12 se señala el número de folículos (sumados primordiales, primarios y secundarios) por campos de 100X de cada una de las muestras ováricas evaluadas de cada paciente.

A continuación, en la Tabla 1 se exponen los datos estadísticos respecto de la evaluación de la población folicular de tejidos adyacentes a endometriomas (Columna A) y tejidos de ovario contralateral sano (Columna B).

Como puede observarse los tejidos ováricos adyacentes a quiste endometriósico presentaron un promedio de  $2,18 \pm 2,7$  folículos, mientras que los tejidos ováricos contralaterales sanos de las mismas pacientes presentaron un promedio de  $6,21 \pm 6,2$  folículos. Comparando estos valores se encontró una diferencia significativamente superior en el recuento folicular de tejidos ováricos sanos sin endometrioma (valor de  $P = 0,0014$ , a dos colas,

con intervalo de confianza 95%: 1,61 – 6,44). Sin embargo, siendo que los desvíos *standard* de ambos grupos presentaban una diferencia extremadamente significativa ( $P < 0,0001$ ), se realizó un *test* no paramétrico (Mann Whitney) cuyo resultado arrojó un valor de  $P = 0,0005$ , que confirmó la diferencia significativa entre ambos grupos.

### Parte 2: Patrón de vascularización ovárica

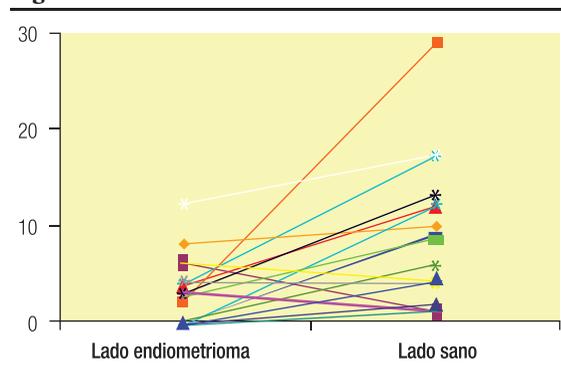
Se analizó la expresión inmunohistoquímica de CD34 (antígeno específico para endotelio vascular) en las muestras analizadas.

En la Figura 13 se señalan los valores de las áreas relativas vasculares calculadas como se explicitó en materiales y métodos, de los tejidos ováricos correspondientes a cada una de las muestras ováricas evaluadas de cada paciente.

A continuación, en la Tabla 2 se exponen los datos estadísticos respecto de la evaluación del área vascular relativa marcada por inmunohistoquímica de tejidos adyacentes a endometriomas (Columna A) y tejidos de ovario contralateral sano (Columna B).

Se observó una disminución significativa en el área vascular relativa ocupada por vasos marcados con CD34 en los tejidos ováricos adyacentes a quiste endometriósico ( $2,87 \pm 1,65$ ) respecto del área vascular de los tejidos contralaterales sanos ( $4,46 \pm 2,4$ ). Esta diferencia en la vascularización ovárica arrojó un valor de  $P = 0,0038$ , a dos colas, con IC 95%: 0,53 – 2,64. Al igual que en la evaluación de la población folicular, también en este caso realizamos *test* no paramétrico de Mann-Whitney, dado que los

**Figura 12.**

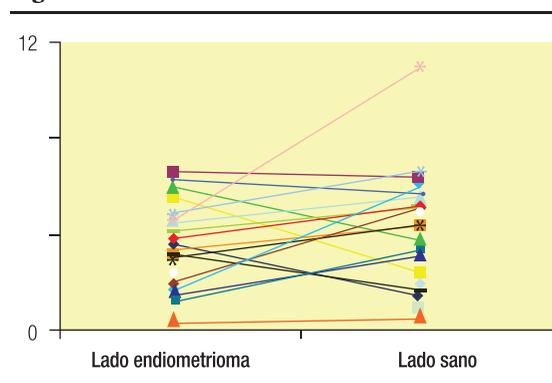


**Tabla 1.**

Parámetro:	Ovario con endometrioma	Ovario contralateral
Número:	32	32
Promedio:	2.188	6.219*
Desvío <i>standard</i> :	2.776	6.236 *
Error <i>standard</i> :	0.4907	1.102
Mínimo:	0.000	0.000
Máximo:	12.000	29.000
Mediana:	2.000	4.000
IC 95% inferior:	1.186	3.970
IC 95% superior:	3.189	8.467

\* Valor de  $p=0.0014$

**Figura 13.**



**Tabla 2.**

Parámetro:	Lado Endometrioma	Lado sano
Número:	32	32
Promedio:	2.876	4.464*
Desvío <i>standard</i> :	1.653	2.489*
Error <i>standard</i> :	0.2922	0.4400
Mínimo:	0.1320	0.2340
Máximo:	6.259	10.790
Mediana:	2.552	4.525
IC 95% inferior:	2.279	3.567
IC 95% superior:	3.472	5.362

\*Valor de  $p=0.0038$ **Tabla 3.**

Parámetro:	Lado Endometrioma	Lado sano
Número:	32	32
Promedio:	5.294	7.478*
Desvío <i>standard</i> :	1.812	4.205*
Error <i>standard</i> :	0.3203	0.7434
Mínimo:	2.300	3.800
Máximo:	10.020	28.080
Mediana:	4.800	6.750
IC 95% inferior:	4.645	5.962
IC95% superior:	5.952	8.995

\*Valor de  $p=0.0011$ 

desvíos *standard* de ambas muestras presentaban una diferencia significativa. El test no paramétrico arrojó un valor de  $P=0,0071$ , confirmando la disminución significativa de la vascularización ovárica de los tejidos ováricos adyacentes a quistes endometriósicos.

### Parte 3: Patrón de proliferación celular

En la Figura 14 se transcriben los valores de marcación inmunohistoquímica de antígeno PCNA calculadas de los tejidos ováricos correspondientes a cada una de las muestras ováricas evaluadas de cada paciente.

A continuación, en la tabla 3 se exponen los datos estadísticos respecto de la evaluación de proliferación celular marcada por inmunohistoquímica de tejidos adyacentes a endometriomas (Columna A) y tejidos de ovario contralateral sano (Columna B).

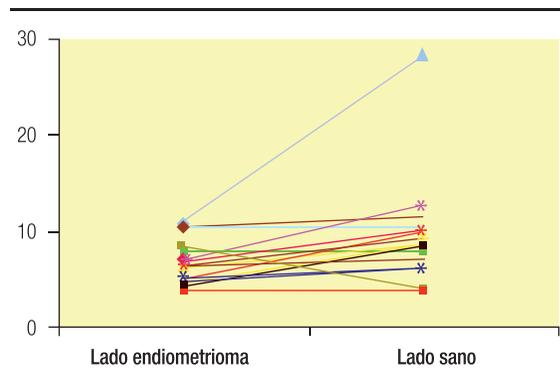
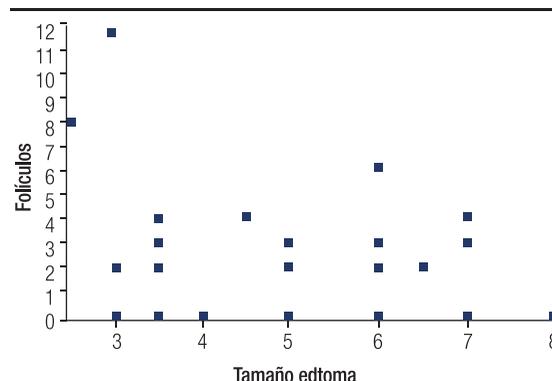
Como puede observarse, los tejidos ováricos adyacentes a quiste endometriósico presentaron un promedio de inmunomarcación para proliferación celular de  $5,29 \pm 1,8$ , significativamente

superior que en los tejidos ováricos contralaterales sanos de las mismas pacientes, cuyo promedio fue  $7,47 \pm 4,2$  (valor de  $P=0,0011$ , a dos colas, con intervalo de confianza 95%: -3,41 a -0,94).

### Parte 4: Correlación entre tamaño del endometrioma, población folicular, patrón de vascularización ovárica y proliferación celular

Se realizaron pruebas estadísticas para evaluar si existía correlación entre el tamaño del endometrioma ovárico y el número de folículos, el patrón de vascularización y el índice de proliferación celular del parénquima ovárico adyacente al quiste endometriósico.

Al realizar la evaluación estadística no se encontró correlación significativa entre el tamaño de los quistes endometriósicos y el número de folículos del parénquima ovárico adyacente (coeficiente de correlación  $r$  Pearson = -0,24, IC 95%: -0,44 - 0,11,  $P=0,17$ , no significativo) (Figura 15).

**Figura 14.****Figura 15.** Correlación recuento folicular y tamaño del endometrioma.



Maneschi y col, en un estudio previo sobre el tejido adyacente a cortezas de quistes ováricos resecaados quirúrgicamente, describen la presencia de tejido ovárico de característica normal en el 80% de las muestras de quistes ováricos no endometriósicos (cistoadenomas, teratomas), mientras que solo se reconoció tejido ovárico normal en el 19% de los endometriomas.<sup>25</sup> Existen también descripciones histopatológicas de parénquimas ováricos adyacentes a quistes endometriósicos en las que se observó una disminución de la vascularización con técnica de hematoxilina-eosina y con técnicas de inmunohistoquímica para factor VIII específica para endotelio vascular, aunque en estos trabajos no se comparó con parénquimas ováricos normales.<sup>26,27</sup>

Los resultados de este trabajo de investigación pretenden demostrar un efecto deletéreo del endometrioma sobre el tejido ovárico que lo circunda. Cabe destacar, como se señaló en la parte de metodología, que las diferencias significativas tanto en el conteo folicular, proliferación celular y vascularización de los tejidos ováricos adyacentes a endometriomas respecto de los ovarios contralaterales no pueden de ninguna manera estar influidas por la edad, el perfil hormonal u otras patologías ya que se trata de los ovarios de la misma paciente que fueron extraídos en el mismo acto quirúrgico, por lo cual están ambos tejidos sometidos a la misma condición etaria y hormonal. Otra cuestión que merece destacarse es el hecho de que las porciones de tejido ovárico adyacentes al endometrioma evaluadas corresponden al sitio de mayor distensión por parte del quiste y no a la parte hiliar ovárica, ya que estudios histológicos previos han demostrado que en ese sector del ovario el grosor de la cápsula del endometrioma es mayor y existe, como es lógico suponer, una mayor vascularización.<sup>28</sup> Por otra parte, numerosos estudios han demostrado que existe una distribución medianamente uniforme de los folículos en toda la corteza ovárica.<sup>29</sup>

Con respecto a la relación entre el número de folículos contados con el tamaño del quiste endometriósico en cuestión ("Resultados – Parte 4"), la correlación de estas dos variables no fue significativa, como tampoco lo fue la correlación entre el tamaño del quiste y la proliferación celular. Este hallazgo permitiría concluir que la afección folicular y proliferativa ovárica no depende de una cuestión compresiva provocada por el tamaño del quiste,

sino que es independiente del volumen tumoral; se asocia a la sola presencia del endometrioma.

El análisis de la vascularización del tejido adyacente al quiste endometriósico es de trascendental importancia, ya que este tipo de pacientes que son intervenidas quirúrgicamente, en muchos casos pueden recibir tratamientos de fertilización asistida posterior. Existen numerosos trabajos que cuestionan a la cirugía del endometrioma por el hecho de que en teoría se estaría arrastrando tejido ovárico<sup>29,30</sup> y sería la causa de alteración de la vascularización ovárica. Sin embargo, estudios más recientes sobre *stress* oxidativo muestran lo contrario. Matzuzaki y col mostraron niveles de expresión disminuidos de 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG), que es un marcador de daño de ADN relacionado con el *stress* oxidativo, en tejidos ováricos que rodeaban quistes endometriósicos. Esto podría generar secundariamente un daño en la calidad ovocítica. Si bien no existen hasta el momento trabajos sobre calidad ovocítica posterior a la cirugía del endometrioma, es reconocido el hecho de que una *stripping* laparoscópico en manos experimentadas no afecta la respuesta ovárica posterior en FIV.<sup>32</sup>

En sintonía con ese postulado nuestros resultados muestran, mediante una tinción inmunohistoquímica específica para endotelio vascular, que la vascularización del tejido ovárico adyacente al quiste endometriósico está significativamente disminuido, demostrando de manera más categórica la influencia del endometrioma sobre el tejido ovárico adyacente.

Como conclusión podemos afirmar que los resultados de esta investigación demuestran que la funcionalidad del tejido ovárico adyacente a un quiste endometriósico puede verse afectada por la presencia del mismo quiste, ya que la población folicular, la vascularización y la proliferación celular del tejido adyacente a ese quiste se encuentran significativamente disminuidas cuando se las compara con la población folicular, la vascularización y la proliferación celular del tejido del ovario contralateral sano de la misma paciente. Por otra parte, este compromiso tisular no se encuentra asociado al tamaño del quiste endometriósico en cuestión, lo cual sugiere que esta alteración se encuentra condicionada por la presencia del endometrioma mismo.

*Agradecimientos.* A los Dres Guillermo Marconi, Edgardo Young, Luis Auge y Dante Paz.

