



GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA DE MÉXICO

EDITORIAL

643 Jorge Delgado-Urdapilleta

ARTÍCULOS ORIGINALES

645 **Detección del virus del papiloma humano tipos 16 y 18 en muestras de semen de pacientes de un programa de reproducción asistida**

Ignacio Flores-Sánchez, José Gutiérrez-Salinas, Evangelina Enriquez-Alvarado, Sergio Hernández-Rodríguez, Claudia Ramos-Barragán, Alejandra Salamanca-Ceciliano, Leticia Cruz-Tovar, Sigrit Suástegui-Domínguez

652 **Inyección intracitoplásmica de espermatozoides morfológicamente seleccionados (IMSI) vs inyección intracitoplásmica de espermatozoides (ICSI) en pacientes con falla repetida a ICSI**

Claudia González-Ortega, Patricia Cancino-Villarreal, Alicia Pérez-Torres, Marcos Ambrosio Vargas-Maciel, Sandra Guadalupe Martínez-Garza, Efraín Pérez-Peña, Antonio Martín Gutiérrez-Gutiérrez

660 **Morbilidad materna extrema en el Hospital General Dr. Aurelio Valdivieso, Servicios de Salud de Oaxaca**

Omar Calvo-Aguilar, Víctor Edilberto Morales-García, Jaime Fabián-Fabián

669 **Impacto del envejecimiento masculino en la capacidad funcional del espermatozoide a través de la expresión de fosfatidil serina y oligonucleomas**

Alinne Colin-Valenzuela, Nardhy Gómez-López, Rosaura Ávila-Lombardo, Gerardo Barroso-Villa

677 **Expresión de moléculas de adhesión celular en la interfase materno fetal al término de la gestación humana**

Rodrigo Vega-Sánchez, Elizabeth de Jesús-Torres, Marcia Arenas-Hernández, Jorge Beltrán-Montoya, Rolando Maida-Claros, Guadalupe Estrada-Gutiérrez, Felipe Vadillo-Ortega

685 **Efecto de la merocianina-540 en la capacidad fertilizante del espermatozoide correlacionada con la expresión de fragmentos 3-OH terminales**

Gerardo Barroso-Villa, Alinne Colin-Valenzuela, Nardhy Gómez-López, Mauricio Velázquez-Magaña

CASOS CLÍNICOS

692 **Oxitocina y síndrome de secreción inapropiada de hormona antidiurética neonatal. Reporte de un caso de hiponatremia severa temprana y revisión de la bibliografía**

Carlos Aldana-Valenzuela, José Alfredo Prieto-Pantoja, Angélica Hernández-Acevedo

697 **Tumor del estroma gastrointestinal en el embarazo y control posterior. Caso clínico**

Marcos Javier Cuerva-González, Sara Iacoponi, María de la Calle-Fernández, Juan Pozo-Krieling

HACE 55 AÑOS

703 **Rutina Diagnóstica de la Esterilidad Femenina**

Carlos D Guerrero, Jorge Royalo-Jiménez, Luis Viramontes

707 **Índice de materias 2010**

712 **Índice de autores 2010**

Indizada en: Index Medicus, ARTEMISA, Índice Médico Latinoamericano, LILACS, Medline.

EDITADA POR LA FEDERACIÓN MEXICANA DE COLEGIOS DE OBSTETRICIA Y GINECOLOGÍA, A.C.

FUNDADA POR LA ASOCIACIÓN MEXICANA DE GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA EN 1945



GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA DE MÉXICO

Volumen 78, número 12, diciembre 2010

CONTENIDO

EDITORIAL

643 *Jorge Delgado-Urdapilleta*

ARTÍCULOS ORIGINALES

- 645 **Detección del virus del papiloma humano tipos 16 y 18 en muestras de semen de pacientes de un programa de reproducción asistida**
Ignacio Flores-Sánchez, José Gutiérrez-Salinas, Evangelina Enriquez-Alvarado, Sergio Hernández-Rodríguez, Claudia Ramos-Barragán, Alejandra Salamanca-Ceciliano, Leticia Cruz-Tovar, Sigrit Suástegui-Domínguez
- 652 **Inyección intracitoplásmica de espermatozoides morfológicamente seleccionados (IMSI) vs inyección intracitoplásmica de espermatozoides (ICSI) en pacientes con falla repetida a ICSI**
Claudia González-Ortega, Patricia Cancino-Villarreal, Alicia Pérez-Torres, Marcos Ambrosio Vargas-Maciel, Sandra Guadalupe Martínez-Garza, Efraín Pérez-Peña, Antonio Martín Gutiérrez-Gutiérrez
- 660 **Morbilidad materna extrema en el Hospital General Dr. Aurelio Valdivieso, Servicios de Salud de Oaxaca**
Omar Calvo-Aguilar, Víctor Edilberto Morales-García, Jaime Fabián-Fabián
- 669 **Impacto del envejecimiento masculino en la capacidad funcional del espermatozoide a través de la expresión de fosfatidil serina y oligonucleomas**
Alinne Colin-Valenzuela, Nardhy Gómez-López, Rosaura Ávila-Lombardo, Gerardo Barroso-Villa
- 677 **Expresión de moléculas de adhesión celular en la interfase materno fetal al término de la gestación humana**
Rodrigo Vega-Sánchez, Elizabeth de Jesús-Torres, Marcia Arenas-Hernández, Jorge Beltrán-Montoya, Rolando Maida-Claros, Guadalupe Estrada-Gutiérrez, Felipe Vadillo-Ortega
- 685 **Efecto de la merocianina-540 en la capacidad fertilizante del espermatozoide correlacionada con la expresión de fragmentos 3-OH terminales**
Gerardo Barroso-Villa, Alinne Colin-Valenzuela, Nardhy Gómez-López, Mauricio Velázquez-Magaña

CASOS CLÍNICOS

- 692 **Oxitocina y síndrome de secreción inapropiada de hormona antidiurética neonatal. Reporte de un caso de hiponatremia severa temprana y revisión de la bibliografía**
Carlos Aldana-Valenzuela, José Alfredo Prieto-Pantoja, Angélica Hernández-Acevedo
- 697 **Tumor del estroma gastrointestinal en el embarazo y control posterior. Caso clínico**
Marcos Javier Cuerva-González, Sara Iacoponi, María de la Calle-Fernández, Juan Pozo-Krieling

HACE 55 AÑOS

- 703 **Rutina Diagnóstica de la Esterilidad Femenina**
Carlos D Guerrero, Jorge Royalo-Jiménez, Luis Viramontes
- 707 **Índice de materias 2010**
- 712 **Índice de autores 2010**

CONTENT

EDITORIAL

643 *Jorge Delgado-Urdapilleta*

ORIGINAL ARTICLES

- 645 **Detection of human papillomavirus types 16 and 18 in semen samples from patients in an assisted reproduction program**
Ignacio Flores-Sánchez, José Gutiérrez-Salinas, Evangelina Enriquez-Alvarado, Sergio Hernández-Rodríguez, Claudia Ramos-Barragán, Alejandra Salamanca-Ceciliano, Leticia Cruz-Tovar, Sigrit Suástegui-Domínguez
- 652 **Intracytoplasmic morphologically selected sperm injection (IMSI) vs intracytoplasmic sperm injection (ICSI) in patients with repeated ICSI failure**
Claudia González-Ortega, Patricia Cancino-Villarreal, Alicia Pérez-Torres, Marcos Ambrosio Vargas-Maciel, Sandra Guadalupe Martínez-Garza, Efraín Pérez-Peña, Antonio Martín Gutiérrez-Gutiérrez
- 660 **Extreme maternal morbidity in the Hospital General Dr. Aurelio Valdivieso, Oaxaca Health Services**
Omar Calvo-Aguilar, Víctor Edilberto Morales-García, Jaime Fabián-Fabián
- 669 **Impact of male aging in the functional capacity of sperm through the expression of phosphatidyl serine and oligonucleomas**
Alinne Colin-Valenzuela, Nardhy Gómez-López, Rosaura Ávila-Lombardo, Gerardo Barroso-Villa
- 677 **Expression of cell adhesion molecules in the maternal fetal period of human gestation**
Rodrigo Vega-Sánchez, Elizabeth de Jesús-Torres, Marcia Arenas-Hernández, Jorge Beltrán-Montoya, Rolando Maida-Claros, Guadalupe Estrada-Gutiérrez, Felipe Vadillo-Ortega
- 685 **Effect of merocianina-540 in the fertilizing capacity of sperm correlated with the expression of 3-OH terminal fragments**
Gerardo Barroso-Villa, Alinne Colin-Valenzuela, Nardhy Gómez-López, Mauricio Velázquez-Magaña

CLINICAL CASES

- 692 **Oxytocin and syndrome of inappropriate secretion of antidiuretic neonatal hormone. Case report of early severe hyponatremia and literature review**
Carlos Aldana-Valenzuela, José Alfredo Prieto-Pantoja, Angélica Hernández-Acevedo
- 697 **Gastrointestinal stromal tumor in pregnancy and control. Case report**
Marcos Javier Cuerva-González, Sara Iacoponi, María de la Calle-Fernández, Juan Pozo-Krieling