## Referencias

- Adamson G. Treatment of endometriosis-associated infertility. *Semin Reprod Endocrinol* 1997; 15:263-271.
- Hemmings R, Bissonnette F, Bouzayen R. Results of laparoscopic of ovarian endometriomas: laparoscopic ovarian fenestration and coagulation. *Fertil Steril* 1998; 70:527-529.
- Fayez J, Vogel M. Comparison of different treatment methods of endometriomas by laparoscopy. *Obstet Gynecol* 1991; 78:660-665.
- Donnez J, Nisolle M, Gillerot S, Anaf V, Cercckx-Braun F, Casanas-Roux F. Ovarian endometrial cysts: the role of gonadotrophin-releasing hormone agonist and/or drainage. *Fertil Steril* 1994; 62: 63-66.
- Hart R, Hickey M, Maouris P, Buckett W and Garry R. Excisional surgery versus ablative surgery for ovarian endometriomata: a Cochrane Review. *Human Reproduction* 2005;20(11):3000-3007.
- García-Velasco J, Mahutte N, Corona J, Zuñiga V, Gilés J, Arici A, Pellicer A. Removal of endometriomas before in vitro fertilization does not improve fertility outcomes; a matched, case-control study. *Obstet Gynecol Surv* 2004;59:661-662.
- Tinkanen H, Kujansuu E. In vitro fertilization in patients with ovarian endometriomas. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2000; 79:119-122.
- Yanushpolsky E, Best C, Jackson K, Clarke R, Barbieri R, Hornstein M. Effects of endometriomas on oocyte quality, embryo quality, and pregnancy rates in in vitro fertilization cycles: a prospective, case controlled study. *J Assist Reprod Genet* 1998; 15(4):193-197.
- Dlugi A, Loy R, Dieterle S, Bayer S, Seibel M. The effect of endometriomas on in vitro fertilization outcome. *J In Vitro Fert Embryo Transf* 1989; 6:338-341.
- Marconi G, Vilela M, Quintana R, Sueldo C. Laparoscopic ovarian cystectomy of endometriomas does not affect the ovarian response to gonadotropin stimulation. *Fertil Steril* 2002 Oct;78(4):876-878.
- Lass A. Assesment of ovarian reserve – is there a role for ovarian biopsy? *Hum Reprod* 2001; 16:1055-1057.
- Arrighi L, Nicholson R, Gómez Rueda de Leverone N, Di Paola G, Young E, Tempone, A. Biopsia de ovario translaparoscópica: Técnica y evaluación de sus aplicaciones clínicas. *Obstet y Ginec Lat Amer* 1973;31:387.
- Sykes D, Ginsburg J. The use of laparoscopic ovarian biopsy to assess gonadal function. *Am J Obstet Gynecol* 1972; 112:408-413.
- Vilela M, Marconi G. La laparoscopia en endocrinología reproductiva. En: Ed. Ascune Hnos. "Diagnóstico y terapéutica en endocrinología reproductiva" – SAEGRE (Sociedad Argentina de Endocrinología Ginecológica y Reproductiva), 2004:619-625.
- Marconi G, Vilela M, Vighi S, Lombardi E, Yuri M. La cirugía laparoscópica en la paciente estéril con endometrioma. Cuadernos de medicina reproductiva. Ed. Médica Panamericana 2002, Vol 8 (1):101-120.
- Lin G, Finger E, Gutierrez-Ramos J. Expression of CD34 in endothelial cells, hematopoietic progenitors and nervous cells in fetal and adult mouse tissues. *Eur J Immunol* 1995; 25:1508-1516.
- Inan S, Kescu N, Vatanserver S, Ozbilgin K, Koyuncu F, Sayhan S. Increased vascular surface density in ovarian endometriosis. *Gynecol Endocrinol* 2003; 17: 143-150.
- Takasaki Y, Robinson W, Tan E. Proliferating cell nuclear antigen in blast crisis cells of patients with chronic myeloid leukemia. *J Natl Cancer Inst* 1984; 73: 655-661.
- Hovatta O, Silye R, Abir R, Krausz T, Winston R. Extracellular matrix improves survival of both stored and fresh human primordial and primary ovarian follicles in long-term culture. *Hum Reprod* 1997;12:1032-1032.
- La Torre R, Montanino-Oliva M, Marchiani E, Boninfante M, Montanino G, Cosmi. Ovarian blood flow before and after conservative laparoscopic treatment for endometrioma. *Clin Exp Obstet Gynecol* 1998; 25:12-14.
- Somiglana E, Ragni G, Benedetti F, Borroni R, Vegetti W, Crosignani P. Does laparoscopic excision of endometriotic ovarian cysts significantly affect ovarian reserve? Insights from IVF cycles. *Hum Reprod* 2003; 18:2450-2453.
- Chang H, Han S, Jee B, Lee B, Suh Ch, Kim S. Impact of laparoscopic cystectomy on ovarian reserve: serial changes of serum anti-Müllerian hormone levels. *Fertil Steril* 2010; 94: 343-349.
- Alborzi S, Foroughinia L, Kumar P, Asadi N, Alborzi S. A comparison of histopathologic findings of ovarian tissue inadvertently excised with endometrioma and other kinds of benign ovarian cyst in patients undergoing laparoscopy versus laparotomy. *Fertil Steril* 2009;92:2004-2007.
- Muzzi L, Bianchi A, Croce C, Mancini N, Panici P. Laparoscopic excision of ovarian cysts: is the stripping technique a tissue-sparing procedure? *Fertil Steril* 2002; 77:609-614.
- Maneschi F, Marasá L, Incandela S, Mazzaresse M, Zupi E. Ovarian cortex surrounding benign neoplasms: A histologic study. *Am J Obstet Gynecol* 1993; 169:388-393.
- Russell P, Farnsworth A. Endometriosis Surgical Pathology of the Ovaries. Second Edition. Peter Russell and Annabelle Farnsworth Editors. Second Edition. Churchill Livingstone, 1997:209.
- Polan ML, Henzl MR, Hornstein MD. The second decade of GnRH agonists: In vitro fertilization and endometriosis. A symposium. *J Reprod Med* 1998; 43S:243-293.
- Lass A, Silye R, Abrams D, Krausz T, Hovatta O, Margara R, Winston R. Follicular density in ovarian biopsy of infertile women: a novel method to assess ovarian reserve. *Hum Reprod* 1997; 12:1028-1031.
- Block E. Quantitative morphological investigations of the follicular system in women. Variation at different ages. *Acta Anat* 1952; 14:108-123.
- Esinler I, Bozdogan G, Aybar F, Bayar U, Hakan Yarali H. Outcome of in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection after laparoscopic cystectomy for endometriomas. *Fertil Steril* 2006;85:1730-1735.
- Matsuzaki S, Schubert B. Oxidative stress status in normal ovarian cortex surrounding ovarian endometriosis. *Fertil Steril* 2010; 93: 2431-2432.
- Canis M, Pouly J, Tamburro S, Mage G, Wattiez A, Bruhat M. Ovarian response during IVF-embryo transfer cycles after laparoscopic ovarian cystectomy for endometriotic cysts of > 3cm in diameter. *Hum Reprod* 2001; 16: 2583-2586.

En esta sección los trabajos presentados deberán reunir las siguientes condiciones:

1. Deberán estar escritos en castellano.
2. Preferentemente en Word.
3. No deberán superar preferentemente las 25 carillas de hoja tamaño A4, escritas en cuerpo de letra 12, a doble espacio.
4. El ordenamiento de los mismos deberá seguir la estructura clásica de:
  - a. Título.
  - b. Autores, centro al que pertenecen y correo electrónico de contacto.
  - c. Resumen en castellano y en inglés (excluyente) de no más de 200 palabras.
  - d. Palabras clave: no más de 5 (cinco).
  - e. Introducción.
  - f. Material y métodos.
  - g. Resultados.
  - h. Discusión.
5. Las abreviaturas deberán ser definidas al ser mencionadas por primera vez,

excepto aquellas aceptadas por convención (por ejemplo, FIV, ICSI, etc).

6. Tablas y cuadros: en blanco y negro, teniendo especial cuidado de ser bien referidos desde el texto.
  7. Figuras: todas serán en blanco y negro.
  8. Bibliografía: las citas se harán en el texto y se ordenarán en forma correlativa al final del trabajo por orden de aparición. Las citas de revistas deberán consignarse de la siguiente manera:
    - a) apellido completo e iniciales de los 3 primeros autores, sin puntos y separados por comas; si hubiera más, puede colocarse "et al"; b) título del trabajo; c) abreviatura del nombre de la revista (tal como figuran en el Index Medicus); y e) año, volumen, número de la revista (optativo), página inicial y final.
- En todos los casos el envío de trabajos, comentarios y publicaciones deberá hacerse por correo electrónico a la dirección de la secretaria de SAMeR: info@samer.org.ar

## Todos los extremos son malos: valor predictivo de los métodos diagnósticos en pacientes con baja y alta respuesta

Guillermo Terrado,<sup>1</sup> Marcelo Garcea, Fabio Sobral, Laura Kopcow, Alejandro Oubiña, Ignacio de Zúñiga

<sup>1</sup> Pregunta Medicina Reproductiva

Reproducción 2015;30:59-62

### Resumen

*La utilización de métodos diagnósticos para determinar la respuesta a la estimulación ovárica antes del inicio del tratamiento es fundamental para discriminar a las pacientes en normo, hiper o hiporrespondedoras. En el presente trabajo analizamos la utilidad de 4 herramientas diagnósticas (la edad, los niveles de FSH y de hormona antimülleriana, y el recuento de folículos antrales) con un análisis de regresión logística para determinar su poder discriminatorio a través de la comparación del área bajo la curva ROC de cada una de ellas.*

**Palabras claves.** Respuesta ovárica, RFA, HAM, curvas ROC.

### Extremes are bad: predictive value of the diagnostic methods in patients with low and high response

#### Summary

*The use of diagnostic methods for determining the response to ovarian stimulation before the treatment is essential to discriminate against patients in normo, hyper or hypo responders. In this paper we analyze the usefulness of four diagnostic tools (age, levels of FSH and AMH and antral follicle count) with a logistic regression analysis to determine its discriminatory power by comparing the different areas under the curve ROC.*

**Key words.** Ovarian response, RFA, AMH, ROC curves.

### Introducción

Uno de los objetivos de los métodos diagnósticos es intentar establecer las causas principales de

**Correspondencia:** Guillermo Terrado  
E-mail: gterrado@pregna.com.ar

la infertilidad para poder individualizar el tratamiento adecuado en cada caso particular. Una vez hecho el diagnóstico en aquellas parejas que deban ser sometidas a tratamientos de alta complejidad, es fundamental discriminar entre aquellas pacientes que tendrán una alta, baja o normorrespuesta a la estimulación ovárica con gonadotrofinas. Esta estimación, anterior al inicio de la estimulación, permitirá no solo hacer un adecuado manejo de las expectativas sino también elegir el mejor esquema e intentar evitar posibles complicaciones.<sup>1</sup>

Si bien se han descrito innumerables métodos diagnósticos para determinar los distintos tipos de respuesta, los más utilizados históricamente fueron los niveles séricos basales de FSH y la edad de la paciente. En los últimos años la determinación de los niveles de hormona antimulleriana (HAM)<sup>2,3</sup> y el recuento ecográfico de folículos antrales (RFA) han tomado una relevancia significativa.<sup>4-6</sup>

Para la evaluación de los métodos diagnósticos, la utilidad o no de las distintas técnicas se establece a través de la determinación de la sensibilidad (o capacidad de detectar casos positivos) y la especificidad (o capacidad de descartar casos negativos).<sup>7</sup> La herramienta diagnóstica ideal por lo tanto será aquella con la mayor sensibilidad y especificidad. La mejor forma de comparar la sensibilidad y especificidad entre 2 métodos diagnósticos es la utilización de las curvas ROC que permiten, a través de un gráfico y con un análisis de regresión logística, relacionar la sensibilidad con la tasa de falsos positivos y de esta manera calcular la llamada "área bajo la curva" (ABC). Un método diagnóstico que no discrimine casos positivos de negativos tendrá un área de 0,5 o sea que no sirve como tal. En general se estiman como aceptables aquellos que tengan un  $ABC \geq 0,7$ . En la comparación entre distintos métodos diagnósticos, aquellos con un mayor ABC serán los más útiles en la práctica clínica.

Lamentablemente no resulta fácil que una determinada entidad tenga un método diagnóstico "gold standard" que permita detectar con un alto grado de sensibilidad y especificidad todos los casos positivos y excluir los negativos, y la determinación de la respuesta a las gonadotrofinas a través de métodos que permitan evaluar reserva ovárica no es la excepción.

El objetivo de nuestro trabajo fue establecer el valor pronóstico de diferentes métodos diagnósticos para la predicción de bajas y altas respuestas a la estimulación con gonadotrofinas en nuestro programa de FIV/ICSI.

## Materiales y métodos

Se realizó un estudio retrospectivo de cohorte para estimar el valor predictivo de los valores basales de FSH, el RFA, los niveles séricos de HAM y la edad en un grupo de 454 pacientes que realizaron tratamientos de FIV/ICSI en *PREGNA Medicina Reproductiva* entre enero de 2010 y enero de 2014.

El RFA se evaluó a través de una ecografía transvaginal basal dentro de los 5 primeros días del período menstrual, realizando el conteo de todas las imágenes foliculares menores de 9 mm de ambos ovarios. Los niveles séricos de FSH se determinaron entre los días 2 y 5 del ciclo menstrual durante la etapa diagnóstica, mientras que los de HAM se solicitaron en cualquier momento del ciclo.<sup>8</sup>

En un primer análisis se categorizó a las pacientes en 2 grupos: aquellas con baja respuesta ovárica (BRO), que incluía a todas aquellas ( $n=158$ ) en las que obtuvimos  $< 5$  ovocitos, y se compararon con las pacientes ( $n=296$ ) en las que obtuvimos  $\geq 5$  ovocitos al momento de la aspiración folicular.

En un segundo estudio se seleccionaron aquellas con alta respuesta (ARO) donde incluimos ( $n=38$ ) a las que se aspiraron obteniendo  $\geq 17$  ovocitos y se comparó con un grupo ( $n=416$ ) en el que se recuperaron  $< 17$  ovocitos.

Se excluyeron los casos en los cuales no contábamos con la información de los niveles de FSH y/o HAM y/o el RFA en nuestra base de datos.

Para el análisis se determinó el valor predictivo de cada uno de los métodos a través de la construcción de una curva ROC para cada uno de los grupos estudiados (baja y alta respuesta) con el paquete estadístico *STATA 10.0*. Se estableció un valor significativo con una  $p < 0.05$

## Resultados

Los resultados del grupo de baja respuesta ( $< 5$  ovocitos), con los datos del área bajo la curva (AUC), el desvío *standard* (SD) y los respectivos intervalos de confianza (IC) se exponen en la Tabla 1.

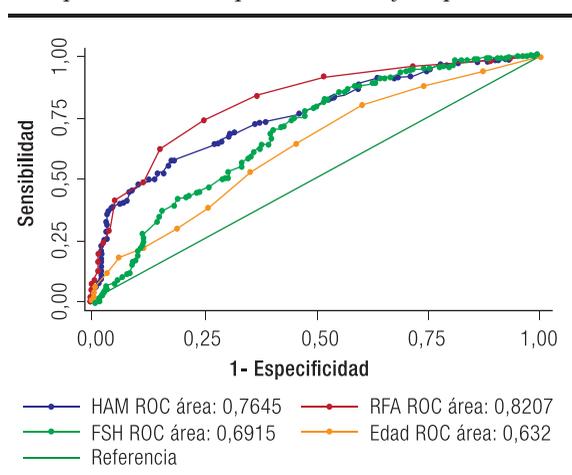
El RFA resultó superior en términos predictivos de baja respuesta (< 5 ovocitos) sobre la HAM, la FSH y la edad de las pacientes. Cabe destacar que tanto la FSH como la edad presentaron AUC similares e insuficientes para ser considerados como buenos predictores en este grupo.

**Tabla 1.** Grupo de baja respuesta (< 5 ovocitos).

	AUC	SD	IC
RFA	0,82*	0,02	0,78 – 0,86
HAM	0,76*	0,02	0,72 – 0,80
FSH	0,69*	0,03	0,64 – 0,74
Edad	0,63*	0,03	0,57 – 0,68

\*p < 0,001

**Figura 1.** Se grafican las curvas ROC con las distintas ABC para discriminar pacientes con baja respuesta.



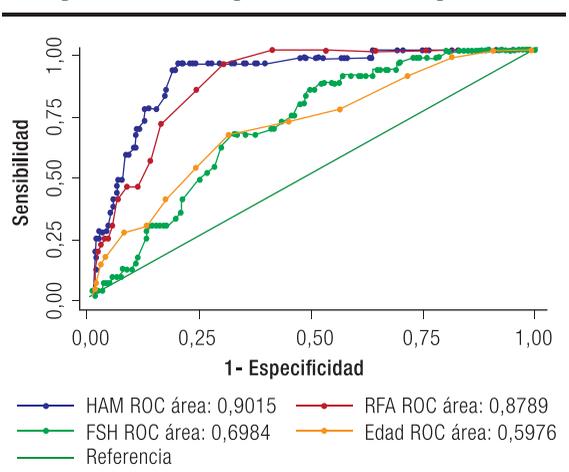
En la Tabla 2 se expone el segundo análisis que incluye a las pacientes del grupo de alta respuesta ( $\geq 17$  ovocitos), con los datos del área bajo la curva (AUC), el desvío *standard* (SD) y los respectivos intervalos de confianza (IC).

**Tabla 2.** Grupo de alta respuesta ( $\geq 17$  ovocitos).

	AUC	SD	IC
RFA	0,88*	0,02	0,84 – 0,92
HAM	0,90*	0,02	0,85 – 0,94
FSH	0,70*	0,03	0,63 – 0,77
Edad	0,69*	0,04	0,61 – 0,78

\*p < 0,001

**Figura 2.** Se grafican las curvas ROC con las distintas ABC para discriminar pacientes con alta respuesta.



### Conclusiones

Una de las principales preocupaciones antes de iniciar una hiperestimulación ovárica controlada con gonadotrofinas para FIV/ICSI no es solo poder lograr una respuesta ideal con la obtención de un adecuado número de ovocitos, sino también predecir las respuestas extremas.<sup>9-11</sup> Esto nos permitirá hacer un adecuado manejo de las expectativas, evitar cancelaciones y prevenir posibles complicaciones.<sup>12</sup>

En la actualidad los tests dinámicos para evaluar la reserva ovárica han perdido su lugar como herramientas diagnósticas útiles a manos de la evaluación de los niveles de HAM y el RFA por ecografía transvaginal. Estos 2 estudios constituyen hoy por hoy los métodos más eficaces para lograr este cometido.<sup>13</sup>

Los resultados de nuestro análisis demuestran que, en el grupo de pacientes con baja respuesta, el RFA resultó ser superior para discriminar aquellas pacientes en las que obtendremos < 5 ovocitos comparado con los niveles de HAM, de FSH basal y la edad de la paciente. Por otra parte, tanto el RFA como la HAM resultaron similares entre sí pero superiores a la FSH y a la edad a la hora de estimar la probabilidad de obtener una hiperrespuesta con  $\geq 17$  ovocitos.

La adecuada utilización de estas herramientas diagnósticas nos permitirá individualizar de mejor manera las respuestas en cada caso particular, op-

timizando así los resultados y evitando potenciales complicaciones.

## Referencias

1. Lukaszuk K, Kunicki M, Liss J, Lukaszuk M, Jakiel G. Use of ovarian reserve parameters for predicting live births in women undergoing in vitro fertilization. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2013;168:173-177.
2. Broekmans FJ, Kwee J, Hendriks DJ, Mol BW, Lambalk CB. A systematic review of tests predicting ovarian reserve and IVF outcome. *Hum Reprod Update* 2006;12:685-718. La Marca A, Sighinol G, Radi D, Argento C, Baraldi E, Arsenio AC, Stabile G, Volpe A. Anti-Mullerian hormone (AMH) as a predictive marker in assisted reproductive technology (ART). *Hum Reprod Update* 2010;16:113-130.
3. Broer SL, Mol BWJ, Hendriks D, Broekmans FJM. The role of antimullerian hormone in prediction of outcome after IVF: comparison with the antral follicle count. *Fertil Steril* 2009;91:705-714.
4. Broer SL, Dolleman M, Opmeer BC, Fauser BC, Mol BW, Broekmans FJM. AMH and AFC as predictors of excessive response in controlled ovarian hyperstimulation: a meta-analysis. *Hum Reprod Update* 2011;17:46-54.
5. Broer SL, van Disseldorp J, Broeze KA, Dolleman M, Opmeer BC, Bossuyt P, Eijkemans MJC, Mol BWJ, Broekmans FJM. Import Study Group. Added value of ovarian reserve testing on patient characteristics in the prediction of ovarian response and ongoing pregnancy: an individual patient data approach. *Hum Reprod Update* 2013;19:26-36.
6. Reitsma JB, Glas AS, Rutjes AW, Scholten RJ, Bossuyt PM, Zwinderman AH. Bivariate analysis of sensitivity and specificity produces informative summary measures in diagnostic reviews. *J Clin Epidemiol* 2005;58:982-990.
7. Hehenkamp WJ, Looman CW, Themmen AP, de Jong FH, Te Velde ER, Broekmans FJ. Anti-Mullerian hormone levels in the spontaneous menstrual cycle do not show substantial fluctuation. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:4057-4063.
8. Merhi Z, Zapantis A, Berger DS, Jindal SK. Determining an anti-mullerian hormone cutoff level to predict clinical pregnancy following in vitro fertilization in women with severely diminished ovarian reserve. *J Assist Reprod Genet* 2013;30:1361-1365.
9. Oudendijk JF, Yarde F, Eijkemans MJ, Broekmans FJ, Broer SL. The poor responder in IVF: is the prognosis always poor? A systematic review. *Hum Reprod Update* 2012;18:1-11.
10. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Testing and interpreting measures of ovarian reserve: a committee opinion. *Fertil Steril* 2012;98:1407-1415.
11. Sunkara SK, Rittenberg V, Raine-Fenning N, Bhattacharya S, Zamora J, Coomarasamy A. Association between the number of eggs and live birth in IVF treatment: an analysis of 400 135 treatment cycles. *Hum Reprod* 2011;26:1768-1774.
12. van Loendersloot LL, van Wely M, Limpens J, Bossuyt PM, Repping S, van der Veen F. Predictive factors in in vitro fertilization (IVF): a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update* 2010;16:577-589.

En esta sección los trabajos presentados deberán reunir las siguientes condiciones:

1. Deberán estar escritos en castellano.
2. Preferentemente en Word.
3. No deberán superar preferentemente las 25 carillas de hoja tamaño A4, escritas en cuerpo de letra 12, a doble espacio.
4. El ordenamiento de los mismos deberá seguir la estructura clásica de:
  - a. Título.
  - b. Autores, centro al que pertenecen y correo electrónico de contacto.
  - c. Resumen en castellano y en inglés (excluyente) de no más de 200 palabras.
  - d. Palabras clave: no más de 5 (cinco).
  - e. Introducción.
  - f. Material y métodos.
  - g. Resultados.
  - h. Discusión.
5. Las abreviaturas deberán ser definidas al ser mencionadas por primera vez,

excepto aquellas aceptadas por convención (por ejemplo, FIV, ICSI, etc).

6. Tablas y cuadros: en blanco y negro, teniendo especial cuidado de ser bien referidos desde el texto.
  7. Figuras: todas serán en blanco y negro.
  8. Bibliografía: las citas se harán en el texto y se ordenarán en forma correlativa al final del trabajo por orden de aparición. Las citas de revistas deberán consignarse de la siguiente manera:
    - a) apellido completo e iniciales de los 3 primeros autores, sin puntos y separados por comas; si hubiera más, puede colocarse "et al"; b) título del trabajo; c) abreviatura del nombre de la revista (tal como figuran en el Index Medicus); y e) año, volumen, número de la revista (optativo), página inicial y final.
- En todos los casos el envío de trabajos, comentarios y publicaciones deberá hacerse por correo electrónico a la dirección de la secretaria de SAMeR: info@samer.org.ar

## Receptividad endometrial: La ecografía Doppler y la aplicación de sildenafil ofrecen mejores resultados en pacientes con fracasos en los tratamientos de fertilización *in vitro*. Resultados preliminares

Edgardo Andreatta, Alfredo C Elena, Claudio R Distilo, Guillermo Landi, Carmen E Machado, Alicia I Pené, Néstor A Pirrotta

CRECER - Centro Especializado en Reproducción y Genética Humana.  
San Luis 2176 Piso 3º, Ciudad de Mar del Plata, Argentina.

Reproducción 2015;30:63-71

### Resumen

*Cuando todos los factores estudiados en fertilidad no justifican el fracaso en los tratamientos de reproducción asistida, se torna un desafío para el especialista en medicina reproductiva. En búsqueda de marcadores que mejoren las tasas de embarazo se han desarrollado diferentes esquemas terapéuticos. El estudio de vascularización uterina mediante Power Doppler y la aplicación del sildenafil han sido implementados en este ámbito con resultados prometedores. **Objeti-***

*vo. Estimar valores promedio de índice de pulsatilidad (IP) y puntos vasculares subendometriales en pacientes que logran embarazo con procedimientos de fertilización in vitro (FIV) en tratamiento con sildenafil vía vaginal. **Metodología.** Estudio longitudinal y prospectivo en pacientes con fracasos en tratamientos de FIV y que por presentar en el estudio Doppler de arterias uterinas un  $IP > 3$  se indicó sildenafil vía vaginal. **Resultados.** Se han incluido en este trabajo preliminar 12 pacientes. El IP se encontró por encima del valor esperado en el 100%, recibiendo tratamiento con sildenafil durante 14 a 23 días. Del total, 10 (83%) embarazaron y 2 (17%) no. **Conclusiones.** La realización del doppler y utilización de sildenafil constituyen una opción terapéutica válida en este grupo de pacientes. Los valores promedio de IP y de puntos vasculares subendometriales fueron de 2,67 y 4 respectivamente. Continuamos desarrollando en nuestro centro este*

---

**Correspondencia:** Carmen E Machado  
Tel. +54223 491 7117/4938128 Cel. +549223 155584935  
E-mail: cemachado79@gmail.com

*protocolo de investigación cuyos resultados finales serán publicados posteriormente.*

**Palabras claves.** Fertilización *in vitro*, índice de pulsatilidad, puntos vasculares subendometriales, sildenafil.

## **Endometrial receptivity: Doppler and Sildenafil offer better outcomes in patients with IVF failure. Preliminary results**

### **Summary**

*When all issues studied in fertility do not justify the failure in assisted reproduction treatments it becomes a challenge for reproductive medicine specialists. Looking for markers that improve pregnancy rates different therapeutic schemes have been developed. The study of uterine vascularization by Power Doppler and sildenafil application has been successfully improved.*

**Objective.** *To estimate average value pulsatility index (PI) and subendometrial vessels points in patients who get pregnant with in vitro fertilization procedures on treatment with sildenafil vaginally.* **Methodology.** *Longitudinal and prospective study in patients with failure on previous IVF treatments and on those who show PI >3 in uterine arteries Doppler study medicated with sildenafil vaginally.* **Results.** *12 patients have been included this preliminary study. The PI was above the expected value in all patients (100%), receiving sildenafil for 14 a 23 days; 10 (83%) of all got pregnant and 2 (17%) didn't.* **Conclusions.** *Doppler implementation and use of sildenafil are useful therapeutic options in this group of patients. PI and subendometrial vascularity points average values were 2,67 and 4 respectively. We continue to develop this research protocol in our institute and the final results shall be published at a later date.*

**Key words.** *In vitro fertilization, pulsatility index, subendometrial vessels points, sildenafil.*

### **Introducción**

En el año 1978 nace Louise Brown, la primera niña de la historia concebida tras una fecundación *in vitro* en la Clínica Bourn Hall de Londres. Desde entonces la medicina reproductiva, y más con-

cretamente la reproducción asistida, ha sido uno de los campos de la ginecología de mayor crecimiento e innovación en los últimos años.<sup>1,2</sup>

El tratamiento de la infertilidad mediante técnicas de reproducción asistida, específicamente la fertilización *in vitro* (FIV) y la inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI), han sido objeto de importantes avances, destacándose el desarrollo de técnicas que han mejorado la selección de embriones con potencial de implantación con transferencia de un solo embrión que reduzca el riesgo de gestación múltiple.<sup>3</sup>

Los determinantes del éxito de las técnicas de FIV e ICSI son múltiples y los métodos disponibles en la actualidad no han alcanzado todavía la sensibilidad y especificidad suficiente para predecir la implantación y/o embarazo.<sup>2,3</sup>

La identificación de los factores embrionarios y marcadores endometriales con capacidad de predecir la implantación podrían incrementar las tasas de éxito en la FIV e ICSI.<sup>4,5,7</sup>

Durante los últimos años se ha intentado establecer la relación de los factores involucrados en la receptividad, siendo hasta el momento la histeroscopia con o sin toma de biopsia considerada como el método *gold standard* para diagnóstico de patología endometrial en la falla implantatoria.<sup>5,6</sup>

El endometrio es el tejido que tapiza la cavidad uterina, es activo, dinámico y cumple como función principal permitir la implantación del embrión y el desarrollo fetal; y como funciones básicas tiene la capacidad de adhesión (receptividad endometrial) y participación activa en la invasión (placentación, desarrollo fetal). Sufre cambios periódicos que son la base del ciclo menstrual, y son necesarios para la adquisición del estado receptivo, imprescindible para la implantación embrionaria y el desarrollo de la gestación.<sup>3</sup>

La receptividad endometrial ha sido estudiada desde diferentes aspectos basados en sus componentes celulares, bioquímicos, genético-moleculares, inmunológicos y vasculares.<sup>7,8</sup>

Se ha relacionado en múltiples estudios al patrón morfológico con dicha receptividad, demostrando de forma repetida que el patrón trilaminar es mejor que el hiperecogénico (Cohen 1992; Fanchin 2000; Killick 2007), así como también se ha relacionado el grosor endometrial menor de 6 mm con fallas en la implantación.<sup>8,11</sup>

La implantación embrionaria es un proceso complejo que requiere de un embrión competente y un endometrio receptivo, así como el establecimiento de un proceso denominado “estrecho diálogo endometrio-embrión”. Tiene lugar durante un breve período de tiempo donde el tejido endometrial alcanza un estado receptivo expresando moléculas que son necesarias para el proceso de implantación. Este período se conoce como ventana de implantación y tiene lugar alrededor del día 19 a 23 del ciclo (día 5° a 9° post ovulatorio).<sup>9,10</sup>

*La implantación depende de:*

- La calidad embrionaria.
- La receptividad endometrial.
- La técnica de transferencia.
- Una fase lútea adecuada.
- Factores combinados o inexplicables con los métodos de estudio disponibles.

Otro aspecto relevante es que el endometrio en su preparación para recibir al embrión, experimenta una serie de cambios, que requieren la remodelación dinámica de la microvasculatura endometrial mediante la angiogénesis.<sup>13</sup>

La angiogénesis se produce durante el desarrollo del folículo ovárico hasta la formación del cuerpo lúteo, el desarrollo endometrial, la implantación y la placentación. La misma ocurre por mecanismo de intususpección (crecimiento por adición de tabiques celulares dentro de vasos) y elongación, la cual es regulada por óxido nítrico (ON), metaloproteasas de la matriz y factores de crecimiento (FGF, FGE y VEGF).<sup>13</sup>

Varios estudios han expuesto que la ecografía *Power Doppler* es una prueba no invasiva que podría revelar anomalías en la perfusión.<sup>9,10,13</sup>

### **Doppler de arterias uterinas y subendometrial**

Con el advenimiento del *Power Doppler*, a partir de 1988, se obtuvieron datos relevantes sobre la vascularización y perfusión observando una diferencia significativa en el IP entre las mujeres embarazadas y no embarazadas sugiriendo que podría utilizarse como predictor de receptividad uterina en tratamientos de reproducción asistida (TRA).<sup>11,12</sup>

*El estudio de perfusión uterina mediante Doppler:*

- Es una prueba no invasiva, fácil y reproducible.

- Podría predecir la capacidad de implantación y revelar problemas de infertilidad inexplicables.
- Detecta anomalías a nivel endometrial.

Según estudios realizados la tasa de embarazos es inversamente proporcional al IP de las arterias uterinas (AU). En pacientes sometidas a TRA el éxito es más frecuente cuando los flujos vasculares en AU están próximos a los que se observan en mujeres fértiles durante la implantación con índice de resistencia (IR) < 0,75 e índice de pulsatividad (IP) < 1,5. Sin embargo, en las publicaciones hasta la fecha sólo se ha demostrado ausencia de embarazo con IP > 3.<sup>9-11</sup>

La alta resistencia (medida como IR) en las AU al final de la fase folicular predice escasa receptividad endometrial.<sup>11</sup>

La determinación de flujos vasculares en las AU de mujeres estériles comparados con mujeres que han gestado demostró que el déficit vascular uterino es una entidad real. Actualmente se considera que es causa de un 5 a 10% de los casos de esterilidad de origen desconocido y que hasta el 95% de las pacientes sin flujo diastólico en la fase lútea son estériles.<sup>13,16</sup>

### **Cambios vasculares durante el ciclo**

Durante todo el ciclo menstrual se observa flujo diastólico subendometrial. Su ausencia es altamente patológica y demuestra la existencia de un déficit vascular uterino primario de extraordinaria importancia en reproducción.<sup>10,20</sup>

La velocidad del flujo aumenta progresivamente desde las AU a las arcuatas, radiales, basales y espiraladas; y también durante toda la fase folicular. Estos cambios indican que la resistencia al flujo disminuye a medida que nos aproximamos al endometrio. Este descenso de la resistencia favorece la vascularización del endometrio y, más concretamente, lo prepara para la ventana de implantación que ocurre durante la fase lútea.<sup>12</sup>

En el estudio *Doppler* se observan reducciones en el IP e IR de las AU, siendo éstas significativas el 4° día del ciclo y continúan decreciendo hasta el día de la ovulación.<sup>12</sup>

Durante la fase proliferativa se ha observado un discreto flujo diastólico subendometrial con IR que varía en torno a  $0,88 \pm 0,04$ .<sup>11,12</sup>

Al aproximarse a la fase secretora, ocurre un gradual descenso de esos índices, siendo más evidente

los dos días que anteceden a la ovulación. Se observa el valor mínimo alrededor del día 18 del ciclo y permanece así hasta el final. Comportamientos semejantes se aprecian en arterias radiales y espiraladas.<sup>12</sup>

El aumento de la velocidad de flujo detectado durante la foliculogénesis es el resultado del ascenso en la producción de estradiol.<sup>12</sup>

Inmediatamente después de la ovulación (Día 0), existe un aumento de los valores de IP e IR.<sup>12</sup>

La caída de la velocidad de flujo se observa claramente el día +2, y podría ser consecuencia de un ascenso en el tono basal de las fibras musculares miometriales o de un incremento de la contractilidad uterina, aunque es mucho más probable que la caída del flujo esté motivada por la disminución de los niveles de estradiol que siguen a la ovulación por la liberación del ovocito. Se conoce la existencia de receptores de estradiol y de cambios en la producción del factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF) en los vasos uterinos.<sup>11</sup>

Tras el día +2, la velocidad del flujo en las AU vuelve a subir durante la fase lútea y permanece alta (siendo mayor que durante la fase folicular) hasta el día +12. Después de este día, el flujo empieza a caer y continúa descendiendo hasta que acontece la menstruación. Esta caída del flujo arterial uterino entre la ovulación y el aumento subsiguiente que se observa en la fase lútea marca el incremento de la vascularización en dicha fase llamada ventana de implantación, sólo durante la cual puede producirse la implantación; y que gracias a las investigaciones en pacientes receptoras de ovocitos, se sabe que puede prolongarse artificialmente.<sup>10-12</sup>

El aumento del flujo en la fase lútea, que sigue a la caída antes descrita en la ovulación, se debe al ascenso de producción de progesterona. Se ha sugerido que la valoración de esta subida de flujo uterino en dicha fase puede ser un buen predictor de la implantación.<sup>11</sup>

Se sabe que las fallas en la vascularización uterina pueden ser primarias (defectos vasculares uterinos) o secundarias por falta de adaptación vascular a dichos cambios<sup>11</sup>, por lo que se deduce que los cambios vasculares que se observan durante la foliculogénesis, ovulación y fase lútea son de importancia trascendental en reproducción.<sup>10</sup>

Steer y col realizaron un estudio prospectivo evaluando a 82 pacientes bajo TRA. Las dividie-

ron de acuerdo a la medición del IP de las arterias uterinas como bajo (0,00 - 1,99), medio (2,00 - 2,99) y alto ( $\geq 3$ ). Encontraron que la receptividad uterina óptima para la implantación de un embrión corresponde a la medida de 2,00 a 2,99. Un IP medio  $> 3$  en el momento de la transferencia embrionaria predijo un 35% de fallos en lograr la gestación. Basados en esto, sugirieron que el uso de IP de la arteria uterina podría mejorar las tasas de éxito en FIV-TE, por lo que el IP de las AU podría ser un buen método de evaluación de la receptividad uterina durante el tratamiento de la infertilidad en TRA con mayor receptividad uterina cuando su valor es menor a 3.<sup>10, 14</sup>

Serafini y col en un estudio prospectivo de 102 ciclos de TRA, midieron el flujo sanguíneo diastólico del primer tramo de las AU y encontraron que era un valioso predictor de gestación clínica tras FIV-TE.<sup>10, 19</sup>

Una buena perfusión uterina, demostrada por un flujo sanguíneo diastólico completo durante la fase temprana y media secretora expresada por un bajo IR, se ha correlacionado con embarazo luego de TRA, sugiriéndose que un flujo diastólico insuficiente impide la receptividad uterina.<sup>15, 19</sup>

Con respecto a la vascularización subendometrial, clínicamente para facilitar la visión *Doppler* se ha sugerido determinar la penetración vascular endometrial en niveles:

- Zona 1: Región subendometrial.
- Zona 2: Capa más externa e hiperecogénica del endometrio.
- Zona 3: Capa más interna e hipocogénica del endometrio.