55 YEARS AGO

- 703 **Routine Diagnosis of Female Infertility**
Carlos D Guerrero, Jorge Royalo-Jiménez, Luis Viramontes
- 707 **Subject index 2010**
- 712 **Author index 2010**



GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA DE MÉXICO

Volumen 78, número 12, décembre 2010

CONTENU

EDITORIAL

643 *Jorge Delgado-Urdapilleta*

ARTICLES ORIGINAUX

- 645 **Détection du virus du papillome humain types 16 et 18 dans des échantillons de sperme de patients dans un programme de reproduction assistée**
Ignacio Flores-Sánchez, José Gutiérrez-Salinas, Evangelina Enriquez-Alvarado, Sergio Hernández-Rodríguez, Claudia Ramos-Barragán, Alejandra Salamanca-Ceciliano, Leticia Cruz-Tovar, Sigrit Suástegui-Domínguez
- 652 **Injection intracytoplasmique de spermatozoïdes morphologiquement sélectionnés (IMSI) vs piqûre intracytoplasmique de spermatozoïdes (ICSI) en patients avec échec répété en ICSI**
Claudia González-Ortega, Patricia Cancino-Villarreal, Alicia Pérez-Torres, Marcos Ambrosio Vargas-Maciel, Sandra Guadalupe Martínez-Garza, Efraín Pérez-Peña, Antonio Martín Gutiérrez-Gutiérrez
- 660 **Morbidité maternelle extrême à l'Hôpital Général Dr. Aurelio Valdivieso, Services de Santé d'Oaxaca**
Omar Calvo-Aguilar, Víctor Edilberto Morales-García, Jaime Fabián-Fabián
- 669 **Impact du vieillissement masculin sur la capacité fonctionnelle du spermatozoïde à travers de l'expression de phosphatidylsérine et oligonucléosomes**
Alinne Colin-Valenzuela, Nardhy Gómez-López, Rosaura Ávila-Lombardo, Gerardo Barroso-Villa
- 677 **Expression de molécules d'adhésion cellulaire dans l'interphase materno-fœtale au terme de la gestation humaine**
Rodrigo Vega-Sánchez, Elizabeth de Jesús-Torres, Marcia Arenas-Hernández, Jorge Beltrán-Montoya, Rolando Maida-Claros, Guadalupe Estrada-Gutiérrez, Felipe Vadillo-Ortega
- 685 **Effet de la mérocyanine-540 sur la capacité fertilisante du spermatozoïde liée avec l'expression de fragments 3-OH terminaux**
Gerardo Barroso-Villa, Alinne Colin-Valenzuela, Nardhy Gómez-López, Mauricio Velázquez-Magaña

CAS CLINIQUES

- 692 **Ocytocine et syndrome de sécrétion inappropriée d'hormone antidiurétique néonatale. Rapport d'un cas d'hyponatrémie sévère précoce et révision de la bibliographie**
Carlos Aldana-Valenzuela, José Alfredo Prieto-Pantoja, Angélica Hernández-Acevedo
- 697 **Tumeur du stroma gastro-intestinal dans la grossesse et contrôle postérieur. Cas clinique**
Marcos Javier Cuerva-González, Sara Iacoponi, María de la Calle-Fernández, Juan Pozo-Krieling

IL Y A 55 ANS

- 703 **Routine diagnostique de la stérilité féminine**
Carlos D Guerrero, Jorge Royalo-Jiménez, Luis Viramontes
- 707 **Indice de matières 2010**
- 712 **Indice onomastique 2010**

CONTEÚDO

EDITORIAL

643 *Jorge Delgado-Urdapilleta*

ARTIGOS ORIGINAIS

- 645 **Detecção de vírus HPV tipos 16 e 18 em amostras de sêmen de pacientes de um programa de reprodução assistida**
Ignacio Flores-Sánchez, José Gutiérrez-Salinas, Evangelina Enriquez-Alvarado, Sergio Hernández-Rodríguez, Claudia Ramos-Barragán, Alejandra Salamanca-Ceciliano, Leticia Cruz-Tovar, Sigrit Suástegui-Domínguez
- 652 **Injeção intracitoplasmática de espermatozoides morfológicamente selecionados (IMSI) em pacientes com erro repetido a ICSI**
Claudia González-Ortega, Patricia Cancino-Villarreal, Alicia Pérez-Torres, Marcos Ambrosio Vargas-Maciel, Sandra Guadalupe Martínez-Garza, Efraín Pérez-Peña, Antonio Martín Gutiérrez-Gutiérrez
- 660 **Morbidade materna extrema no Hospital Geral Dr. Aurélio Valdivieso, Serviços de Saúde de Oaxaca**
Omar Calvo-Aguilar, Víctor Edilberto Morales-García, Jaime Fabián-Fabián
- 669 **Impacto do envelhecimento masculino na capacidade funcional do espermatozoide através da expressão de fosfatidil e oligonucleicos**
Alinne Colin-Valenzuela, Nardhy Gómez-López, Rosaura Ávila-Lombardo, Gerardo Barroso-Villa
- 677 **Expressão de moléculas de adesão celular na interfase materna fetal a término de gestação humana**
Rodrigo Vega-Sánchez, Elizabeth de Jesús-Torres, Marcia Arenas-Hernández, Jorge Beltrán-Montoya, Rolando Maida-Claros, Guadalupe Estrada-Gutiérrez, Felipe Vadillo-Ortega
- 685 **Efeito da merocianina-540 na capacidade fertilizante do espermatozoide correlacionada com a expressão de fragmentos 3-OH terminais**
Gerardo Barroso-Villa, Alinne Colin-Valenzuela, Nardhy Gómez-López, Mauricio Velázquez-Magaña

CASO CLINICOS

- 692 **Oxitocina e síndrome de secreção inapropriada de hormônio antidiurético neonatal. Comunicado de um caso de hiponatremia severa precoce e revisão de bibliografia**
Carlos Aldana-Valenzuela, José Alfredo Prieto-Pantoja, Angélica Hernández-Acevedo
- 697 **Tumor do estroma gastrointestinal na gravidez e controle posterior. Caso clínico**
Marcos Javier Cuerva-González, Sara Iacoponi, María de la Calle-Fernández, Juan Pozo-Krieling

FAZ 55 ANOS

- 703 **Rotina diagnostica a esterilidade feminina**
Carlos D Guerrero, Jorge Royalo-Jiménez, Luis Viramontes
- 707 **Índice de matérias 2010**
- 712 **Índice onomástico 2010**



GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA DE MÉXICO

Tarifas de suscripción anual 2010

Revista mensual

En la República Mexicana

Institucional (multilectores):	\$ 1,100.00
Personal:	\$ 1,050.00
Ejemplares publicados:	\$ 150.00

En el extranjero:

Institucional (multireaders):	US\$ 170.00
Personal:	US\$ 165.00

***La suscripción se puede iniciar en cualquier época del año**
Precios sujetos a cambio

Toda correspondencia debe dirigirse al editor/At'n. Sra. Bertha Schoelly de Larrondo.

Ginecología y Obstetricia de México. Calle de Nueva York núm. 38, colonia Nápoles, delegación Benito Juárez, CP 03810, México, DF. Teléfono: 5682-0156.

Registro de la Dirección General de Correos núm. 0540167 con número de características 228241116.

Realizada, comercializada y distribuida por **Edición y Farmacia SA de CV** (Nieto Editores®). Calle E, manzana 8, número 1, colonia Educación, delegación Coyoacán, CP 04400, México, DF. Teléfono: 5678-2811, fax: 5544-3225.

Impresa en: Computipo Scanner Editorial SA. Azafrán 313 y 315, colonia Granjas México, delegación Iztacalco, CP 08400, México, DF. Coordinación editorial: Dr. Enrique Nieto R.