Usando esta división se ha observado que mujeres fértiles muestran flujo sanguíneo hasta la zona 3 en el período periovulatorio y que las pacientes que no presentan vascularización en zona 1 y 3 durante la inducción de la ovulación no logran embarazar, por lo que la presencia de flujo sanguíneo subendometrial podría ser el parámetro pronóstico más importante.<sup>11</sup>

En el año 2000 Sher y col proponen la utilización de sildenafil en pacientes con pobre desarrollo endometrial para mejorar la vascularización uterina.<sup>15</sup>

El sildenafil es un fármaco que ha sido formulado para el tratamiento de la disfunción eréctil.

Su mecanismo de acción es inhibir en forma selectiva la enzima fosfodiesterasa de tipo 5

(PD5). Al inhibir ésta, se previene la degradación de GMPc necesario para potenciar la acción del ON encargado de la relajación del músculo liso vascular. A nivel endometrial existen isoformas de esta enzima, la sintetasa de óxido nítrico (SON) uterina, cuyos niveles aumentan antes de la implantación del embrión.

El pico de estradiol que se produce antes de la implantación podría regular la actividad de la SON uterina y la producción de ON necesaria para lograr que el embrión implante.

*Podríamos considerar entonces que:*

El adecuado flujo sanguíneo endometrial y subendometrial incrementa las tasas de implantación - embarazo.

Un IP < 3 se asocia con embarazo, mientras que altos índices disminuyen las posibilidades.

En pacientes con IP > 3 la utilización del sildenafil mejora los resultados.

Se plantea como objetivo del presente estudio estimar valores promedio de índice de pulsatilidad y puntos vasculares subendometriales en pacientes con fallas previas en FIV que logran embarazo con procedimientos de fertilización *in vitro* en tratamiento con sildenafil vía vaginal.

## **Materiales y métodos**

Se realizó un estudio longitudinal y prospectivo.

Se inició el protocolo de estudio con un total de 14 pacientes con fracaso en los tratamientos de fertilización *in vitro*, de las cuales 12 cumplieron con los criterios de inclusión. Dos (2) pacientes no realizaron el *Doppler* de control previo a la transferencia embrionaria por lo que debieron ser excluidas.

El estudio se realizó en el Centro Especializado en Reproducción y Genética Humana "CRECER" de la ciudad de Mar del Plata, provincia de Buenos Aires desde el 01 de agosto de 2014 al 20 de diciembre de 2014.

Las pacientes fueron debidamente informadas sobre la aplicación y su eficacia (aún experimental) en forma verbal y escrita mediante consentimiento informado.

*Intervención y medición:*

Realización del *Power Doppler* (medición de IP, IR y puntos vasculares subendometriales) a pacientes de FIV-ICSI.

Pacientes cuyo valor de IP de AU fue > 3 en una o en promedio se indica sildenafil 100 mg (óvulos preparación fórmula magistral) vía de administración intravaginal desde el inicio del ciclo de estimulación (día 2-3 del ciclo) separados en 2 aplicaciones de 50 mg; hasta 24 hs antes de la transferencia embrionaria.

Realización de *Power Doppler* de control el día previo a la transferencia; en caso de no lograr valores esperados en ciclo de estimulación ovárica se difiere transferencia (¿falta de adaptación vascular a niveles hormonales?) y se reinicia día 23 del ciclo previo a estimulación.

Variables de estudio: fertilización *in vitro*, tratamiento fallido, IP, puntos vasculares subendometriales y cambios por efecto del sildenafil.

*Criterios de inclusión*

Haber tenido al menos 1 tratamiento de fertilización *in vitro* fallido.

La cantidad y calidad (G 3 - 4) de embriones debe ser la misma que en el tratamiento fallido.

En caso de receptoras todos los procedimientos deben ser realizados en las mismas condiciones (ovodonación).

Haber realizado ecografía *Power Doppler* uterino previo al inicio del ciclo de estimulación y de control previo a la transferencia embrionaria.

Haber recibido medicación: sildenafil 100 mg óvulos intravaginales hasta 24 hs antes de la transferencia.

*Criterios de Exclusión*

Patologías de la cavidad uterina que *per se* disminuyen la probabilidad de embarazo- implantación. Por ejemplo, pólipos, miomas submucosos, etc.

Patología inmunológica sistémica diagnosticada y/o tratada.

No tener tratamientos fallidos previos de alta complejidad.

No cumplir con la medicación por intolerancia y/o contraindicación.

Se realizó *Power Doppler* de AU y subendometrial con un ecógrafo de la marca ESAOTE con transductor endovaginal de 7,5 Mhz, teniendo en cuenta las recomendaciones propuestas por las guías de la Sociedad Internacional de Ultrasonografía de Ginecología y Obstetricia (ISUOG):

Registro de onda con *Doppler* espectral (3 a 6 ondas).

Volumen de muestra: 2mm.

Ángulo: < 30°.

Velocidad: 50 cm/seg.

Calcular el promedio de IP de las AU.

La medición se realizó entre el día 19 a 23 del ciclo (ventana de implantación) previo a la estimulación. En pacientes con ciclo natural día 5 a 9 postovulatorio y en anovulatorias se realizó ciclo inducido hormonalmente con estrógenos (aproximadamente 14 días desde el 2° día: 4 mg durante 7 días y luego 6 mg los 7 restantes) y progesterona (200 mg durante 3 días).

Se utilizó la clasificación de calidad embrionaria de Bolton y col 1989, siendo los Grado 3-4 los de mejor calidad.<sup>22</sup>

Se consideró como prueba de embarazo positiva el dosaje de subunidad beta cuantitativa sérica valores > 20 mg/dl, 14 días posteriores a la transferencia embrionaria.

**Resultados**

Se han incluido en este estudio 12 pacientes que han concluido el protocolo terapéutico.

Se muestra el *Doppler* diagnóstico (Figura 1) y luego en ciclo de estimulación asociado con sildenafil 100 mg intravaginal durante 14 días control previo a la transferencia (Figura 2).

En las imágenes se muestran el *Doppler* diagnóstico (Figura 3) y medicada durante 21 días con sildenafil 100 mg intravaginal control previo a la transferencia (Figura 4). En este caso no se logró reducir el IP con 14 días de tratamiento.

Figura 2. El IP es de 2,56 y el IR de 0,86.

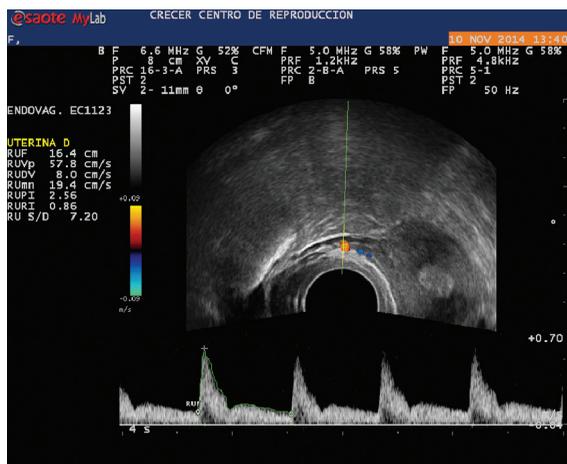


Figura 3. IP 3,71; IR 0,92.

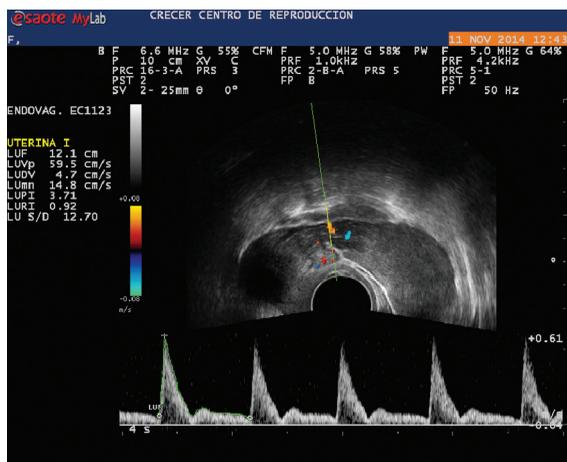


Figura 1. El IP es de 3,2 y el IR de 0,89.

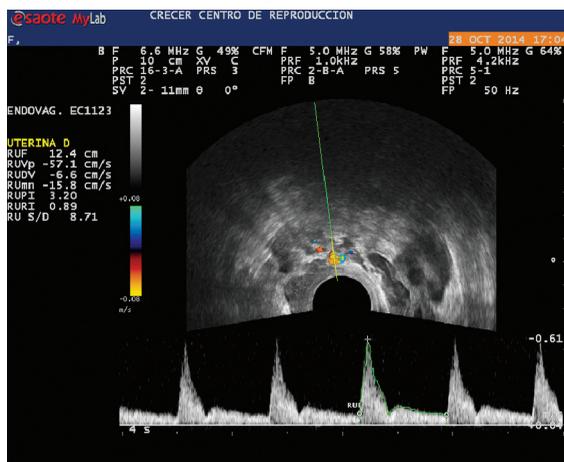
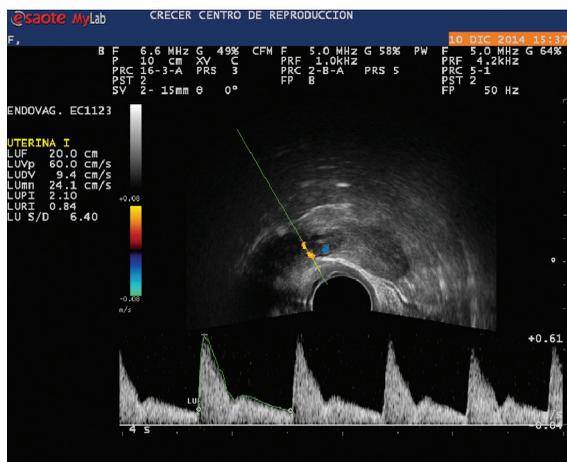


Figura 4. Luego del tratamiento IP 2,1; IR 0,84.



Se presentan las edades, causas de esterilidad, tratamientos realizados y características endometriales previas (Tabla 1).

Presentaron como causas de esterilidad: factor tuboperitoneal, factor masculino y esterilidad sin causa aparente (Tabla 1).

**Tabla 1.** Edades, causas, tratamientos fallidos y morfología endometrial.

Casos	Edad	Tipo de esterilidad	Causa de esterilidad	Tipo de tratamiento	Total de transferencias embrionarias	Tipo de endometrio
1	38	Primaria	Factor masculino	FIV	1	Trilaminar
				ICSI	1	Trilaminar
2	36	Primaria	ESCA	ICSI	4	Trilaminar
3	31	Secundaria	Factor tuboperitoneal	FIV	2	Trilaminar
4	35	Secundaria	Factor tuboperitoneal	FIV	2	Trilaminar
5	32	Primaria	ESCA	FIV	2	No trilaminar
6	36	Primaria	ESCA	ICSI	7	No trilaminar
7	33	Primaria	Factor masculino	ICSI	2	No trilaminar
8	38	Primaria	Factor masculino	ICSI	4	No trilaminar
9	45	Primaria (Receptora)	Enfermedad Duchenne	FIV	2	No trilaminar
				ICSI		
10	38	Secundaria	Factor inmunológico	ICSI	4	No trilaminar
11	33	Secundaria	Factor tuboperitoneal	FIV	3	Trilaminar
				ICSI		
12	35	Primaria	Factor tuboperitoneal	FIV	2	No trilaminar
				ICSI		

**Tabla 2.** Modificación del IP luego del tratamiento con sildenafil.

Casos	Día del ciclo	IP Previo al tratamiento	P.V.S	Promedio	Días de tratamiento	Grosor endometrial (mm)	IP Previo a la transferencia	P.V.S	Promedio
1	23	3,18	3	2,94	21	13	2,88	>5	2,71
		2,71					2,53		
2	21	2,73	2	3,15	12	10	2,48		
		3,57					2,60	4	2,54
3	21	2,98	2	3,41	21	12	1,98	5	1,86
		3,84					1,73		
4	19	3,08	4	3,23	21	10	2,76	5	2,8
		3,39					2,84		
5	20	2,93	3	3,83	21	7,8	2,31	4	1,9
		4,72					1,49		
6	21	3,55	3	4,11	21	6,8	2,53	5	3,41
		4,67					4,29		
7	21	4,15	1	4,83	21	7,2	1,80	>5	2,27
		5,51					2,74		
8	23	2,60	2	2,86	21	9,6	2,64	4	2,73
		3,11					2,81		
9	21	2,81	5	3,22	12	9	2,68	5	3,04
		3,62					3,41		
10	19	4,34	1	3,82	12	8,2	2,80	3	2,80
		3,29					2,78		
11	19	3,26	1	3,59	12	8,7	2,61	4	2,99
		3,91					3,36		
12	20	3,74	2	3,85	16	7,5	2,84	4	2,98
		3,96					3,11		

\*PVS: puntos vasculares subendometriales; mm: milímetros.

- La paciente receptora presentó enfermedad de Duchenne por lo que realizó todos los procedimientos con ovodonación, tanto en los fallidos como en el actual.
- El rango etario de las pacientes fue entre 31 y 45 años.
- El tratamiento recibido fue FIV en 7 pacientes e ICSI en 5 pacientes.
- El número de transferencias embrionarias fallidas fue entre 2 y 7.

Se presentan los resultados del *Power Doppler* diagnóstico, duración del tratamiento, con el promedio y el grosor endometrial (Tabla 2).

El IP máximo encontrado en el *Power Doppler* diagnóstico fue de 5,51 y 1 punto vascular subendometrial antes de iniciar tratamiento.

El número de días de tratamiento fue entre 12 y 21 días.

El grosor del endometrio logrado durante el tratamiento fue entre 6,8 y 13 mm con patrón trilaminar.

En el 100% de las pacientes en el *Doppler* de control el IP se encontró por debajo de 3 o disminuyó.

Los valores promedio de IP y de puntos vasculares subendometriales fueron de 2,67 y 4 respectivamente.

La calidad de los embriones transferidos fue G3-4.

Del total, 10 pacientes (83%) presentaron subunidad beta positiva a los 14 días de realizada la transferencia embrionaria y 2 (17%) negativa.

Se les realizó la ecografía a los 20 días posteriores al dosaje de subunidad beta; 9 pacientes presentaron embarazo en curso con saco gestacional y embrión con latidos cardiorfetales positivos, en 1 caso no se visualizó saco gestacional.