Suscripciones e informes

Sra. Bertha Schoelly de Larrondo
Calle de Nueva York núm. 38,
colonia Nápoles, del. Benito Juárez,
CP 03810, México, DF.
Teléfonos: 5682-0156, 5682-4823,
de 17:00 a 20:00 horas.
Fax: 5682 5601
E-mail: ginecolobstetmex@femego.org.mx

Publicidad

Georgina González Tovar
Ejecutiva de ventas
Teléfono: 5678-2811
Celular: 044-55-1825-0224
E-mail: ggonzalez@nietoeditores.com.mx

Publicidad

Alejandra Nieto Sánchez
Ejecutiva de ventas
Teléfono: 5678-2811
Nextel: 1088-40-60
E-mail: anieto@nietoeditores.com.mx

Cantidad de ejemplares impresos: 5,500

Coordinación editorial: Elisa Gabriela García Tello

Diseño: Elidé Morales del Río



Editada por la Federación Mexicana de Colegios de Obstetricia y Ginecología
Fundada por la Asociación Mexicana de la Ginecología y Obstetricia en 1945

GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA DE MÉXICO

EDITOR

Dr. Carlos Fernández del Castillo S*

EDITOR ASOCIADO

Dr. Jorge Delgado Urdapilleta*

COEDITORES ASOCIADOS

Dr. Gilberto Ramírez Cueto*

Dr. Guillermo Santibáñez Moreno*

Dr. Armando Torres Ramírez*

Dr. Estanislao Díaz Barriga*

CONSEJO EDITORIAL

Dr. José Manuel Septién González
Dr. Víctor Espinosa de los Reyes
Dr. Juan Rodríguez Argüelles
Dr. Carlos Mac Gregor SN

Dr. Samuel Karchmer K
Dr. Efraín Vázquez Benítez
Dr. Roberto Ahued Ahued
Dr. José Antonio Sereno Coló

Dr. Javier Santos González
Dr. Jesús Leal del Rosal
Dr. René Bailón Uriza

COMITÉ DE REVISIÓN POR PARES

Distrito Federal

Dr. Alberto Alvarado Durán
Dra. Judith Ablanado Aguirre
Dr. Manuel Álvarez Navarro
Dr. Carlos Aranda Flores
Dr. Aquiles R Ayala Ruíz
Dr. Francisco Bernardez Zapata
Dr. Rubén Bolaños Ancona
Dr. Herman Brandt
Dr. Rafael G Buitrón García F
Dr. Francisco Cabral Castañeda
Dr. Cuauhtémoc Celis González
Dr. Paolo Di Castro Stringher
Dr. Guillermo Díaz Barreiro Palencia
Dr. Julio Fernández Alba
Dr. Ángel García Alonso
Dr. Ranferi Gaona Arreola
Dr. Salvador Gaviño Ambríz
Dr. Fco. Javier Gómezpedroso Rea
Dra. Patricia Grether González
Dr. Pablo Gutiérrez Escoto
Dr. Juan Carlos Hinojosa Cruz
Dr. Francisco Ibargüengoitia Ochoa
Dr. Valentín Ibarra Chavarría
Dr. Sebastián Iris de la Cruz
Dr. Alberto Kably Ambe
Dr. Jorge Kunhardt Rasch
Dr. Roger Lara Ricalde
Dra. María Teresa Leis Márquez
Dra. Josefina Lira Plascencia
Dr. Miguel Ángel Mancera Reséndiz
Dra. Dora Gilda Mayén Molina
Dr. José Antonio Moreno Sánchez

Dr. Eduardo S Neri Ruz
Dr. José Niz Ramos
Dr. Arturo Novoa Vargas
Dr. Javier Ortiz Ibarra
Dr. Carlos Quesnel García-Benítez
Dr. Segismundo Rodríguez Rodríguez
Dr. Carlos Salazar López Ortíz
Dr. Carlos Sánchez Basurto
Dr. Javier Santos González
Dr. Luis Sentíes Cortina
Dr. Claudio Serviere Zaragoza
Dr. Luis Simón Pereira
Dr. Gilberto Tena Alavez
Dr. Rubén Tlapanco Barba
Dr. Armando Torres Ramírez
Dr. Roberto Uribe Elías
Dr. Drusso Vera Gaspar
Dr. Manuel Villalobos Román
Dr. Antonio Zaldívar Neal

Durango, Dgo.

Dr. Juan Antonio Bujáidar Bujáidar
Dr. Reynaldo Milla Villeda

Guadalajara, Jal.

Dr. Sergio Fajardo Dueñas
Dr. Óscar Flores Carreras
Dr. Efraín Pérez Peña
Dr. Ángel Emilio Suárez Rincón
Dr. Emigdio Torres Farías
Dr. Luis Carlos Uribe Ramírez
Dra. Patricia Velázquez Castellanos
Dr. Armando Vera Torres

Hermosillo, Son.

Dr. Jorge González Durazo

León, Gto.

Dr. Antonio Gutiérrez Gutiérrez

Mazatlán, Sin.

Dr. José de Jesús Montoya Romero

Mérida, Yuc.

Dr. Fernando Gasque López
Dr. Luis Alberto Barrera González

Monterrey, NL.

Dr. Carlos Félix Arce
Dr. Samuel Hernández Ayup
Dr. Pedro Tonda Ribo

Querétaro, Qro.

Dr. Norberto Plascencia Moncayo

San Luis Potosí, SLP.

Dr. Antonio Jesús Briseño Sainz

Tijuana, BC.

Dr. David Antonio Nava Muñoz

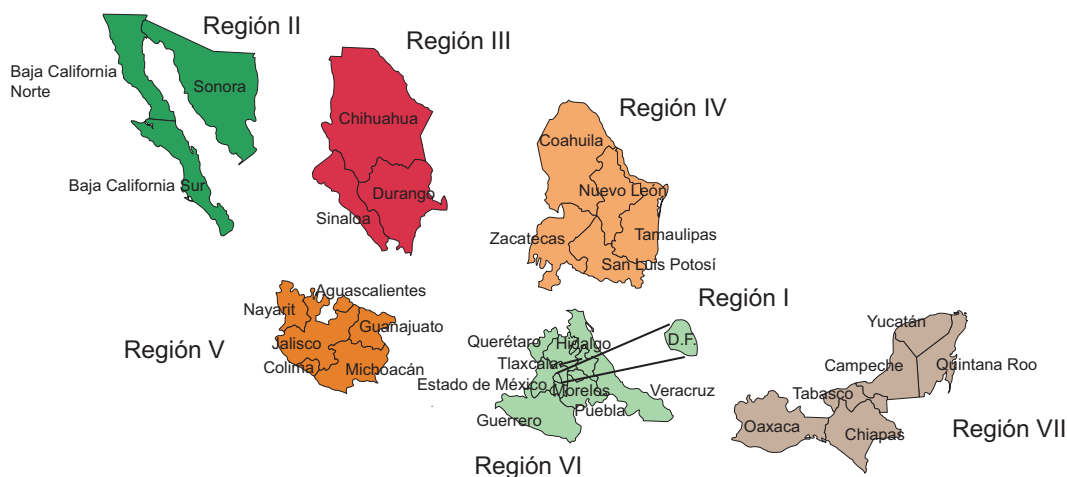
Tlaxcala, Tlx.

Dr. Armando Enrique Carrera Cervón

Xalapa, Ver.

Dr. Pedro Coronel Brizio

*SOCIOS DE LA ASOCIACIÓN MEXICANA DE EDITORES DE REVISTAS BIOMÉDICAS, A.C. (AMERBAC) Y MIEMBROS DE LA WORLD ASSOCIATION OF MEDICAL EDITORS (WAME).



Agrupaciones federadas

Región	Región
Colegio Mexicano de Especialistas en Ginecología y Obstetricia	I
Asociación de Ginecología y Obstetricia de Tijuana	II
Colegio de Ginecología y Obstetricia de Mexicali	II
Colegio de Ginecología y Obstetricia de Ensenada	II
Colegio de Ginecología y Obstetricia de Ciudad Obregón	II
Sociedad de Ginecología y Obstetricia del Mayo	II
Colegio de Ginecología y Obstetricia de San Luis R.C. Sonora	II
Colegio Sudcaliforniano de Ginecología y Obstetricia	II
Colegio de Ginecobstetras de Guaymas	II
Colegio de Ginecólogos y Obstetras de Hermosillo	II
Colegio de Ginecología y Obstetricia del Norte de Sonora	II
Colegio Sinaloense de Ginecología y Obstetricia	III
Colegio de Ginecología y Obstetricia de Chihuahua	III
Colegio de Ginecología y Obstetricia de Cd. Juárez	III
Colegio de Ginecología y Obstetricia de Durango	III
Colegio de Ginecología y Obstetricia de Mazatlán	III
Colegio de Ginecología y Obstetricia de Los Mochis	III
Colegio de Ginecología y Obstetricia de Parral, Chihuahua	III
Sociedad Cuauhtemense de Ginecología	III
Colegio de Gineco-Obstetras Guasave-Guamuchil	III
Asociación de Ginecología y Obstetricia de Delicias	III
Colegio de Ginecología y Obstetricia de Monterrey	IV
Sociedad de Ginecología y Obstetricia de La Laguna	IV
Sociedad Potosina de Ginecología y Obstetricia	IV
Sociedad de Ginecología y Obstetricia de Tampico y Ciudad Madero	IV
Sociedad de Ginecología y Obstetricia de Monclova	IV
Sociedad de Ginecología y Obstetricia de Nuevo Laredo	IV
Colegio de Ginecología y Obstetricia de Reynosa	IV
Colegio de Ginecología y Obstetricia de Saltillo	IV
Asociación Victorense de Ginecología y Obstetricia	IV
Asociación de Ginecología y Obstetricia de Piedras Negras	IV
Asociación de Ginecología y Obstetricia de Matamoros	IV
Sociedad de Ginecología y Obstetricia de Zacatecas	IV
Colegio de Ginecología y Obstetricia de Río Verde, S.L.P.	IV
Colegio de Ginecología y Obstetricia de Cd. Valles, S.L.P. y Zona Huasteca	IV
Asociación de Ginecología y Obstetricia de Matehuala	IV
Colegio de Médicos Gineco-Obstetras del Estado de Jalisco	V
Colegio de Ginecología y Obstetricia de León	V
Asociación Michoacana de Ginecología y Obstetricia	V
Colegio de Ginecología y Obstetricia de Aguascalientes	V
Colegio de Ginecología y Obstetricia de Celaya, Gto.	V
Colegio de Ginecología y Obstetricia de Irapuato	V
Colegio Colimense de Ginecología y Obstetricia	V
Colegio de Especialistas en Ginecología y Obstetricia de la costa de Jalisco	V
Colegio de Ginecología y Obstetricia de Nayarit	V
Colegio de Ginecología y Obstetricia de Zamora	V
Colegio de Ginecología y Obstetricia de Salamanca	V
Asociación de Médicos Gineco-Obstetras del Sur de Jalisco	V
Colegio de Gineco-Obstetras de Uruapan	V
Colegio de Ginecología y Obstetricia de los Altos de Jalisco	V
Colegio de Ginecología y Obstetricia de Acámbaro	V
Asociación de Ginecología y Obstetricia de la Piedad	V
Colegio de Ginecólogos y Obstetras del Estado de Puebla	VI
Colegio Veracruzano de Ginecología y Obstetricia	VI
Colegio Xalapeño de Ginecología y Obstetricia	VI
Asociación de Ginecología y Obstetricia de Córdoba y Orizaba	VI
Sociedad de Ginecología y Obstetricia del Edo. de Guerrero	VI
Colegio Mexiquense de Ginecología y Obstetricia	VI
Sociedad Hidalguense de Ginecología y Obstetricia	VI
Asociación de Ginecología y Obstetricia de Querétaro	VI
Sociedad de Ginecología y Obstetricia del Sureste de Veracruz	VI
Asociación de Ginecología y Obstetricia de Tuxpan, Ver.	VI
Colegio de Ginecología y Obstetricia de Morelos	VI
Colegio de Ginecología y Obstetricia del Estado de Tlaxcala	VI
Colegio de Ginecología y Obstetricia de Chilpancingo, Gro.	VI
Colegio Gineco-Obstétrico de Tehuacán	VI
Colegio de Ginecología y Obstetricia del Norte del Estado de Guerrero	VI
Asociación de Ginecología y Obstetricia de Poza Rica, Ver.	VI
Colegio de Ginecología y Obstetricia de Yucatán	VII
Colegio de Ginecología y Obstetricia del Estado de Tabasco	VII
Colegio Oaxaqueño de Ginecología y Obstetricia	VII
Asociación de Ginecología y Obstetricia de Tuxtla Gutiérrez	VII
Colegio de Ginecología y Obstetricia de Quintana Roo	VII
Asociación de Ginecología y Obstetricia de La Costa de Chiapas	VII
Colegio de Ginecología y Obstetricia de Campeche	VII
Sociedad de Ginecología y Obstetricia de Coatzacoalcos	VII
Colegio de Ginecología y Obstetricia de la Cuenca del Papaloapan	VII
Colegio de Ginecología y Obstetricia de Cd. del Carmen, Campeche	VII



GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA DE MÉXICO

Federación Mexicana de Colegios de Obstetricia y Ginecología, A.C.

Fundada en 1960

Comité Ejecutivo 2009-2011

Dr. Alberto Kably Ambe

Presidente

Dr. José de Jesús Montoya Romero

Vicepresidente

Dr. Claudio Serviere Zaragoza

Primer Secretario Propietario

Dr. Emilio Valerio Castro

Segundo Secretario Propietario

Dra. Nayeli Fragoso Díaz

Primera Secretaria Suplente

Dr. César Augusto Trejo Esponda

Segundo Secretario Suplente

Dr. Pablo Gabriel Gutiérrez Escoto

Tesorero

Dr. José Efraín Vázquez Martínez de Velasco

Subtesorero

Directores Regionales Periodo 2010-2012

Dr. Sebastián Iris de la Cruz

Región I

Dr. Henry Aristóteles Mateo Sáñez

Región II

Dr. César E. Favela Heredia

Región III

Dr. Rodolfo Treviño Alanís

Región IV

Dr. Humberto Cano López

Región V

Dr. Chafi Alfredo Yarmuch Espinoza

Región VI

Dr. Jorge C. Méndez Trujeque

Región VII

Afiliada a:



FLASOG
Federación Latino
Americana de Sociedades
de Obstetricia y Ginecología
Fundada en 1952



FIGO
International Federation of
Gynecology and Obstetrics
Fundada en 1954

Indizada en:

ARTEMISA, EMBASE CD/OBSTETRICS AND GYNECOLOGY, EMBASE CD/PEDIATRICS, EXCERPTA MÉDICA, INDEX MEDICUS,
ÍNDICE MÉDICO LATINOAMERICANO, LILACS, MEDLINE, SCIENCE CITATION INDEX, ULRICH, EBSCO.



La detección del virus del papiloma humano tipos 16 y 18 en muestras de semen de pacientes en programas de reproducción asistida es un hallazgo que debe investigarse para encontrar todas sus repercusiones en relación con la reproducción. En esta edición se incluye un artículo que toca este tema y que fue premiado con el primer lugar al trabajo científico Dr. Luis Castelazo Ayala presentado en el LXI Congreso Mexicano de Ginecología y Obstetricia. En ese trabajo los autores observaron que “los pacientes positivos para virus del papiloma humano tuvieron mayor concentración de leucocitos, sobre todo en el grupo de pacientes con oligozoospermia, independientemente del virus que los infecta y de que la coexistencia de uno de ellos en el semen se asocia con mayor cantidad de espermatozoides anormales, quizá por el VPH adherido”.

El segundo lugar al trabajo científico Dr. Luis Castelazo Ayala se otorgó a la investigación acerca de la inyección intracitoplasmática de espermatozoides morfológicamente seleccionados, en comparación con la inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI) en pacientes con falla repetida a ésta. La inyección intracitoplasmática de espermatozoides es muy efectiva para el control de la infertilidad por factor masculino. Los estudios más recientes demuestran que con la inyección intracitoplasmática de espermatozoides morfológicamente seleccionados, a mayor magnificación, se incrementan las tasas de embarazo e implantación.

El tercer lugar al trabajo científico Dr. Luis Castelazo Ayala lo ganaron los autores de la investigación que versó sobre la morbilidad materna extrema en el Hospital General Dr. Aurelio Valdivieso de los Servicios de Salud de Oaxaca. “La identificación de casos con morbilidad obstétrica extrema o morbilidad materna extrema es un complemento prometedor a la investigación de muertes maternas y se usa para evaluar y mejorar los servicios de salud materna porque son más que los casos de mortalidad, lo que permite mejores conclusiones acerca de los factores de riesgo y de la calidad de la atención.”

El primer lugar al trabajo científico Dr. Alfonso Álvarez Bravo presentado en el LXI Congreso Mexicano de Ginecología y Obstetricia se otorgó a la investigación acerca del impacto del envejecimiento masculino en la capacidad funcional del espermatozoide a través de la expresión de fosfatidil serina y oligonucleomas. Los procesos biomoleculares asociados con el envejecimiento y la muerte celular programada durante la espermatogénesis son bien conocidos, pero no su trascendencia biológica en el espermatozoide eyaculado, porque se ignora el comportamiento de estos marcadores apoptóticos en relación con la edad del hombre.

El segundo lugar al trabajo científico Dr. Alfonso Álvarez Bravo se otorgó al estudio sobre la expresión de las moléculas de adhesión celular en el trabajo de parto. Los resultados indicaron que en la interfase materno-fetal, al término de la gestación, y particularmente durante el trabajo de parto, se expresa una combinación específica de CAMs, incluidas ICAM-1, ICAM-3 y Mac-1. La expresión de estas moléculas no está asociada con el avance en la edad gestacional, sino exclusivamente con el trabajo de parto.

El tercer lugar al trabajo científico Dr. Alfonso Álvarez Bravo correspondió al ensayo acerca del efecto de la macrocianina-540 en la capacidad fertilizante del espermatozoide correlacionada con la expresión de fragmentos 3-OH terminales. El empaquetamiento de la heterocromatina durante la espermatogénesis se ha correlacionado con la expresión de cuerpos apoptóticos residuales (que tiñen con merocianina A) que impactarán en la función espermática, en el proceso de fertilización así como en la expresión conjunta de la traslocación transmembranal de fosfatidil serina y oligonucleosomas.

Hace 55 años, los doctores Carlos D Guerrero, Jorge Royalo Jiménez y Luis Viramontes publicaron en GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA DE MÉXICO un artículo sobre la rutina diagnóstica de la esterilidad femenina.