## Discusión

El factor endometrial es uno de los aspectos más estudiados actualmente en reproducción asistida, ya que se considera un obstáculo para poder incrementar las tasas de embarazo. Múltiples estudios han intentado determinar los factores involucrados en la receptividad uterina; no obstante, no se ha logrado establecer cuáles son las condiciones óptimas endometriales. Determinar dichas condiciones y los factores implicados en la receptividad uterina sigue siendo motivo de estudio, no obstante los marcadores específicos de dicha receptividad aún son desconocidos. En la búsqueda de estos factores se han descrito diferentes marcadores que estarían involucrados en la implantación, considerando al grosor y la morfo-

logía del endometrio los parámetros con mejores índices de embarazo.

En la actualidad, se intentan mejorar los resultados con el estudio de las alteraciones inmunológicas endometriales y vasculares.

En los inicios de la implementación del *Doppler* se ha planteado la hipótesis de que un flujo sanguíneo uterino escaso reflejado por un déficit en las AU es una causa de infertilidad y está presente en mujeres estériles; en publicaciones posteriores no se ha podido demostrar.

La bibliografía recomienda la histeroscopia con o sin toma de biopsia como método *gold standard* en pacientes con fallas repetidas en las técnicas de reproducción asistida, pues permite el diagnóstico y tratamiento de las mismas. Sin embargo, no justifican los fracasos cuando las condiciones son óptimas.

Sabemos que debe generarse cierto equilibrio para lograr el éxito, sin embargo, lo que sucede en ese “diálogo entre el endometrio y el embrión” podría ser individual, único y diferente en cada caso, y quizás continuará siendo un enigma.

## Conclusiones

El fallo de la implantación es uno de los principales limitantes del éxito de los tratamientos de fertilización *in vitro*.

En este grupo de pacientes se ha logrado mejorar el IP de las AU con un 83% de eficacia, por lo que podemos concluir que la realización del *Power Doppler* y la utilización de sildenafil constituyen una opción terapéutica válida.

Los valores promedio logrados de IP y de puntos vasculares subendometriales fueron de 2,67 y 4 respectivamente.

Podemos concluir que el grosor y morfología endometrial asociado al estudio *Doppler* (medición del IP de las AU y la presencia de vascularización subendometrial) pueden considerarse como herramientas válidas para mejorar las tasas de embarazo.

En la actualidad, continuamos desarrollando en nuestro centro este protocolo de investigación. Los resultados finales serán publicados posteriormente.

## Referencias

1. Johnson MH, Franklin SB, Cottingham M, Hopwood N. Why the Medical Research Council refused Robert Edwards and Patrick Steptoe support for research on human conception in 1971. *Hum Reprod* 2010; 25: 2157-2174.

2. Guillermo Jaim Etcheverry. Una nueva era en la reproducción humana. Premio Nobel en Fisiología o Medicina 2010 EDITORIAL MEDICINA - Volumen 70 - Nº 6, 573-575. 2010
3. Simón C. El endometrio humano: Desde la investigación a la clínica. Editorial Médica Panamericana; 1-242: 2009.
4. Susana E. Sommer. Género y Salud reproductiva en América Latina. Nuevas formas de procreación. Nuevas tecnologías conceptivas en América Latina. Capítulo 4. Ed. UNESP – TEC. Costa Rica; 308-342, 1999.
5. Jack Yu Jen Huang, M.D., Zev Rosenwaks, M.D. In vitro fertilization treatment and factors affecting success. *Mejor Práctica e Investigación Clínica de Obstetricia y Ginecología*. 26:6: 777-788. 2006.
6. Germán Van Thillo. Histeroscopia y fertilización asistida: ¿Hay que esperar a la falla reiterada de implantación? *Reproducción*. 22-26, 2013.
7. Díaz Gimeno P. Tesis Doctoral: Desarrollo de una herramienta molecular diagnóstica de la receptividad endometrial. Departamento de Pediatría, obstetricia y ginecología. Valencia, 2011.
8. Dey, S.K., et al., Molecular cues to implantation. *Endocr Rev* 25(3): 341-73, 2006.
9. Ramathal, C.Y., et al. Endometrial decidualization: of mice and men. *Semin. Reproduction Medicine*, 28(1): 17-26, 2010.
10. Horcajadas, J.A., et al. Uterine receptivity and the ramifications of ovarian stimulation on endometrial function. *Semin Reproduction Medicine*, 25(6): 454-60, 2007.
11. Pérez Villahoz P., Bajo Arenas J.M. Endometrial ecography assesment and success in assisted reproduction techniques. *Review Toko - Ginecología Práctica* 71 (2): 25-29, 2012.
12. Ruiz Anguas J., et al. Variables determinantes del éxito en la reproducción asistida. *Ginecología Obstetricia México* 73: 137-44, 2005.
13. Porcu B. Receptividad uterina e implantación embrionaria: aporte de la ecografía y del Doppler a la evaluación de la fecundación in vitro. *Revisión de la literatura y actualización*. *Human Reproduction* 22: 2261-2266, 2007.
14. Rossal LP, Bellver Pradas, Escudero, Gaytán, Pellicer. Doppler ultrasonography and implantation. *Review*. Instituto Valenciano de Infertilidad (IVI). Facultad de Medicina de Valencia. Departamento de Obstetricia y Ginecología. Universidad de Valencia. Hospital Universitario Dr. Peset. Valencia. 19:5, 2002.
15. Hernández Ayup S, Santos Haliscak R, Galache Vega P, Flores Tamez H, Sepúlveda González. Receptividad endometrial: calificación numérica para el pronóstico de éxito en programas de reproducción asistida. *Ginecol Obstet Mex* 74:13-19, 2006.
16. Puente, J; Serna J.; Cerillo M. El endometrio Humano: Desde la investigación a la clínica. Cap. Ultrasonografía en el estudio del endometrio. Editorial Médica Panamericana. Madrid España. Pag. 47-50. 2009.
17. Sher G., Fisch J. Vaginal sildenafil (Viagra): a preliminary report of a novel method to improve uterine artery blood flow and endometrial development in patients undergoing IVF. *Human Reproduction* 15 (4): 806-809. 2000.
18. Loverro G y col. Valoración de la cavidad uterina en mujeres estériles: comparación entre la ecografía transvaginal y la histeroscopia. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*. Editorial Española 2: 148-152, 2002.
19. Rodríguez OAJ, Gonzáles PA, Fernández PJ, Pérez HI, Martínez HM. Utilidad de la histeroscopia en la evaluación de la esterilidad. *Act Obstet Ginecol* 2008.
20. Álvarez A, Pérez M. Técnicas endoscópicas en reproducción. Laparoscopia, histeroscopia, hidrolaparoscopia transvaginal: Utilidad diagnóstica y terapéutica. *Rev Iber Fert* 24:3, 2007.
21. Fuentes J A, Pérez Ramírez M. Histeroscopia en infertilidad. Diagnóstico y tratamiento. *Ginecol Obstet Mex*. 76(11):679-84, 2008.
22. Almeida, ML; Saucedo de la Llata E; Resendiz VB; Santos Haliscak R, Galache Vega P, Hernández Ayup S. Grosor endometrial y predicción del embarazo en reproducción asistida. *Ginecol Obstet Mex* 72: 116 - 9, 2004.
23. Sanders B. Uterine factors and infertility. *J Reprod Med* 51(3):169-76, 2006.
24. Bolton VN, Hawes SM, Taylor CT, y col. Development of spare human preimplantation embryos in vitro: an analysis of the correlations among gross morphology, cleavage rates, and development to the blastocyst. *J In Vitro Fert Embryo Transf* 6: 30-35, 1989.

El comité editorial encargará al especialista la realización de una publicación original sobre un tema determinado. La revisión tiene como finalidad examinar la bibliografía publicada y situarla en cierta perspectiva. El artículo sintetizará los resultados y conclusiones de las publicaciones sobre el tópico encargado.

Mantendrá el siguiente ordenamiento: título de la revisión, autor/es (Apellido y nombre, lugar de trabajo, dirección de correo electrónico del contacto), resumen (en castellano y en inglés) y palabras claves.

Las citas bibliográficas deben presentar la estructura detallada previamente en trabajos originales, y numeradas según aparición en el texto. Las tablas, cuadros y figuras deberán llevar el epígrafe correspondiente y deberán ir adecuadamente referenciados en el texto; si es necesario, el autor especificará en que parte del texto deben ir intercalados.

En todos los casos, el envío de trabajos, comentarios y publicaciones deberá hacerse por correo electrónico a la dirección de la secretaria de SAMeR: info@samer.org.ar

## Actualización sobre enfermedades tiroideas en mujeres con abortos recurrentes

Mariana López, Constanza Branzini, Ismael De Baisi, Stella Maris Lancuba

CIMER: Centro de Investigaciones en Medicina Reproductiva

Reproducción 2014;30:72-79

### Resumen

*El presente artículo revisa los conceptos actuales del aborto recurrente en relación a las diferentes patologías de la glándula tiroides. Las diversas alteraciones tiroideas son prevalentes en la mujer en edad reproductiva y pueden causar esterilidad así como pérdidas reproductivas. Su diagnóstico y tratamiento es complejo, particularmente en enfermedad subclínica y requiere manejo interdisciplinario. Es primordial el diagnóstico preciso y tratamiento adecuado previo a la búsqueda de embarazo para evitar las complicaciones materno-fetales.*

**Palabras claves.** Aborto recurrente, tiroides.

### Update on thyroid disease in women with recurrent miscarriage

#### Summary

*This review describes the current concepts of recurrent miscarriage in relation to the different thyroid*

*gland illnesses. Various thyroid disorders are prevalent in woman during reproductive age and may be able to alter their fertility and produce reproductive loss. Diagnosis and treatment of thyroid disorders are difficult particularly in subclinical disease, and interdisciplinary areas are required to accurate diagnosis and treatment before seeking pregnancy to prevent maternal-fetal complications.*

**Key words.** Recurrent miscarriage, thyroid.

### Introducción y definiciones

La Organización Mundial de la Salud (OMS) definió al aborto como la pérdida de un feto o embrión que pesa menos de 500 gr, correspondiendo a 20 semanas de gestación. Clásicamente, el punto de corte para definir aborto recurrente es tres o más abortos espontáneos. Sin embargo, varios investigadores proponen que con dos abortos consecutivos o más de dos alternos se considere abortadora habitual y amerita un estudio más exhaustivo.<sup>1</sup> La pérdida precoz del embarazo es la complicación más frecuente de la gestación y ocurre en casi el 75% de las mujeres que intentan quedar embarazadas.<sup>2</sup> La mayoría de estas pérdidas no se diagnostican ya que se dan antes o durante el siguiente período menstrual.<sup>3</sup> Esto significa que habitualmente solo alrededor de 1/3 de

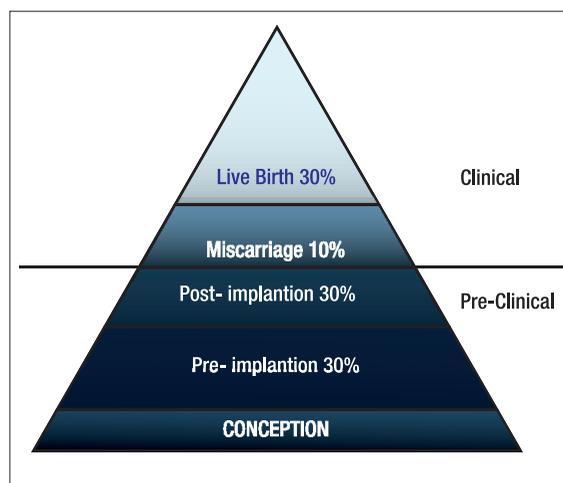
---

**Correspondencia:** Mariana López  
Av Forest 1166, CABA, Argentina  
Tel. / Fax: (54- 11) 4551-4318  
E-mail: macelopez@gmail.com / cimer@cimer.com

las concepciones llegan a un recién nacido vivo. (Figura 1).

Si consideramos los embarazos reconocidos clínicamente (por ecografía o confirmación histológica de gesta), la prevalencia de aborto es de alrededor del 15%, con una gran discrepancia de acuerdo a la edad materna, siendo 10% en mujeres de 20 años y un 51% en mayores de 40 años.<sup>4</sup> La pérdida esporádica de embarazo podría asociarse a un fenómeno “fisiológico” que impide concepciones afectadas por graves malformaciones estructurales o aberraciones cromosómicas incompatibles con la vida: aneuploidías, generalmente trisomías o monosomías.<sup>5</sup> Se demostró que el 75% de los fetos abortados tienen un cariotipo anormal.<sup>6</sup>

**Figura 1.** El iceberg representa la evolución espontánea de las gestas. Se estima que el 70% de las concepciones se pierden; la mayoría de ellas ocurren antes de la implantación. Larsen y col BMC Medicine 2013;11:154.



El 80% al 90% de las mujeres con un solo aborto espontáneo tendrán un embarazo normal en la siguiente oportunidad y es en ese contexto que no está indicado realizar estudios específicos.<sup>7</sup> La probabilidad de tener un embarazo exitoso es mayor si la mujer tiene el antecedente de hijos vivos previos y si es menor de 35 años de edad.<sup>8</sup>

### Aborto recurente

Con respecto a abortos recurrentes, si se consideran los que han tenido diagnóstico clínico,

la prevalencia es de 0,8% - 1,4%.<sup>8</sup> La Sociedad Americana de Medicina Reproductiva (ASRM) estima que menos de un 5% de las mujeres tendrán 2 abortos y solo un 1% 3 o más.<sup>9</sup>

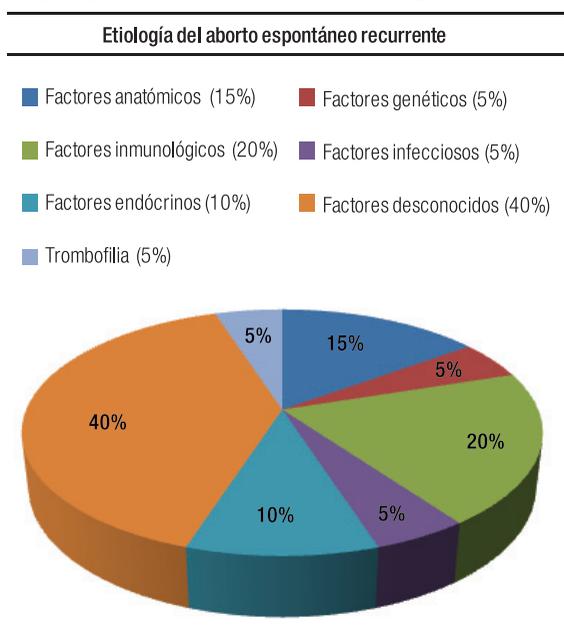
En aproximadamente el 60% de las parejas con aborto habitual es posible diagnosticar la causa de los mismos, hecho de vital importancia *para intentar una terapia destinada a corregir la situación.*<sup>9</sup>

Cuando no se encuentra una causa, la eficacia de los tratamientos empíricos es cuestionable; y frecuentemente, lo que puede ofrecer el profesional es apoyo emocional y asesoramiento acerca de futuros embarazos.

### Etiología de los abortos

Las causas de *aborto habitual* incluyen: factores de implantación, genéticos (embrionarios y parentales), autoinmunes, endocrino-metabólicos, infecciosos, trombofilias, aloinmunes, alteraciones espermáticas, estilo de vida (tóxicos-disruptores endocrinos), incompetencia ístmico-cervical y defectos anatómicos uterinos (Tabla 1 y Figura 2).<sup>10</sup>

**Figura 2.** Velkeniers B, y col. Pregnancy outcome in women with subclinical hypothyroidism undergoing assisted reproduction technologies: systematic review and meta-analysis of RCTs. Human Reproduction Update 2013.