Dr. Jorge Delgado Urdapilleta
Coeditor

LOS CINCO ARTÍCULOS MÁS CONSULTADOS DE NOVIEMBRE SON:

- 1. Frecuencia de factores de riesgo de cáncer de mama**
María del Socorro Romero-Figueroa, Leopoldo Santillán-Arreygue, Paulo César Olvera-Hernández, Miguel Ángel Morales-Sánchez, Varinia Louisette Ramírez-Mendiola.
Ginecol Obstet Mex 2008;76(11):667-672.
- 2. Diagnóstico y tratamiento de la preeclampsia-eclampsia**
María Teresa Leis-Márquez, Mario Roberto Rodríguez-Bosch, Maynor Alfonso García-López.
Ginecol Obstet Mex 2010;78(6):S461-S525.
- 3. Factores de riesgo asociados con preeclampsia: estudio de casos y controles**
Fred Morgan-Ortiz, Sergio Alberto Calderón-Lara, Jesús Israel Martínez-Félix, Aurelio González-Beltrán, Everardo Quevedo-Castro.
Ginecol Obstet Mex 2010;78(3):153-159.
- 4. Preeclampsia: principal factor de riesgo materno para bajo peso del recién nacido pretérmino**
Angélica María Martínez-Contreras, Carmen Gorety Soria-Rodríguez, Roberto Prince-Vélez, Isadora Clark-Ordóñez, María Concepción Rosa Medina-Ramírez.
Ginecol Obstet Mex 2008;76(7):398-403.
- 5. Clasificación y nomenclatura de las alteraciones menstruales**
Francisco Berumen-Enciso, Lázaro Pavía-Crespo, José Castillo-Acuña.
Ginecol Obstet Mex 2007;75(10):641-651.

NIVEL DE EVIDENCIA

GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA DE MÉXICO utiliza los siguientes niveles de evidencia para clasificar los artículos, con base en la fuerza y complejidad de la metodología aplicada por los investigadores.

I. Estudios clínicos controlados y aleatorizados, con homogeneidad e intervalo de confianza estrecho o metanálisis

Protocolos de investigación con definición de mecanismos de control que operen antes y durante el desarrollo de la fase experimental con el objeto de salvaguardar la seguridad del sujeto de experimentación. La aleatorización reduce los sesgos que aparecen en los estudios de observación e implica asignar los sujetos de estudio a grupos similares y que los tratamientos que reciban puedan compararse objetivamente. El intervalo de confianza debe reducir al mínimo la imprecisión de las estimaciones puntuales.

II-1. Estudios clínicos controlados pero sin aleatorización

Ensayos que se inician con la formulación de una hipótesis que define claramente la variable independiente (intervención) y la manipulación que el investigador hará de dicha variable. Se requiere definir las potenciales variables dependientes y los procedimientos de control y vigilancia de estas variables, incluidos los posibles efectos adversos. Definen el tiempo de duración del experimento, las potenciales fuentes de sesgo y las precisiones de carácter ético pertinentes. Puesto que carece de aleatorización la posibilidad de sesgo aumenta.

II-2. Estudios de cohorte o caso-control, preferentemente multicéntricos, o consensos

Implican seguir grupos de sujetos en el tiempo, con dos propósitos primarios: descriptivo, típicamente para describir la incidencia de ciertos sucesos en el tiempo; y analítico, para analizar asociaciones entre exposición y resultados. Estos estudios comparan un resultado en particular (como el cáncer cérvico-uterino) en grupos de pacientes con similitudes en muchos aspectos, pero que se diferencian por una cierta característica (por ejemplo, mujeres que fuman comparadas con las que no fuman); el seguimiento es a largo plazo con vigilancia cuidadosa de la influencia de factores de riesgo. Los estudios de caso-control comienzan con la identificación de pacientes con la enfermedad (u otro resultado) de interés, y un grupo apropiado de individuos sin la enfermedad (controles), los compara a ambos: los que tienen la enfermedad en estudio (casos) y un grupo muy similar de personas sin la enfermedad (controles).

II-3. Estudio de observaciones múltiples con o sin intervención; estudios sin control y grandes series de casos

Son el relato o comunicación de lo que se ha observado sin la aplicación de alguna metodología reconocida y sin algún tipo de control, como las observaciones de eficacia de algún fármaco, sin la correspondencia de comparación. Son la comunicación de un caso que, simplemente, se agrega a la lista de los ya reportados.

III. Opiniones basadas en experiencias clínicas, estudios descriptivos, observaciones clínicas o informes de comités de expertos

Son opiniones de expertos, sin valoración crítica explicable o, simplemente, basados en la fisiología. Los autores sólo reportan lo observado y lo interpretan a través de la óptica de su experiencia personal.



Detección del virus del papiloma humano tipos 16 y 18 en muestras de semen de pacientes de un programa de reproducción asistida*

Ignacio Flores-Sánchez,* José Gutiérrez-Salinas,** Evangelina Enriquez-Alvarado,*** Sergio Hernández Rodríguez,** Claudia Ramos-Barragán,**** Alejandra Salamanca-Ceciliano,**** Leticia Cruz Tovar,** Sigrít Suástegui-Domínguez**

Nivel de evidencia: II-1

RESUMEN

Antecedentes: la infección por el virus del papiloma humano es un problema mundial de salud asociado con el cáncer cervicouterino, sobre todo con la infección de cepas de alto riesgo (tipos 16 y 18). La infección genital por este tipo de virus suele pasar inadvertida por el hombre, que puede infectar a su pareja sexual.

Objetivo: detectar VPH-16 y VPH-18 en el semen de pacientes de un protocolo de reproducción asistida.

Material y método: estudio retrospectivo efectuado con base en el reporte de muestras de semen de 149 pacientes de un protocolo de reproducción asistida de nuestra institución. Las muestras se analizaron siguiendo los criterios de la Organización Mundial de la Salud para detectar VPH-16 y VPH-18 con PCR en tiempo real y equipos comerciales. También se analizaron con técnicas histológicas convencionales, para evaluar la forma de los espermatozoides y la cantidad de leucocitos.

Resultados: se analizaron 149 muestras de semen de pacientes con edad promedio de 37.27 años (límites 22 y 56 años). El 56.18% tuvo oligozoospermia y 59.73% resultaron positivos para VPH-16 (29.56%), VPH-18 (16.11%) o ambos (14.09%). La infección con VPH-16 fue más frecuente en los pacientes con oligozoospermia y normozoospermicos. Estos últimos tuvieron menor cantidad de espermatozoides anormales y de leucocitos en comparación con los oligozoospermicos.

Conclusiones: existe un porcentaje importante de hombres asintomáticos con positividad seminal para papilomavirus de alto riesgo para su pareja sexual por lo que representan un problema de salud pública que debe atenderse.

Palabras clave: análisis de semen, normozoospermia, oligozoospermia, PCR, virus del papiloma humano.

ABSTRACT

Background: The infection with human papillomavirus (HPV) represents a serious health problem in the world. This is because are associated with cervical cancer development in when HPV of high-risk type 16 and 18 are involved. A genital infection by these virus types are normally asymptomatic in the male and an infection to sexual partner is possible.

Objective: The objective of the present is the detection of HPV-16 and HPV-18 in semen samples from patients included in an assisted reproduction protocol.

Material and method: Semen samples were obtained from 149 patients that are included in an assisted reproduction protocol in our institution. Semen was examined according with WHO criteria and detection of HPV-16 and HPV-18 was realized with real time PCR protocol with commercial kits. Also, conventional histology techniques were used to assess spermatozoo morphology and leukocyte count.

Results: 149 semen samples were analyzed from patients with an age average 37.27 (22-56 age). The 56.18% present oligozoospermic and take into account all patients, 59.73% was positive for HPV-16 (29.56%), HPV-18 (16.11%) or both (14.09%). The infection with HPV-16 was more frequent in both oligozoospermic and normozoospermic patients. In this latter, a minus abnormal spermatid cells and leukocytes were found in regard to oligozoospermic patients.

Conclusions: There is an important percentage off human asymptomatic male subjects that present in your semen a positive result for high risk papillomavirus. This is very important for the sexual partner because this represent a problem for public health that most be in attention.

Key words: semen analysis, normozoospermic, oligozoospermic, PCR, human papillomavirus.

RÉSUMÉ

Antécédents: l'infection par le virus du papillome humain est un problème mondial de santé associé avec le cancer du col utérin, surtout avec l'infection de cépes haut risque (types 16 et 18). L'infection génitale par ce type de virus d'habitude passe inaperçue par l'homme, qui peut infecter son couple sexuel.

Objectif: détecter VPH-16 et VPH-18 dans le sperme de patients d'un protocole de reproduction assistée.

Matériel et méthode: étude rétrospective basée sur le rapport d'échantillons de sperme auprès de 149 patients d'un protocole de reproduction assistée de notre institution. Les échantillons ont été analysés en suivant les critères de l'Organisation Mondiale de la Santé pour détecter VPH-16 et VPH-18 avec PCR en temps réel et équipes commerciaux. On les a analysés aussi avec des techniques histologiques conventionnelles, afin d'évaluer la forme des spermatozoïdes et la quantité de leucocytes.

Résultats: On a analysé 149 échantillons de sperme de patients avec une moyenne d'âge de 37.27 ans (limites 22 et 56 ans). Le 56% a eu oligozoospermie et 59.73% a résulté positif pour VPH-16 (29.56%), VPH-18 (16.11%) ou les deux (14.09%). L'infection avec VPH-16 a été plus fréquente chez les patients avec oligozoospermie et normozoospermiques. Ces derniers ont eu une moindre quantité de spermatozoïdes anormaux et de leucocytes en comparaison avec les oligozoospermiques.

Conclusions: il existe un pourcentage important d'hommes asymptomatiques avec positivité séminale pour papillomavirus de haut risque pour son couple sexuel, pour cela ils représentent un problème de santé publique qui doit être traité.

Mots-clés: analyse du sperme, normozoospermie, oligozoospermie, PCR, virus du papillome humain.

RESUMO

Antecedentes: A infecção pelo vírus HPV é um problema mundial de saúde associado com o câncer cérvico-uterino, sobre tudo com a infecção de cepas alto risco (tipos 16 e 18). A infecção genital por este tipo de vírus pode passar inadvertida pelo homem, que pode infectar a sua companheira sexual.

Objetivo: Detectar HPV-16 e HPV-18 no sêmen de um protocolo de reprodução assistida.

Material e método: Estudo retrospectivo efetuado com base no comunicado de amostras de sêmen a 149 pacientes de um protocolo de reprodução assistida de nossa instituição. As amostras foram analisadas seguindo os critérios da Organização Mundial de Saúde para detectar HPV-16 e HPV-18 com PCR em tempo real e equipes comerciais. Também foram analisadas com técnicas histológicas convencionais, para avaliar a forma dos espermatozoides e a quantidade de leucócitos.

Resultados: Foram analisadas 149 amostras de sêmen de pacientes com idade média de 37,27 anos (limites 22 e 56 anos). Em 56,18% tiveram oligozoospermia e 59,73% resultaram positivos para HPV-16 (29,56%), HPV-18 (16,11%) ou ambos (14,09%). A infecção HPV-16 foi mais frequente nos espermatozoides anormais e de leucócitos em comparação com os oligozoospermicos.

Conclusões: Existe uma porcentagem importante de homens assintomáticos com positividade seminal para o vírus do papiloma de alto risco para a companheira sexual o qual representam um problema de saúde pública que se deve atender.

Palavras-chave: análise de sêmen, normozoospermia, oligozoospermia, PCR, vírus do papiloma humano.

- * Médico adscrito, Biología de la Reproducción Humana.
 - ** Laboratorio de Bioquímica y Medicina Experimental, División de Investigación Biomédica.
 - *** Laboratorio de Pruebas Especiales, Sección Hormonas.
 - **** Laboratorio de Vigilancia Epidemiológica, Departamento de Vigilancia Epidemiológica.
- Centro Médico Nacional 20 de Noviembre, ISSSTE, México, DF.

Correspondencia: Dr. Ignacio Flores Sánchez. Av. San Lorenzo 501, primer piso, colonia Del Valle, México 03100, DF. Correo electrónico: drignacioflores@yahoo.com.mx

Recibido: agosto, 2010. Aprobado: octubre, 2010.

* Artículo premiado con el primer lugar al trabajo científico Dr. Luis Castelazo Ayala presentado en el LXI Congreso Mexicano de Ginecología y Obstetricia 2010, que se celebró en la ciudad de Chihuahua los pasados 26 al 30 de octubre.

Este artículo debe citarse como: Flores-Sánchez I, Gutiérrez-Salinas J, Enriquez-Alvarado E, Hernández-Rodríguez S y col. Detección del virus del papiloma humano tipos 16 y 18 en muestras de semen de pacientes de un programa de reproducción asistida. Ginecol Obstet Mex 2010;78(12):645-651.

www.nietoeditores.com.mx

El virus del papiloma humano (VPH) es una de las infecciones de transmisión sexual más frecuentes en el mundo. Se estima que al menos 50% de los adultos sexualmente activos han padecido VPH genital.¹ La frecuencia es diversa, quizá debido a verdaderas diferencias poblacionales o a los enfoques y estrategias utilizados para detectar el VPH. Así, en un estudio multicéntrico mundial, mediante ADN viral, se encontró que 87 a 94.7% fueron positivos a cualquier tipo de VPH y para el tipo 16 se detectaron 34.7 a 59.6% y del tipo 18 de 4.1 a 15.1%.²

Las manifestaciones clínicas varían según el sitio, huésped y tipo de virus, aunque casi todas son asintomáticas, situación que dificulta su detección por estudios clínicos rutinarios; por eso se identifican con técnicas moleculares.

A partir del decenio de 1980, la interacción de estudios epidemiológicos y moleculares demostró que la infección cervical persistente con VPH oncogénicos causaba la

neoplasia intraepitelial cervical y el cáncer cervicouterino. Así, Walboomers y colaboradores³ reportaron que el cáncer cervicouterino invasor se asocia con VPH en 99.7%. Las variantes 16, 18, 31,33, 35, 39, 45,51, 52, 56, 58, 59 y 68 se consideran de alto riesgo porque se asocian con cáncer cervicouterino en más de 95% de los casos.^{4,5,6}

En la actualidad, el conocimiento de la interacción de los factores del huésped y del virus en la patogénesis del cáncer cervicouterino permite entender la persistencia de la infección, su carcinogénesis y la progresión tumoral. Así, se ha descrito que las mujeres con infección por VPH tienen una probabilidad 11 veces mayor de llegar a padecer una neoplasia intraepitelial cervical que quienes no la tienen.⁷

La edad a la primera relación sexual y el número de parejas sexuales (seis o más parejas) son factores indicadores de riesgo de infección por el VPH. Así, el inicio de relaciones sexuales (también conocido como inicio de la vida sexual) a los 17 años tiene un riesgo cinco veces mayor que en varones con inicio de la vida sexual a los 23 años y en mujeres con más de tres compañeros sexuales tiene tres veces más riesgo de adquirir el VPH.^{8,9}

Debido a la estrecha relación del VPH con el cáncer cervicouterino, la información sobre detección del virus y su patogénesis se ha dirigido, fundamentalmente, a las mujeres, aunque el hombre desempeña un papel muy importante como transmisor de virus oncogénicos y no está exento de alguna lesión premaligna o maligna de pene o en la región anogenital.

Su frecuencia también es variable y su repercusión en la salud general y salud reproductiva aún no es cuantificable. En un reporte de muestras de uretra y prepucio obtenidas de estudiantes y trabajadores mexicanos sexualmente activos se encontró 42.7% de positividad para el VPH¹⁰ mientras que en otro estudio, el VPH tipo 16 se identificó en 17% de biopsias de tumores de vejiga en varones y el tipo 18 en 14% del total de mujeres y varones y ambos tipos se han encontrado en 71% de las biopsias de pacientes con carcinoma de células escamosas en el pene.^{11,12} Asimismo, en varones con alta prevalencia de uretritis, verrugas genitales, herpes genital e infecciones por *Chlamydia* se han aislado varios tipos de virus en muestras de piel del pene, como los tipos oncogénicos 16, 52, 59 y no oncogénicos 6, 53, 84, entre otros.¹³

Puesto que los tipos VPH 16 y 18 revisten gran importancia en la salud, el propósito de este trabajo es observar

la prevalencia de estos virus en muestras de semen de varones que están en un protocolo de la pareja infértil que acuden al servicio de Biología de la Reproducción Humana del Centro Médico Nacional 20 de Noviembre del ISSSTE y valorar su posible repercusión en la cuenta espermática, evaluada mediante una espermatobioscopia directa, de acuerdo con parámetros de la Organización Mundial de la Salud.

MATERIAL Y MÉTODO

Se incluyeron 149 pacientes masculinos provenientes de la consulta de Biología de la Reproducción de nuestra institución que están en un protocolo de estudio con fines de reproducción asistida. El protocolo incluye la toma de muestra de semen para estudio de espermatobioscopia directa de acuerdo con los parámetros de la OMS que registran: volumen total, cantidad de espermatozoides, pH y movilidad.¹⁴ A todos los pacientes se les realizó su historia clínica completa y estudios generales de laboratorio. En todos los casos estudiados, la exploración física no reveló ningún signo de lesión genital compatible con lesiones causadas por el virus del papiloma humano.

Después del estudio de espermatobioscopia directa, el semen restante se usó para la determinación de ADN viral correspondiente al VPH-16 y VPH-18 y para la detección de leucocitos y morfología de los espermatozoides. Todos los procedimientos se apegaron a las normas institucionales para atención y tratamiento de los pacientes y las muestras biológicas de acuerdo con la normatividad vigente.

Análisis de PCR para detectar VPH-16 y VPH-18

La detección de ADN viral de las muestras de semen con VPH-16 y VPH-18 se hizo con PCR en tiempo real (PCR-rt, por sus siglas en inglés), previa extracción del ADN de las muestras y utilizando equipos comerciales y, posteriormente, haciendo la tipificación correspondiente.