**Figura 1.** Factores asociados a pérdidas reproductivas, su etiología y futuras investigaciones.

Factores asociados a pérdidas reproductivas	Documentación de la causalidad	Tratamiento, documentación	Investigación futura
Anormalidades cromosómicas parentales	Fuerte	PGD; débil	Identificación de portadores de alto riesgo a través de la historia clínica; RTC de PGD/no PGD
Anticuerpos	Moderado	Prednisona, Iglv: débil	RTCs de prednisona y/o Iglv
Disfunción de NK	Débil a moderado	Prednisona, Iglv: débil	Desarrollo de métodos estandarizados para la medición de cel. NK en el endometrio y establecer valores normales de NK en sangre y endometrio durante el embarazo
Expresión anormal de HLA-G	Débil a moderado	Prednisona, Iglv: débil	Desarrollo de métodos estandarizados para la medición de HLA-G soluble y de membrana
Trombofilia hereditaria	Moderado	Heparina; LDA: débil	RCTs de heparina y LDA
Trombofilia adquirida	Fuerte	Heparina; LDA: moderado	RCTs extensos de heparina y LDA
Autoinmunidad tiroidea	Fuerte	Levotiroxina: débil	RCTs de levotiroxina
PCOS	Débil	Pérdida de peso	Estudios de cohorte de tasas de aborto seguidos luego de la pérdida de peso vs no pérdida de peso
Fragmentación de ADN	Moderado	Separación espermática: no	Identificar los estudios específicos. Establecer métodos eficientes de selección espermática
Alteración del endometrio	Mecanismo propuesto	Porrección de selección de fenotipo decidual por moduladores hormonales, incluyendo progesterona	Intervención de estudios usando tratamientos hormonales en la fase lútea temprana
Malformaciones uterinas	Débil a moderado	Tratamiento quirúrgico	RCTs de tratamientos quirúrgicos
Polimorfismos del gen hCG	Débil a moderado	Suplementación de hCG: débil	RCTs de suplementación de hCG
Consumo de alcohol	Moderado	Cesación del consumo de alcohol	No disponible
Obesidad	Débil a moderado	Pérdida de peso: débil	Estudios de cohorte de tasas de aborto seguido de la pérdida de peso vs no pérdida de peso

hCG gonadotropina coriónica humana, HLA antígeno leucocitario humano, Iglv inmunoglobulina intravenosa, LDA dosis bajas de aspirina, NK natural killer, PCOS síndrome de ovario poliquístico. PGD diagnóstico genético preimplantacional, RCTs ensayo controlado aleatorio.

### Factores endocrinos

En el campo de la endocrinología el comportamiento de las hormonas relacionadas con la reproducción siempre ha tenido gran importancia y sus alteraciones afectan tanto la posibilidad de lograr la gesta (esterilidad) como la evolución del embarazo.

- Trastornos tiroideos: hipotiroidismo, hipertiroidismo, autoinmunidad (AIT).
- Diabetes, insulinoresistencia, obesidad.
- Síndromes hiperandrogénicos: Síndrome de ovarios poliquísticos, hiperplasia adrenal congénita.
- Hiperprolactinemia.
- Fase lútea inadecuada.
- Celiaquía (malnutrición), Déficit de vitamina D.
- Baja reserva ovárica.

### Trastornos tiroideos relacionados con la reproducción

#### Patología tiroidea

La disfunción y la autoinmunidad tiroidea (AIT) son comunes en las mujeres en edad reproductiva. Ambas interfieren en la fisiología de la reproducción y se asocian con resultados adversos a lo largo del embarazo.

Para cubrir las necesidades fisiológicas durante la gesta normal, la tiroides debe incrementar su producción hormonal alrededor de un 30 - 40% y esto suele no cumplirse adecuadamente en aquellas mujeres con autoinmunidad tiroidea previa a la gesta.<sup>11</sup>

En áreas con suficiencia yódica, la prevalencia de hipotiroidismo manifiesto varía entre 1,5% a 2%. Sin embargo, la forma subclínica es mucho

más frecuente y oscila en las distintas series entre 4,3% y 9,5%. La amplia variación en la frecuencia de hipotiroidismo subclínico publicada puede atribuirse, en parte, a los distintos niveles de corte (umbrales) de TSH empleados para su definición, que varían entre 2,5 mUI/L hasta 7,0 mUI/L.<sup>12</sup>

La prevalencia de AIT pura es de aproximadamente 10% en la población general.

A pesar de su elevada frecuencia, no hay evidencia suficiente para recomendar la pesquisa universal de la función tiroidea antes del embarazo en mujeres sanas.<sup>13</sup>

Se recomienda realizar la misma en los casos enumerados en la Tabla 2.

**Tabla 2.** *Glinoe D et al. Thyroid Regulation and Dysfunction in the Pregnant Patient*

Casos en los que se recomienda realizar estudios de la función tiroidea
Mujeres de más de 30 años
Mujeres con bocio
Antecedentes familiares de hipotiroidismo
Mujeres con AIT positiva
Clínica compatible con hipotiroidismo
Presencia de enfermedades autoinmunes asociadas
Esterilidad
Antecedente de abortos, partos prematuros o tiroiditis postparto
Antecedente de irradiación en cuello o cirugía tiroidea
Mujeres de zonas deficientes de yodo
Tratamiento con drogas que alteran la función tiroidea: litio o amiodarona

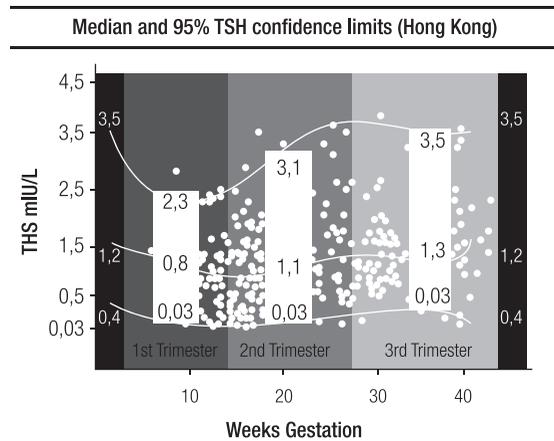
La medición de TSH y T4 es un buen indicador del status tiroideo. Algunos autores sugieren además dosar simultáneamente anticuerpos anti-tiroideos: ATPO o ATG.

Debemos recordar que la TSH disminuye durante el embarazo (en particular, en el primer trimestre). Esto se debe a que la gonadotrofina coriónica humana (hCG) y la TSH poseen idénticas cadenas alfa y cadenas beta específicas, pero similares por lo tanto ante su aumento durante la gesta la hCG reacciona de manera cruzada con el receptor de TSH<sup>14-15</sup> (Figura 3).

En las guías de la *Endocrine Society* (2007) se recomienda el uso de valores normales de TSH estandarizados por trimestre.

- 1er trimestre: 0,1 a 2,5 mUI/L.
- 2do trimestre: 0,2 a 3,0 mUI/L.
- 3er trimestre: 0,3 a 3,0 mUI/L.

**Figura 3.** TSH normal en una población China en 343 mujeres sanas embarazadas. La mediana, percentilo 2,5 y 97,5 de TSH para cada trimestre, se muestran en la figura. Panesar y col, *Ann Clin Biochem* 2001;38:329.



### Hipotiroidismo previo al embarazo

El mayor requerimiento de levotiroxina ocurre entre las 4 a 6 semanas de embarazo, se incrementa hacia la semana 16 a 20 de gestación y posteriormente suele mantenerse estable hasta el parto.

Dos estudios identificaron la necesidad de aumentar rápidamente la concentración de LT4 en las semanas 4 - 6 del embarazo en aquellas mujeres que venían en tratamiento por hipotiroidismo. Este requerimiento fue más precoz y la dosis mayor en los embarazos logrados por tratamientos de reproducción asistida.<sup>16-17</sup> Esto último se explica fisiopatológicamente porque la hiperestimulación ovárica eleva de manera pronunciada el estradiol plasmático. El aumento estrogénico afecta el eje hipotálamo-hipófiso-tiroideo, la distribución y la cinética de la levotiroxina en plasma especialmente en mujeres con ATPO positivos.<sup>18-19</sup>

El incremento del requerimiento de LT4 depende de la etiología del hipotiroidismo y de los niveles de TSH previos al embarazo. Se requiere más dosis frente a antecedentes de tiroidectomía, atiroxis (ausencia de glándula tiroidea) o hipotiroidismo post-dosis de radioyodo. Idealmente hay que optimizar el estado tiroideo previo a la concepción con valores de TSH < 2,5 mUI/L y realizar el ajuste de la medicación ni bien se confirma el embarazo.<sup>20</sup>

En 2010, Negro y col estudiaron a más de 4.000 mujeres con autoinmunidad tiroidea nega-

tiva y valores de TSH entre 2,5 y 5 mUI/L. Estas embarazadas presentaron una prevalencia de pérdida de embarazo significativamente mayor que las pacientes con valores de TSH < 2,5 mUI/L (6,1% contra 3,6%;  $p = 0,006$ ). No hubo diferencia en la tasa de partos prematuros entre los dos grupos. El mismo autor demuestra que un nivel de TSH > a 2,5 mUI/l en el primer trimestre de gesta, casi duplica el riesgo de aborto independientemente de la autoinmunidad tiroidea.

Al evaluar a embarazadas con hipotiroidismo grave (TSH > 20 mUI/L) se detectó que los niveles persistentemente elevados de TSH se correlacionaron con mayor incidencia de abortos y partos prematuros ( $p = 0,053$ ). El seguimiento y el tratamiento intensivo mejoran las complicaciones durante el embarazo, incluso cuando no se alcanzan los niveles de TSH óptimos. (Tabla 3).<sup>21</sup>

Otros autores como Van den Boogaard han detectado mayor frecuencia de aborto, pre-eclampsia y mortalidad perinatal incluso en las pacientes con hipotiroidismo subclínico: TSH elevada con T4 y T3 normales.<sup>13</sup>

**Tabla 3.** Negro R, y col. *J Clin Endocrinol Metab* 2010.

Complicaciones del hipotiroidismo durante la gesta	
Fetales	Maternas
Aborto – Muerte fetal y perinatal	Hipertensión gestacional
Parto prematuro – Bajo peso al nacer	Desprendimiento de placenta
Alteraciones en el neurodesarrollo	Preeclampsia
Restricción del crecimiento intrauterino	Anemia
Distrés respiratorio	Mayor hemorragia en el posparto
Mayor ingreso neonatal a cuidados intensivos	

**Autoinmunidad tiroidea (AIT) y embarazo**

Los anticuerpos antitiroideos se encuentran presentes en el 5% a 20% de las mujeres en edad fértil. La repercusión obstétrica de la AIT está asociada con mayor índice de abortos, abortos recurrentes, partos prematuros y tiroiditis postparto.<sup>22</sup>

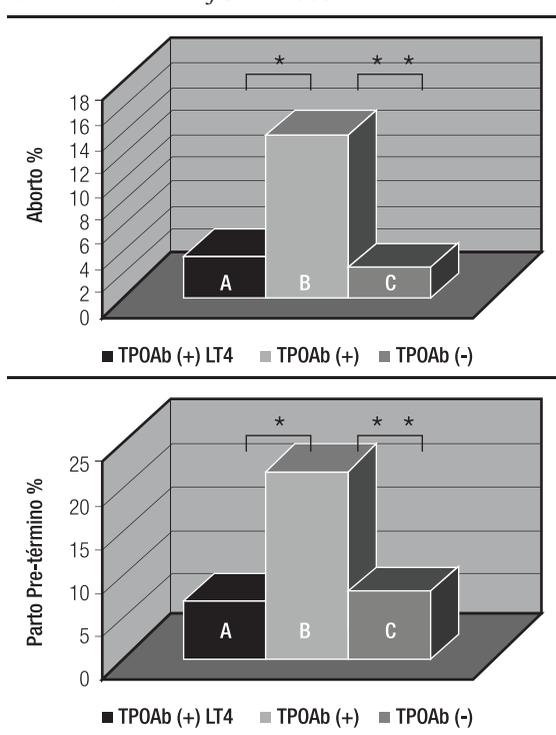
Dendrinos y col comprobaron que hay una mayor frecuencia de AIT en mujeres con aborto recurrente, comparadas con un grupo control (37% vs 13%  $p < 0,05$ ).<sup>23</sup>

Para explicar la relación entre AIT y abortos se plantean distintas hipótesis:<sup>23</sup>

- La presencia de AIT podría asociarse con un mínimo grado de hipofunción tiroidea subyacente, con dificultad de la glándula tiroides para adaptarse a las demandas elevadas del embarazo.
- Los ATPO serían marcadores de afección autoinmune generalizada contra la unidad fetoplacentaria y a su vez se asocian a otras alteraciones inmunológicas como la presencia de anticuerpos anticardiolipina.
- Dado que la zona pelúcida y el tejido tiroideo comparten antígenos similares, ésta podría ser blanco de los anticuerpos antitiroideos.
- Las mujeres infértiles con AIT son en general de mayor edad y esto por sí mismo es un factor de riesgo independiente para las complicaciones obstétricas, entre ellas los abortos.

Negro en el año 2006 publica un trabajo sobre el uso de levotiroxina en mujeres embarazadas eutiroideas con ATPO positivos. En él demuestra que este grupo de mujeres tiene más complicaciones obstétricas que los controles. Las divide en mitades: al grupo A le da tratamiento con levotiroxina y al B no; las pacientes del grupo C son controles ya que tienen función tiroidea normal y ATPO negativos (Figura 4).<sup>24</sup>

**Figura 4.** Negro R. Efecto obstétrico del tratamiento con levotiroxina en mujeres embarazadas con enfermedad tiroidea autoinmune. *JCEM* 2006.



Los abortos y partos prematuros son más frecuentes en el grupo B (ATPO+ sin tratamiento) y los del grupo A (ATPO+ con tratamiento) son similares al C (controles). Se recomienda tratar con levotiroxina a las mujeres ATPO + con TSH mayor a 2 mUI/L.

La adecuada función tiroidea materna es importante a lo largo de todo el embarazo, pero es el primer trimestre la etapa más crítica, cuando se produce el desarrollo fetal y el feto aún no sintetiza adecuadamente hormona tiroidea propia.<sup>13</sup>

Si bien se halla probada la asociación entre AIT y riesgo de aborto, las evidencias actuales no permiten concluir en cuanto a la utilidad de tratamiento con LT4 en todas las pacientes con anticuerpos positivos y eutiroidismo; deberá ser el médico tratante quien lo defina en cada caso particular. Otras opciones terapéuticas propuestas constituyen prednisona, inmunización con linfocitos alogénicos, infusión endovenosa de inmunoglobulinas o factor de necrosis tumoral, pero los trabajos que se han publicado son con casuísticas muy pequeñas y no se trata de estudios randomizados ni doble ciego con lo que en la actualidad no constituyen una opción válida en la práctica diaria.<sup>25, 26</sup>

Es necesario el seguimiento luego del parto por la posibilidad de desarrollar tiroiditis posparto sobre todo en aquellas pacientes que persisten con altos títulos de ATPO durante el embarazo.

### **Iododeficiencia durante el embarazo**

La tiroides se autoregula, vale decir que tiene la capacidad de modular su función y proliferación celular. La autoregulación está en relación con la mayor o menor concentración de iodo intraglandular. En condiciones fisiológicas el iodo es el factor limitante de la biosíntesis hormonal. La adaptación fisiológica que la tiroides debe realizar durante la gesta no puede hacerse correctamente cuando la mujer tiene déficit de iodo.<sup>27</sup> A nivel poblacional se puede controlar si la ingesta de iodo es suficiente evaluando la ioduria en orina de 24 hs que debe ser 150 - 250 gr/l. El iodo necesario para sintetizar hormonas tiroideas proviene en su mayoría de la dieta, solo una pequeña parte se obtiene de la deiodinación plasmática de T4 a T3.

En aquellas mujeres con déficit de Iodo previo al embarazo o restricción de su ingesta durante el mismo, cuando fisiológicamente hay un mayor

requerimiento de éste para aumentar la síntesis de T3 y T4, trae aparejado una alteración en estas hormonas con hipotiroxinemia.<sup>28</sup>

En Bélgica, luego de los estudios de iododeficiencia realizados por el Dr Glinoeer, la mayoría de las mujeres embarazadas reciben complejos vitamínicos con 100 - 125 gr de iodo como suplemento.<sup>29, 30</sup> El déficit en la ingesta de iodo durante el embarazo se considera significativo cuando es menor a 100gr/día.

*Recomendación:* Se sugiere que durante el embarazo y la lactancia la ingesta de iodo alcance los 200 - 300 gr/día ya sea con la dieta o asociada a complejos vitamínicos que lo contengan.<sup>31</sup>

### **Hipertiroidismo**

Se denomina de esta manera al cuadro dado por el exceso de hormonas tiroideas. Las manifestaciones clínicas más frecuentes son: palpitaciones, aumento de la frecuencia evacuatoria, intolerancia al calor, pérdida de peso con apetito conservado, insomnio, sudoración excesiva y astenia.<sup>32</sup>

Las causas (descartado el hipertiroidismo facticio) son enfermedad de Graves-Basedow (autoinmune), nódulo caliente, bocio multinodular hiperfuncionante y tiroiditis subaguda.

La etiología más común de hipertiroidismo es la enfermedad de Graves-Basedow cuyas manifestaciones clínicas son debidas a la presencia de un anticuerpo contra el receptor de TSH (TRAB), y se caracteriza por presentar además de las manifestaciones ya descritas del hipertiroidismo, bocio, oftalmopatía, dermopatía pretibial y acropaquia.<sup>33</sup> Es responsable de aproximadamente el 70% de los casos de tirotoxicosis en áreas con ingesta adecuada de iodo y predomina en mujeres entre los 20 y 50 años de edad.