La extracción y purificación del ADN total de las muestras de semen se realizó con un equipo comercial (DNA-isolation kit, Roche-Applied-Science, USA) y siguiendo las instrucciones proporcionadas por el fabricante. En síntesis, se realizó lo siguiente: se agregó una muestra de semen total (100 µL) a un volumen (500 mL) de solución amortiguadora de lisis y luego proteinasa K y se incubaron a 56°C durante tres horas. El ADN se extrajo

con el método de columnas y soluciones caotrópicas. El ADN resultante se diluyó con agua desionizada y se cuantificó por espectroscopia y se revisó su integridad mediante una corrida en gel de agarosa (1%) teñido con bromuro de etidio.¹⁵ Luego de extraer y purificar el ADN total, se realizó una amplificación genómica con iniciadores-consenso mediante PCR en tiempo real (PCR-rt) con sondas específicas de hibridización incluidas en equipos comerciales (HPV-16 y HPV-18 Primer-Design kit, Ltd, USA) siguiendo las instrucciones incluidas en el equipo y haciendo la ampliación-detección en un termociclador tipo Light Cycler 1.5 (Roche Instruments, EUA) tal como se describió previamente y que tiene un rango dinámico de detección mayor de 98% y detecta menos de 100 copias por muestra.¹⁶

Se realizó una primera amplificación de sitios consenso de la región L1 para VPH con 5 µg de ADN total por cada muestra. Se agregan 45 µL de mezcla de reacción de PCR-rt (PrimerDesign 2x Precisión MasterMix) y la mezcla se colocó en el Light Cycler con programa integrado de ciclos de amplificación, según las instrucciones para cada equipo. Los resultados se reportan como positivos o negativos dependiendo de las respectivas curvas de amplificación y tomando en cuenta los estándares internos que se incluyen en cada equipo, que asegura la correcta tipificación de los virus.^{17,18}

Análisis de la estructura de los espermatozoides, detección y conteo de leucocitos

Para analizar la estructura de los espermatozoides y el conteo de los leucocitos en cada muestra, se prepararon frotis de semen total de la siguiente manera: en un portaobjetos se colocó una alícuota de semen (25 µL) y se realizó el frotis, tal como se procede para un frotis de sangre. La muestra se esparció a lo largo del portaobjetos y se dejó secar a temperatura ambiente durante 30 minutos. Después se realizaron las técnicas histológicas de azul de toluidina para analizar la estructura de los espermatozoides.¹⁹ Las laminillas se fijan en 96% de etanol-acetona (1:1) durante 30 minutos. Inmediatamente se sumergen en 0.1 N de HCl durante cinco minutos y se lavan dos veces con agua bidestilada por espacio de cinco minutos cada vez. Las muestras se sumergen en una solución de azul de toluidina (0.05% en solución amortiguadora de citratos tipo McIlvain, pH 3.5) durante diez minutos y se lavan una vez por inmersión en agua bidestilada dejándose

secar a temperatura ambiente para finalmente colocar un cubreobjetos permanente.

Las muestras se evalúan con un microscopio óptico (Hund-Wetzlar V300, Germany) con un objetivo 40x. Para analizar la estructura de los espermatozoides se tomaron en cuenta las alteraciones en cola, forma general o de cabeza con auxilio de un contador manual de nueve canales y el resultado se reportó en cantidad de células anormales o normales por campo.¹⁹⁻²²

Para detectar y cuantificar a los leucocitos en los frotis de semen se usó el protocolo histológico reportado por Sánchez y sus colaboradores²² que detecta a los leucocitos por su reacción a la peroxidasa. Los leucocitos se cuantificaron en al menos tres campos por muestra con objetivo 40x. Los resultados se reportan como cantidad total de leucocitos por campo por muestra.^{21,22}

Análisis estadístico

Los resultados se presentan en cuadros o gráficas con números absolutos o porcentajes, según corresponda. Los datos se analizaron con el programa estadístico GraphPad Prism V- 4 (GraphPad Software, San Diego Cal, USA), con una hoja de cálculo del programa Excel (Microsoft Corporation, USA). Los resultados cualitativos se analizaron con tablas de contingencia para χ^2 o Fisher, según correspondió. Los datos cuantitativos se analizaron con la t de Student para datos no pareados de dos colas con posttest de rangos de Wilcoxon o corrección de Welch, según correspondió. Para todos los casos se consideró una $p < 0.05$ como estadísticamente significativa.

RESULTADOS

En el Cuadro 1 se enlistan las características físicas generales de la población en estudio ($n = 149$). El promedio de edad de los sujetos incluidos en el estudio fue de 37.27 ± 7.27 años con límites de 22 y 56 años. En general, los sujetos tenían sobrepeso porque su IMC promedio fue de 28.24 ± 3.55 kg/m².

En relación con el comportamiento sexual, el promedio de edad de inicio de la vida sexual fue a los 17.73 ± 2.17 años con límites de 12 y 26 años; además, se obtuvo un promedio de 5.92 ± 3.7 parejas sexuales con límites de 2 y 30 compañeras sexuales.

En relación con la condición clínica por la que la mujer estaba atendándose, el mayor porcentaje fue diagnóstico

Cuadro 1. Características generales de todos los sujetos incluidos en el estudio (n = 149)

Variable	Promedio $\pm$ DE (rango)*
Edad (años)	37.27 $\pm$ 7.27 (22-56)
Estatura (m)	1.68 $\pm$ 0.49 (1.49-1.84)
Peso (kg)	80.52 $\pm$ 12.13 (47-119)
Índice de masa corporal (kg/m ²)	28.24 $\pm$ 3.55 (19.88-40.22)
Años de infertilidad	6.45 $\pm$ 3.7 (1-18)
Inicio de vida sexual	17.73 $\pm$ 2.17 (12-26)
Parejas sexuales	5.92 $\pm$ 3.7 (2-30)
Condición de la pareja	(%)
Infertilidad primaria	66.66
Infertilidad secundaria	29.03
Pérdida gestacional recurrente	4.31

* Cuando corresponde.

de infertilidad primaria con 66.66% de casos, seguido de infertilidad secundaria (29.03%) y pérdida gestacional recurrente con 4.31% de los casos.

Los resultados generales de la espermatobioscopia directa se muestran en el Cuadro 2 en donde se observa que el pH, la movilidad y la viabilidad estaban dentro de los parámetros establecidos por la OMS. Sin embargo, tomando en cuenta la cantidad de espermatozoides se encontró que una parte de la población tenía normozoospermia (48.16 $\pm$ 11.13 x10⁶ células/mL) y otra oligozoospermia (12.72 $\pm$ 5.31 x10⁶ células/mL) (Cuadro 2).

El análisis de PCR para detectar VPH-16 y VPH-18 en las muestras de semen de los sujetos de estudio mostró que 40.26% (n= 60) tuvo resultado negativo para cualquiera de esos virus. El 59.73% (n= 89) de los pacientes tuvo un resultado positivo para VPH de los que 44 (49.44%) fueron positivos exclusivamente para VPH-

Cuadro 2. Características generales de los estudios de espermatobioscopia directa en todos los sujetos incluidos en el estudio (n = 149)

Variable	Promedio $\pm$ DE (rango)*
pH	7.89 $\pm$ 0.27 (7-8.5)
Espermatozoides (1x10 ⁶ /mL)	
Normozoospermicos	48.16 $\pm$ 11.13 (23-262)
Oligozoospermicos	12.72 $\pm$ 5.31 (1-18)
Movilidad (%)	53 (1-70)
Viabilidad (%)	69 (1-90)

* Cuando corresponde.

16; 24 sujetos (26.96%) fueron positivos para VPH-18 y 21 sujetos (23.59%) fueron positivos para VPH-16 y VPH-18 (Cuadro 3).

Además, tomando en cuenta el total de los sujetos incluidos en el estudio (n= 149), se observa que el VPH-16 sigue siendo el más detectado porque representa 29.56% de la población, hecho que contrasta con el menor porcentaje para VPH-18 (16.11%) o cuando ambos tipos de virus se encuentran en el mismo sujeto (14.09%) (Cuadro 3).

Cuadro 3. Resultado del análisis de PCR para detectar la presencia exclusiva del VPH-16, VPH-18 o ambos en los sujetos de estudio

Variable	n	%*	%**
Generales			
Negativos	60	40.26	-
Positivos	89	59.73	-
Total	149	100	-
Por tipo de virus			
VPH-16	44	29.56 ^a	49.44 ^a
VPH-18	24	16.11	26.96
VPH-16 + VPH-18	21	14.09	23.59
Total	89	59.73	100

* Porcentaje con respecto al total de sujetos (n = 149).

** Porcentaje con respecto al total de sujetos positivos al VPH (n = 89).

^a p < 0.05 vs grupo VPH-18 y grupo VPH-16 + VPH-18.

Tomando en cuenta la concentración de espermatozoides de los sujetos positivos para VPH, éstos se clasificaron en normozoospermicos (concentración de espermatozoides > 20 x 10⁶/mL) y oligozoospermicos (concentración de espermatozoides < 20 x 10⁶/mL). Así, 56.18% (n= 50) de los pacientes positivos para VPH fueron oligozoospermicos, mientras que 43.8% (n= 39) fueron normozoospermicos (Cuadro 4).

De acuerdo con el tipo de virus, los sujetos oligozoospermicos y normozoospermicos tuvieron mayor porcentaje de positividad para VPH-16 que para VPH-18 o cuando coexisten ambos tipos de virus (Cuadro 4). En los pacientes normozoospermicos se encontró el mayor porcentaje de positivos a VPH-16 (28.08%), en comparación con todos los grupos descritos en el Cuadro 4.

El examen de las muestras de semen a través de la preparación de las laminillas y observadas con un objetivo 40x en cada uno de los pacientes, permitió evaluar la morfología de los espermatozoides y detectar leucocitos.