En cuanto a su tratamiento, existen 3 modalidades: tratamiento médico con metimazol o propiltiouracilo, iodo 131 o cirugía. La decisión de cuál de ellos elegir se realiza evaluando las características clínico-bioquímicas de cada paciente y no serán discutidas en esta revisión, pero cabe aclarar que si se optara como tratamiento definitivo el iodo radiactivo, dados los efectos nocivos de la radiación sobre el feto, se recomendará a la paciente evitar quedar embarazada hasta que haya pasado entre 6 meses y un año del tratamiento con el radionucleido.

El riesgo de complicaciones materno-fetales está directamente relacionado con la severidad del hipertiroidismo y el tiempo de evolución, con franca disminución de las mismas si el hipertiroidismo está controlado.<sup>34</sup> Las alteraciones descritas son:

- *Para el feto:* aborto, malformaciones fetales, bajo peso para la edad gestacional.
- *Para la madre:* *abruptio placentae*, parto de pre-término, preeclampsia, insuficiencia cardíaca y tormenta tiroidea.<sup>35, 36</sup>

Si el hipertiroidismo es diagnosticado previo al embarazo, idealmente debemos primero resolverlo y luego autorizar buscar la gesta; si el hipertiroidismo se diagnostica durante el embarazo, hay contraindicación absoluta para el uso de Iodo radiactivo y la cirugía será necesaria en muy pocas ocasiones: solo si el tratamiento médico no logra controlar el hipertiroidismo y están en riesgo madre y feto.<sup>37-38</sup>

El tratamiento será entonces con inhibidores de la síntesis de hormonas tiroideas: metimazol o propitiouracilo (PTU). Si bien muchos autores prefieren el PTU (fármaco que no se comercializa en Argentina), hay otros trabajos que no muestran menor respuesta ni mayores efectos adversos al utilizar metimazol.

Ambos atraviesan la placenta y pueden afectar la función tiroidea fetal. Las pacientes deben ser controladas mensualmente durante la gesta con el objetivo de lograr hormonas tiroideas en el límite superior del valor normal usando la menor dosis posible de metimazol. Como efecto adverso infrecuente de estos fármacos, se ha descrito aplasia cutis congénita, atresia de coanas y atresia esofágica en los niños cuyas madres recibieron dosis elevadas de metimazol.<sup>39-42</sup>

Las mujeres que se encuentran eutiroides sin tratamiento o bajo adecuado reemplazo con levotiroxina pero que tienen el antecedente de haber sido tratadas con fármacos antitiroideos, yodo o cirugía por enfermedad de Graves, pueden tener los anticuerpos (TRAB) elevados y dado que los mismos atraviesan placenta, si su efecto es estimulante, pueden generar hipertiroidismo fetal aun cuando la madre no tenga alterada su función tiroidea. Debemos titular los TRAB en el primer y tercer trimestre de gesta, y si están elevados, controlar tanto al feto como al recién nacido. Menos

frecuentemente los TRAB tienen efecto inhibitorio y generan hipotiroidismo fetal.<sup>43-45</sup>

## Conclusiones

Como se ha descrito previamente, las enfermedades de la glándula tiroides son diversas y se presentan de manera frecuente en la mujer en edad reproductiva. Las mismas pueden tanto dificultar la posibilidad de lograr la gesta como alterar la evolución de la misma. Su diagnóstico es complejo y requerirá de la fluida comunicación y coordinación entre el ginecólogo y el endocrinólogo. Serán entonces los especialistas a cargo de estas pacientes quienes definirán cuáles estudios realizar y qué conducta terapéutica tomar en cada caso particular.

## Referencias

1. Coulam CB. Epidemiology of recurrent spontaneous abortion. *Am J Reprod Immunol* 1991;26:23-27.
2. Boklage CE. Survival probability of human conceptions from fertilization to term. *Int J Fertil* 1990;35:189-194.
3. Wilcox AJ, et al. Incidence of early loss of pregnancy. *N Engl J Med.* 1988;319:189-194.
4. Larsen E. New insights into mechanisms behind miscarriage. *BMC Medicine* 2013;11:154.
5. Boue J. Retrospective and prospective epidemiological studies of 1500 karyotyped spontaneous human abortions. *Teratology* 1975;12:11-26.
6. Philipp T, Philipp K, Reiner A, Beer F, Kalousek DK. Embryoscopic and cytogenetic analysis of 233 missed abortions: factors involved in the pathogenesis of developmental defects of early failed pregnancies. *Hum Reprod* 2003;18:1724-1732.
7. Warburton, y col. Spontaneous human abortions. *Am J Human Genet*, 1964.
8. Carp HJA. Epidemiology of recurrent pregnancy loss. London, UK: Informa Healthcare; 2007.
9. ASRM. Evaluation and treatment of recurrent pregnancy loss: a committee opinion. *Noviembre* 2012;98.
10. Poland, y col. Incidence of early loss of pregnancy. *Am J Obstet & Gynecol*, 1977.
11. De Groot L, Abalovich M, et al. Management of thyroid dysfunction during pregnancy and postpartum: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 2012; 97:2543-2565.
12. Poppe K, et al. The role of thyroid autoimmunity in fertility and pregnancy. *Endocrinology and Metabolism* 2008;8:394-405.
13. Van den Boogaard E, et al. Significance of (sub)clinical thyroid dysfunction and thyroid autoimmunity before conception and in early pregnancy: a systematic review. *Hum Reprod Update.* 2011;17:605-619.

14. Glinoe D, et al. Thyroid Regulation and Dysfunction in the Pregnant Patient. Chapter 14. Panesar et al, *Ann Clin Biochem* 2001;38:329.
15. Davis LB, et al. The effect of infertility medication on thyroid function in hypothyroid women who conceive. *Thyroid* 2007;17:773-777.
16. Alexander EK, et al. Timing and magnitude of increases in levothyroxine requirements during pregnancy in women with hypothyroidism. *N Engl J Med* 2004;351:241-249.
17. Muller AF, et al. Decrease of free thyroxine levels after controlled ovarian hyperstimulation. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:545-548.
18. Poppe K, et al. Impact of ovarian hyperstimulation on thyroid function in women with and without thyroid autoimmunity. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:3808-3812.
19. Velkeniers B, et al. Pregnancy outcome in women with subclinical hypothyroidism undergoing assisted reproduction technologies: systematic review and meta-analysis of RCTs. *Human Reproduction Update* 2013;19(3):251-258.
20. Negro R, et al. Pregnancy Loss Rate in Thyroid Antibody Negative Women with TSH Levels between 2.5 and 5.0 in the First Trimester of Pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab*. 2010;95(9):E44-E48.
21. Glinoe D, et al. Pregnancy in patients with mild thyroid abnormalities: maternal and neonatal repercusion. *JCEM*:1991;73:421-427.
22. Dendrinis S. Thyroid autoimmunity in patients with recurrent spontaneous miscarriages. *Gynecol endocrinol*: 2000;14:270-274.
23. Negro R. Levothyroxine treatment in euthyroid pregnant women with autoimmune thyroid disease: effect on obstetrical complications. *JCEM* 2006;91:2587-2591.
24. Porter TF. Immunotherapy for recurrent miscarriage. *Cochrane Database Syst Rev* 2006, 2, CD000112.
25. Ata B, et al. A systematic review of intravenous immunoglobulin for treatment of unexplained recurrent miscarriage. *Fertil Steril* 2011;95:1080-1085.
26. Delange F, Lecomte P. Iodine supplementation – Benefits outweigh risks. *Drug Safety* 2000;2:89.
27. De Benoist B, Delange F, Glinoe D, et al Recommendations for the prevention and control of iodine deficiency in pregnant and lactating women and in children less than two years old. *Public Health Nutrition*, 2006.
28. Glinoe D, et al: Acute increase in goiter size during a normal pregnancy. *Thyroid* 13:881, 2003.
29. Antonangeli L, et al. Comparison of two different doses of iodide in the prevention of gestational goiter in marginal iodine deficiency: a longitudinal study. *Europ J Endocrinol* 147:29, 2002.
30. Ivanova RB, et al. Evaluation of the thyroid status of pregnant women under supplementation with iodized salt. *J Endocrinol Invest* 25. (suppl. to N 7):91, 2002.
31. Abraham P, y col. A systematic review of drug therapy for Graves'Hyperthyroidism. *European J of Endocrinology* 2005;153(4):489-498.
32. Stagnaro-Green A, Abalovich M, American Thyroid Association Taskforce on Thyroid Disease During Pregnancy and Postpartum. Guidelines of the American thyroid Association for the diagnosis and management of thyroid disease during pregnancy and postpartum. *Thyroid* 2011;21(10):1081-1125.
33. Smith C, Thomsett, Choong C, et al. Congenital thyrotoxicosis in premature infants. *Clin Endocrinol* 54:371, 2001.
34. LeBeau SO, Mandel SJ: Thyroid disorders during pregnancy. *Endocrinol Metab Clin N Am* 35:117, 2006.
35. Phoojaroenchanachai M, et al. Effect of maternal hyperthyroidism during late pregnancy on the risk of neonatal low birth weight. *Clin Endocrinol* 54:365, 2000.
36. Mestman JH. Hyperthyroidism in pregnancy. *Best Practice & Research in Clinical Endocrinology and Metabolism: The Thyroid and Pregnancy* (Editor: Glinoe D) 18:267, 2004
37. Davis LE, Lucas MJ, Hankins GD, et al. Thyrotoxicosis complicating pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 160:63, 1989.
38. Frieden IJ: Aplasia cutis congenita: a clinical review and proposal for classification. *Acta Dermatol* 14:646, 1986.
39. Johnsson E, Larsson G, Ljunggren M. Severe malformations in infant born to hyperthyroid woman on methimazole. *Lancet* 350:1520, 1997.
40. Bournaud C, Orgiazzi J. Embryopathies et anti-thyroïdiens. *Ann Endocrinol (Paris)* 64:366, 2003.
41. Di Gianantonio E, Schaefer C, Mastroiacovo P, et al. Adverse effects of prenatal methimazole exposure. *Teratolgy* 64:262, 2000.
42. Phoojaroenchanachai M, et al. Effect of maternal hyperthyroidism during late pregnancy on the risk of neonatal low birth weight. *Clin Endocrinol* 54:365, 2001.
43. Momotani N, Noh JY, Ishikawa N, Ito K. Effects of propylthiouracil (PTU) and methimazole (MMI) on fetal thyroid status in mothers with Graves' hyperthyroidism. *J Clin Endocrinol Metab* 82:3633, 1997.
44. Luton D, Le Gac I, Vuillard E, et al. Management of Graves' disease during pregnancy: the key role of fetal thyroid gland monitoring. *J Clin Endocrinol Metab* 90:6093, 2005.



## VIII Jornada SAB-SAMeR 2015



Sociedad Argentina de Biología (SAB) – Sociedad Argentina de Medicina Reproductiva (SAMeR)

### Tolerancia fetal

Jueves 23 de abril de 2015, de 16 a 20 hs, Auditorio Fundación Pablo Cassara

Organizan y coordinan: Dra Mónica Vazquez-Levin, Dra Fernanda Parborell (SAB)  
y Capítulo de Reproducción Asistida (SAMeR)

#### PROGRAMA

- 16:00 - 16:45 hs. **Inscripción.**
- 16:45 - 17:00 hs. Apertura a cargo de los presidentes de ambas sociedades y de los organizadores de la Jornada.
- 17:00 - 17:30 hs. **“Mantenimiento de la homeostasis inmunológica desde la decidualización a la implantación: relevancia del sistema VIP/VPAC”**  
**Dra Rossana Ramhorst**  
Lab de Inmunofarmacología, Departamento de Química Biológica, Fac Ciencias Exactas y Naturales, UBA. IQUIBICEN-CONICET. Buenos Aires, Argentina.
- 17:30 - 18:00 hs. **“Células del sistema innato y adaptativo que son relevantes para la implantación y placentación”**  
**Dra Ana Zenclussen**  
*Centro de Experimental Gynaecology. Medical University de Otto von-Guericke-University. Magdeburgo, Alemania.*
- 18:00 - 18:20 hs. **Comentarios-Preguntas.**
- 18:20 - 18:40 hs. **Intervalo.**
- 18:40 - 19:10 hs. **“¿Nuestras madres han sido tolerantes con nosotros?”**  
**Dra Rosa Inés Barañao**  
Lab de Inmunología de la Reproducción. Instituto de Biología y Medicina Experimental - CONICET. Buenos Aires, Argentina.
- 19:10 - 19:40 hs. **“Participación del sistema endocannabinoide en la pérdida temprana del embarazo”**  
**Dra Ana María Franchi**  
Centro de Estudios Farmacológicos y Botánicos (CONICET). Buenos Aires, Argentina.
- 19:40 - 19:50 hs. **Comentarios-Preguntas.**
- 19:50 - 20:00 hs. **Comentarios Finales. Entrega de Certificados de Asistencia.**

## **Mantenimiento de la homeostasis inmunológica desde la decidualización a la implantación: relevancia del sistema VIP/VPAC**

**Dra Rossana Ramhorst**

*Investigadora Independiente CONICET.*

*Laboratorio de Inmunofarmacología, Departamento de Química Biológica,*

*Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UBA.*

*IQUIBICEN-CONICET.*

La invasión del trofoblasto a través del estroma endometrial decidualizado es crítica para la implantación y para la formación de la placenta. Este proceso implica la participación de distintas poblaciones celulares de origen endometrial, embrionario y células inmunes, así como distintos mediadores implantatorios, todos sincronizados temporal y espacialmente. Así, la invasión de las células trofoblásticas está acompañada por una respuesta inflamatoria con producción de citoquinas, quimioquinas y factores de crecimiento, característicos de un endometrio receptivo, que permitirán la remodelación tisular, la neoangiogénesis y consecuentemente la generación de la interfase materno-placentaria. Más aún, tanto las células trofoblásticas como las estromales endometriales producen el péptido intestinal vaso activo (VIP) y expresan sus receptores VPAC. Así a nivel local, VIP presenta actividad relajante y vasodilatadora, efecto trófico en células trofoblásticas y antiinflamatorio e inmunosupresor induciendo una respuesta tolerogénica materna que mantendrá la homeostasis de la interfase materno-placentaria.

En el presente trabajo estudiamos la contribución del sistema VIP/VPAC en el proceso de decidualización de células estromales endometriales actuando como un factor trófico sobre sus receptores VPAC favoreciendo la adhesión e invasión del blastocisto, complementando los efectos de la progesterona en la producción de factores implantatorios; y como inmunoregulador a través de la inducción y reclutamiento selectivo de linfocitos iTreg específicos y condicionando a las células dendríticas a un perfil semimaduro, ambas poblaciones leucocitarias esenciales para la formación y mantenimiento de la interfase materno-placentaria. Para abordar este proyecto, utilizamos dos modelos *in vitro* 1- la inducción de la decidualización de la línea celular hESC

(*human endometrial stromal cells*) y 2- un modelo de implantación embrionaria humana basada en la adhesión e invasión de esferoides semejantes a blastocistos (obtenidas a partir de la línea trofoblástica *Swan71*) sobre una monocapa de células hESC decidualizadas en ausencia/ presencia de VIP.

Así esperamos aportar al conocimiento de eventos moleculares y celulares en etapas tempranas de la implantación humana que permitan optimizar tratamientos utilizados actualmente en reproducción asistida así como desarrollar nuevas estrategias terapéuticas.

## **Células del sistema innato y adaptativo que son relevantes para la implantación y placentación**

**Dra Ana Zenclussen**

*Full Professor (W2). a cargo del Centro de Experimental Gynaecology. Medical University de Otto von Guericke-University, Magdeburgo, Alemania.*

El proceso por el cual el feto semi-alogénico es tolerado por el sistema inmunológico de la madre sigue siendo un fenómeno fascinante. Sin embargo, a pesar de su relevancia y de la amplia actividad de investigación en este campo, los mecanismos que subyacen a la tolerancia del feto aún no han sido dilucidados. Sin embargo, existen evidencias crecientes de que las interacciones inmunes inmune así como las interacciones inmune-endócrino construyen una compleja red de regulación inmune que asegura la supervivencia del feto dentro del útero materno.

Durante la presentación se discutirán los paradigmas clásicos así como los resultantes de investigaciones recientes. Se prestará especial atención a las células del sistema inmune innato y adaptativo que participan en la respuesta inmune tolerante de la madre hacia el feto y su regulación. Se abordarán similitudes y diferencias a procesos identificados en la autoinmunidad, el cáncer y el trasplante del injerto. Por último, se discutirá la importancia de las células mencionadas y mecanismos regulatorios que fomentan el crecimiento fetal en el contexto de patologías del embarazo provocadas por una respuesta inmune alterada hacia los antígenos paternos.

## ¿Nuestras madres han sido tolerantes con nosotros?

Dra Rosa Inés Barañao

*Investigadora Independiente del CONICET.  
Directora del laboratorio de Inmunología de la Reproducción en el Instituto de Biología y Medicina Experimental - CONICET.*

Uno de los fenómenos que abre más interrogantes en la inmunología es el siguiente: ¿por qué el embrión, comportándose como un injerto semialogénico, no es rechazado por la madre? Se sabe que la madre produce una activa respuesta inmunológica frente al feto y, sin embargo, en la mayoría de los casos, el rechazo inmunológico no se produce.

En esta exposición se describirán algunos mecanismos por medio de los cuales se genera la tolerancia inmunológica específica de la madre hacia el embrión. Todos estos mecanismos son interdependientes, y en conjunto constituyen una red de reaseguro para evitar el rechazo fetal. Aquí se detallará la acción de las hormonas sexuales femeninas sobre el sistema inmunológico, el cambio del perfil de citoquinas, la generación de proteínas inmunomoduladoras y de anticuerpos bloqueantes, el efecto de la expresión de los HLA-G y el papel de algunas células inmunocompetentes como los linfocitos T reguladores, las células dendríticas y las células matadoras naturales o *natural killer*.

Asimismo, se detallarán otras vías por las cuales el embrión se defiende del ataque inmunológico materno como la inducción de la apoptosis en el endometrio y en leucocitos, el metabolismo de hierro y triptofano, la inhibición del sistema del complemento y la expresión de anexinas.

## Participación del sistema endocannabinoide en la pérdida temprana del embarazo

Dra Ana María Franchi

*Investigadora Principal del CONICET.  
Directora del Centro de Estudios Farmacológicos y Botánicos (CONICET).*

El sistema endocannabinoide (SEC) es considerado un nuevo sistema de señalización que participa en una variedad de procesos fisiológicos incluyendo el apetito, la sensación de dolor, el estado de ánimo y la memoria. Sus principales componentes son los endocannabinoides, las enzimas de síntesis y degradación de los mismos, y los receptores específicos.

Todos los tejidos reproductivos femeninos y el embrión expresan receptores de cannabinoides. Los niveles uterinos de anandamida (AEA), el endocannabinoide más abundante en el tracto reproductivo, fluctúan con el curso del embarazo: su disminución se asocia con la receptividad uterina, mientras que su aumento está asociado a la pérdida de la preñez y/o a alteraciones del desarrollo embrionario.

Por otro lado, en humanos se ha demostrado una asociación estrecha del aborto recurrente tanto con niveles disminuidos de la enzima metabolizante de la AEA (hidrolasa de amidas de ácidos grasos, FAAH) en linfocitos periféricos como con concentraciones elevadas de AEA.

Una alta actividad de FAAH, y por lo tanto bajos niveles de AEA, es un factor que determina el éxito del embarazo. En este contexto, estudiamos, en un modelo murino de inflamación aguda inducida por lipopolisacáridos bacterianos (LPS), la participación del SEC en los mecanismos involucrados en la reabsorción embrionaria (RE) tanto en el sitio de implantación como en tejidos periféricos como las células inmunes y el sistema endocrino.

## ◆ **ACTIVIDADES CIENTÍFICAS DE SAMeR**

### • **PREMIO SOCIEDAD ARGENTINA DE MEDICINA REPRODUCTIVA DR. ARTURO EDUARDO ALFONSIN**

Se recuerda a los socios que durante el presente año podrán presentar trabajos para optar al **Premio Sociedad Argentina de Medicina Reproductiva Dr. Arturo Eduardo Alfonsin**.

El Trabajo Científico debe ser inédito y puede ser de índole experimental o clínico sobre Reproducción Humana o Animal.

Podrán aspirar al premio los autores de todos los trabajos científicos presentados en la Sociedad.

Para hacer efectiva esta aspiración los autores deberán presentar cuatro copias antes del 31 de Julio de 2015. El premio consistirá en un Diploma y una medalla para cada autor del trabajo premiado.

### • **JORNADAS CONJUNTAS:**

#### **IV Taller REDLARA - SAMeR 2015**

*“Genómica Embrionaria de la A a la Z”*

Viernes 18 y sábado 19 de septiembre de 2015

Buenos Aires - Argentina

**Organizado por:**

**REDLARA** (Región Argentina - Paraguay - Uruguay) y **SAMeR** (Sociedad Argentina de Medicina Reproductiva)

**Lugar:** Americas Towers Hotel - Libertad 1070  
Ciudad Autónoma de Buenos Aires - Argentina

**Contacto:** Fernanda Alemán

Cel.: +549 (11) 6749.3447

Fernandaaleman@hotmail.com

#### **CONCEBIR-SAMeR 2015**

Noviembre 2015

*19° Jornadas Concebir 4ta. Jornada Conjunta SAMeR – Asociaciones de pacientes.*

### • **CURSOS:**

1. Curso Superior Bianual de Medicina Reproductiva 2015-2016
2. Curso Superior Anual de Biología de la Reproducción 2015
3. Curso Anual de Cirugía Endoscópica Ginecológica 2015
4. Curso Básico de Psicología en Fertilización Asistida 2015
5. Talleres para Counselors, Instrumentadoras y Enfermeras 2015
6. Posgrado en Medicina Reproductiva 2015-2016
7. Posgrado en Cirugía Reproductiva 2015-2016

### • **XVII Congreso Argentino de Medicina Reproductiva SAMeR 2016**

31 de agosto, 1 y 2 de septiembre de 2016

San Martín de Tucumán - Tucumán

**Lugar:** SHERATON TUCUMÁN HOTEL  
Av. Soldati 440

**Contacto:** Fernanda Alemán

Cel.: +549 (11) 6749.3447

Fernandaaleman@hotmail.com

Centros de reproducción asistida acreditados al 15 de Abril de 2015, según las Normas de Acreditación aprobadas por SAMeR, marzo de 2014

◆ **CIUDAD AUTÓNOMA DE Bs. As.**

**CEGYR**

Director: Dr. Sergio Papier  
Viamonte 1438  
Tel.: 4372-8289 - cegyrc@cegyr.com

**CENTRO DE REPRODUCCIÓN DEL HOSPITAL ITALIANO**

Director: Dr. Sebastián Gogorza  
Gascón 450  
Tel.: 4958-4546 - gineco@hitalba.edu.ar

**CER INSTITUTO MÉDICO**

Director: Dra. Ester Polak de Fried  
Humboldt 2263  
Tel.: 4778-1587 - consultas@cermed.com

**CIMER, CENTRO DE INVESTIGACIONES EN MEDICINA REPRODUCTIVA**

Director: Dra. Stella Lancuba  
Av. Forest 1166  
Tel.: 4551-4318 - cimer@cimer.com

**FERTILAB**

Directora: Dra. Andrea Marazzi  
Riobamba 1205 1º Piso  
Tel.: 4811-7575 - info@fertilab.com.ar

**IVI: Buenos Aires**

Director: Dr. Fernando Neuspiller  
Av. del Libertador 5962 (C1428ARP)  
Tel.: 54-11 4789-3600  
Ext. 44100FX +5411 4789-3610  
ivibuenosaires@ivi.es

**PREGNA**

Director: Dr. Fabio Sobral  
Juncal 3490  
Tel.: 4831-5900 - info@pregna.com.ar

**PROCREARTE**

Director: Dr. Gastón Rey Valzacchi  
Bulnes 1104 (esq. Tucumán)  
Tel.: (54 11) 5530 5700 - info@procrearte.com

**SEREMAS**

Director: Dr. Santiago Brugo Olmedo  
Arenales 1954 – Piso 1  
Tel.: 5032-3358/59/60 - consultas@seremas.com

◆ **GRAN BUENOS AIRES**

• **San Isidro**

**FERTILIDAD SAN ISIDRO**

Director: Dr. Claudio Ruhlmann  
Av. Libertador 16958. San Isidro  
Tel.: 4743-3456 - unifer@fibertel.com.ar

• **San Martín**

**INSTITUTO PREFER**

Director: Dr. Mario Gómez Badía  
Calle Guemes 2348. San Martín  
Tel.: 4752-9311 / 4713-1762 - iprefer@fibertel.com.ar

• **La Plata**

**IARA PROCREARTE**

Director: Dr. Carlos Carrere  
Calle 44 N° 1008 1/2. La Plata  
Tel.: 0221-8836147 - iara@procrearte.com

**PERINAT**

Director: Dr. José Romero  
Calle 59 N° 1028. La Plata  
Tel.: 0221-5099300 - clinicaperinat@gmail.com

◆ **PROVINCIA DE BUENOS AIRES**

**BAHÍA BLANCA**

**AMERIS**

Director: Dr. Roberto Crowley  
Av. Alem 1044 - Bahía Blanca  
Tel/Fax: 0291-456220 - ameris@amerisbb.com.ar

**IMER**

Director: Dr. Eduardo Vincent  
Alsina 575 - Bahía Blanca  
Tel.: 0291-4562220 - eduardo.vincent@hotmail.com

**CÓRDOBA**

**CIGOR**

Director: Dr. Daniel Estofán  
Chacabuco 1089  
Tel.: 0351-4694433 - estofan@arnet.com.ar

**NASCENTIS**

**ESPECIALISTAS EN FERTILIDAD**

Director: Dr. César Sánchez Sarmiento  
Montevideo 359 (X5000AXA)  
Tel.: 54351-4247351 - info@nascentis.com

Centros de reproducción asistida acreditados al 15 de Abril de 2015, según las Normas de Acreditación aprobadas por SAMeR, marzo de 2014

### **NEUQUÉN**

#### **ALBOR**

Director: Dr. Ricardo Luis Cáceres  
Santa Fe 475  
Tel.: 0299-4489966 / 4435525  
caceresnqn@hotmail.com

### **RÍO NEGRO**

#### **FERTILITY PATAGONIA**

Director: Dr. Juan Manuel Bonina  
Belgrano 100 1° piso  
Te.: 02944.426467-435328  
info@fertilitypatagonia.com - www.fertilitypatagonia.com

### **SALTA**

#### **SARESA**

Director: Dr. Juan José Aguilera  
Mariano Boedo 23  
Tel.: 0387-4222272 - info@saresa.com.ar

---

### **Laboratorios de Andrología**

#### **REPROTEC**

Directora: Dra. Vanesa Rawe  
Humboldt 2433 PB 10 - Tel.: 4773-4889

### **SANTA FE**

#### **• Rosario**

#### **GESTANZA**

Directora: Dra. Georgina Meneghini  
Bvd. Oroño 373 - Rosario 2000  
Tel.: 0341-424 9925 / 424

### **Bancos de Semen**

**(Acreditados bajo las normas SAMeR / SAA)**

#### **REPROBANK**

Directora: Dra. Vanesa Rawe  
Humboldt 2433 - Tel.: 4773-4889

#### **INSTITUTO COLABIANCHI**

Director: Dr. Julio Colabianchi  
Bvd. Oroño 1520 - Rosario  
Tel.: 0341-4240005  
colabianchi@institutocolabianchi.com

#### **PROAR**

Director: Dr. Carlos Morente  
Italia 1225  
Tel.: 0341 4476566/ 6600/ 6676  
proar@proar.com.ar / secretaria@proar.com.ar

# Transferencia de derechos de autoría

- 1) La política de la Sociedad Argentina de Medicina Reproductiva a cargo de la propiedad intelectual de Reproducción es adquirir el derecho de autor para todos los artículos, con el objeto de:
  - a) Proteger los artículos a publicar contra la infracción difamatoria o plagio.
  - b) Permitir más eficientemente el proceso de permisos y licencias para que el artículo alcance el grado más completo de disponibilidad directamente y a través de intermediarios en la impresión y/o en forma electrónica.
  - c) Permitir a Reproducción mantener la integridad del artículo una vez arbitrado y aceptado para la publicación y así facilitar la gerencia centralizada de todas las formas de comunicación incluyendo links, validación, referencia y distribución.
- 2) El autor conserva sus derechos sobre el artículo incluyendo el derecho a ser identificado como el autor siempre y dondequiera que el artículo se publique, siendo el deber de SAMeR velar por que tanto el nombre de su autor como de los coautores estén siempre claramente asociados al artículo y reservándose el derecho de hacer los cambios necesarios de redacción. Los cambios sustanciales se harán previa consulta al/ a los autor/es. Una vez aprobado el artículo, es deber de SAMeR, publicarlo. Si fuera rechazado, este acuerdo queda cancelado automáticamente y todos los derechos vuelven al autor.
- 3) Además de los derechos indicados, el autor conservará los siguientes derechos y obligaciones:
  - a) Después de la publicación en Reproducción, órgano oficial de la SAMeR, el derecho para utilizar el todo o una parte del artículo y del resumen, sin la revisión o la modificación en compilaciones personales u otras publicaciones del trabajo del propio autor y de hacer copias del todo o una parte de tales materiales para el uso en conferencias o sala de clases (excluyendo la preparación de material para un curso, para la venta hacia delante por librerías e instituciones) a condición de que la primera página de tal uso o copia exhiba prominente los datos bibliográficos y el aviso de derecho de autor siguiente: (Año\_\_\_\_ Número\_\_\_\_) Reproducción - Sociedad Argentina de Medicina Reproductiva.
  - b) Antes de la publicación el autor tiene el derecho de compartir con colegas impresiones o pre-impresiones electrónicas del artículo inédito, en forma y contenido según lo aceptado por el Comité Editorial de SAMeR para la publicación en la revista.

Tales pre-impresiones se pueden fijar como archivos electrónicos en el sitio web del autor para uso personal o profesional, o en la red interna de su universidad, colegio o corporación, o de un web site externo seguro de la institución del autor, pero no para la venta comercial o para cualquier distribución externa sistemática por terceros (por ejemplo, una base de datos conectada a un servidor con acceso público). Antes de la publicación el autor debe incluir el siguiente aviso en la pre-impresión: “Esto es una pre-impresión de un artículo aceptado para la publicación en Reproducción (Año\_\_\_\_ Número\_\_\_\_) Sociedad Argentina de Medicina reproductiva. Cualquier copia o reproducción para uso comercial, civil, etc. es ilegal y queda prohibida según ley 11.723”.
  - c) Después de la publicación del artículo por Reproducción el aviso de la pre-impresión deberá ser enmendado para leerse como sigue: “Esta es una versión electrónica de un artículo publicado en Reproducción y deberá incluir la información completa de la cita de la versión final del artículo según lo publicado en la edición de Reproducción.” Es deber del autor no poner al día la pre impresión o sustituirlo por la versión publicada del artículo sin primero pedir el permiso de SAMeR. La fijación del artículo publicado en un servidor público electrónico se puede hacer solamente con el permiso expreso y por escrito de SAMeR.
- 4) Es derecho del autor continuar utilizando su artículo solamente como lo indica el ítem TERCERO y con el deber de que Reproducción, SAMeR sea mencionada como fuente original.
- 5) La asignación del derecho de autor en el artículo no infringe sus otros derechos de propiedad, tales como derechos de patente y de marca comercial.
- 6) Además de la reproducción en forma impresa convencional del artículo y del extracto de acompañamiento, SAMeR tiene el derecho de almacenar electrónicamente y después entregar electrónicamente o en forma impresa para satisfacer peticiones individuales que aumentan así la exposición del artículo en la comunidad internacional. Esta transferencia incluye el derecho de adaptar la presentación del artículo para el uso conjuntamente con sistemas informáticos y programas, incluyendo la reproducción o la publicación en forma legible y la incorporación en sistemas de recuperación.
- 7) El presente acuerdo se enmarca dentro de la ley de Propiedad Intelectual 11.723. Las partes se someten a la competencia de los tribunales de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires. Si el copyright del artículo es poseído en forma no exclusiva, concedo por este medio a Reproducción, SAMeR los derechos no exclusivos de reproducirse y/o de distribuirse este artículo (por completo o en partes) y para publicar a través del mundo en cualquier formato y en todos los idiomas inclusive sin la limitación en forma electrónica, impresión, o en disco óptico, transmisión en Internet y en cualquier otra forma electrónica y autorizar a otros según términos de la ley 11.723.

Título del titular del derecho de autor:

\_\_\_\_\_

Esto será impreso en la línea del copyright en cada página del artículo. Es responsabilidad del autor para proporcionar la información correcta del titular del copyright.

Autor Principal:

\_\_\_\_\_

Fecha: \_\_\_\_\_

Título/Posición/Dirección:

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_