Cuadro 4. Distribución de los pacientes VPH positivos (n = 89) de acuerdo con la cantidad de espermatozoides en su muestra y el tipo de virus detectado

Variable	Oligozoospermicos n (%*)	Normozoospermicos n (%*)	Totales n (%*)
VPH-16	19 (21.35)	25 (28.08) ^{a,b}	44 (49.44)
VPH-18	17 (19.10)	7 (7.86) ^b	24 (26.96)
VPH-16 + VPH-18	14 (15.73)	7 (7.86) ^b	21 (23.59)
Total	50 (56.18)	39 (43.8)	89 (100)

* Porcentaje con respecto al total de sujetos positivos (n = 89).

^a $p < 0.05$ vs grupo VPH-18 y grupo VPH-16 + VPH-18 en su grupo.

^b $p < 0.05$ vs grupos de oligozoospermicos.

En términos generales, la cantidad y las formas anormales de espermatozoides están dentro de los parámetros que indica la OMS. Sin embargo, se observa que el grupo de pacientes con oligozoospermia positivos para VPH-16 y VPH-18 tienen un promedio mayor de leucocitos en comparación con los que se encuentran en el grupo de normozoospermicos (VPH-16= 2.72 y VPH-18= 2.31 para oligozoospermicos vs 1.14 y 1.21 para los del grupo normozoospermicos; $p < 0.05$; respectivamente); sin embargo, ese promedio de leucocitos es semejante en oligozoospermicos y normozoospermicos, cuando son positivos para ambos tipos de virus (2.03 vs 2.05, respectivamente).

Cuando los pacientes son positivos para VPH-16 y tienen oligozoospermia, el promedio de espermatozoides anormales es mayor en comparación con los positivos al mismo virus pero que son normozoospermicos (26.8 ± 15.6 vs 9.72 ± 12.23 , $p < 0.05$, respectivamente). Cuando ambos tipos de virus se encuentran en pacientes oligozoospermicos y normozoospermicos no se observa esa diferencia en los promedios de espermatozoides anormales (19.94 ± 7.2 vs 19.74 ± 8.4 , respectivamente).

DISCUSIÓN

Con base en los resultados, puede afirmarse que un porcentaje importante de los pacientes que acuden al servicio de Biología de la Reproducción de nuestra institución tiene una infección provocada por VPH 16, VPH 18 o ambos, que se detecta en las muestras de semen que normalmente sirven para realizar la espermatobioscopia directa, que es un análisis rutinario del protocolo de estudio de la pareja infértil.

Nuestros resultados señalan que la edad promedio de los pacientes es de 37.27 años, con inicio de vida sexual en la

adolescencia, que es el periodo en que hombres y mujeres tienen contacto con diversas clases de microorganismos que originan infecciones de transmisión sexual^{18,9} y otros factores de riesgo, como el número de parejas sexuales que, en promedio, fue de seis con límites de 2 y 30.

Al igual que en otros reportes, la infección por VPH fue asintomática y se reconoció al sexo masculino como vector. Existen reportes en donde el VPH se considera un factor de riesgo importante para cáncer de pene y ano, además de localizarse en la orofaringe y conjuntivas y en biopsias de tumores de cabeza y cuello en hombres.^{23,24,25}

Por lo que se refiere al aparato genitourinario masculino, el VPH se ha detectado en el cuerpo del pene, glándula, uretra, conductos deferentes, epidídimo, los testículos²⁶⁻²⁸ y cabeza del espermatozoide,^{29,30,31} junto con reportes que señalan que se ha detectado incluso en 6.1% en espermatozoides de semen descongelado.³²

Nuestro trabajo consistió en identificar VPH 16 y 18 en semen, porque son los que más se asocian con cáncer cervicouterino en México. La frecuencia fue de 59.7%, con predominio de VPH 16 en 29.5%.

De acuerdo con los parámetros de la OMS se encontró que existe mayor porcentaje de pacientes oligozoospermicos (57.04%), lo que en parte puede explicar el problema de infertilidad. No se observaron otras alteraciones en la cuenta espermática, a diferencia de otros autores que demuestran que hay una alteración en la motilidad.^{30,31}

También observamos que los pacientes positivos para VPH tuvieron mayor concentración de leucocitos, sobre todo en el grupo de pacientes con oligozoospermia, independientemente del virus que los infecta y que la presencia de uno o ambos virus en el semen se asocia con mayor cantidad de espermatozoides anormales, quizá por el VPH adherido a los espermatozoides, como ya se había

sugerido; sin embargo, se encontraron acordes con los parámetros que marca la OMS.¹⁴

En conclusión, puede afirmarse que este trabajo es el primero de esta naturaleza en nuestro país, en donde se señala que la frecuencia en el semen de VPH 16, VPH 18, o ambos, es elevada en varones que se encuentran en protocolo de la pareja infértil y que, junto con otros reportes, es necesario que se implante este tipo de estudio en la detección de VPH en pacientes en protocolo de la pareja infértil, en donadores de semen y en muestras que se almacenan en un banco de semen.

REFERENCIAS

- Lazcano PE, Alonso P, Ruiz MJ, Hernández MA. Recommendations for cervical cancer screening programs in developing countries. The need for equity and technological development. *Salud Publica Mex* 2003;45 (supl 3):S388-398.
- Bosch FX, Manos MM, Muñoz N, Sherman M, et al. Prevalence of human papilloma virus in cervical cancer: a worldwide perspective. *J Natl Can Inst* 1995;87(11):796-801.
- Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM, Bosch FX, et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol* 1999;189(1):12-19.
- Clifford GM, Smith JS, Plummer M, Munoz N, Franceschi S. Human papillomavirus types in invasive cervical cancer worldwide: a metaanalysis. *Br J Cancer* 2003;88:63-73.
- Muñoz N, Bosch FX, de Sanjose S, Herrero R, et al. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med* 2003;348:518-527.
- Ho GY, Bierman R, Beardsley L, et al. Natural history of cervicovaginal papillomavirus in young women. *N Engl J Med* 1998;338:423-428.
- Hompling ER. Cáncer de cérvix invasor. En: Piver MS, ed. *Diagnostico y Tratamiento en Oncología Ginecológica*. 2ª ed. Madrid: Marban, 2000;p:111-140.
- Murthy N S, Mathew A. Risk factors for pre-cancerous lesions of the cervix. *Eur J Cancer Prev* 2000;9(1):5-14.
- Disaia PJ, Creasman TW. Preinvasive and invasive cervical cancer. In: Disaia PJ, Creasman TW, editors. *Clinical gynecologic oncology*. 6th ed. St Louis: Mosby, 2002.
- Lazcano-Ponce E, Herrero R, Muñoz N, Hernández-Ávila M, Salmerón J, Leyva A, et al. High prevalence of human papillomavirus infection in Mexican male. *Sex Transm Dis* 2001;28:277-288.
- Gazzaniga P, Vercillo R, Gradilone A, Silvestri I, et al. Prevalence of papillomavirus, Epstein-Barr virus, cytomegalovirus, and herpes simplex virus type 2 in urinary bladder cancer. *J Med Virol* 1998;55:262-267.
- Picconi MA, Eiján AM, Distéfano AL, Pueyo S, et al. Human papillomavirus (HPV) DNA in penile carcinomas in Argentina: analysis of primary tumors and lymph nodes. *J Med Virol* 2000;61:65-69.
- Baldwin SB, Wallace DR, Papenfuss MR, Abrahamsen M, et al. Human papillomavirus in men attending a sexually transmitted disease clinic. *J Infect Dis* 2003;187:1064-1070.
- World Health Organization. WHO. Laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interactions. Cambridge: Cambridge University Press, 1999.
- Manual for DNA-isolation kit, Roche-Applied-Science, USA.
- Fontaine J, Gravit P, Duh LM. High level of correlation of human papillomavirus-16 DNA viral load estimates generated by three real-time PCR assays applied on genital specimens. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005;14:200-2207.
- Detection of human papillomavirus 16-type. Primer Design manual. Primer Design LTD, USA.
- Detection of human papillomavirus 18-type. Primer Design manual. Primer Design LTD, USA.
- Erenpreisa J, Freivalds T, Slaidina M. Toluidine blue test for sperm DNA integrity and elaboration of image cytometry algorithm. *Cytometry* 2003;52:19-27.
- Keel B, Webster B. The standard semen analysis. En: Webster E (ed.) *CRC. Handbook of the Laboratory Diagnosis and Treatment of Infertility*. Boca Ratón FL, CRC Press, 1990;p:27-69.
- Barratt CLR, Matson PL, Holt W. British Andrology Society guidelines for the screening of semen donors for donor insemination. *Hum Rep* 1993;8:1521-1523.
- Sánchez GR, Villegas JG, Peña P, Miska W, Schill WB. Determinación de células peroxidasa positivas en líquido seminal. Es un parámetro confiable para el diagnóstico de infección genital asintomática? *Rev Med Chile* 2003;131:53-62.
- Palefsky JM. HPV infection in men. *Dis Markers* 2007;23:261-272.
- Sen S, Sharma A, Panda A. Immunohistochemical localization of human papilloma virus in conjunctival neoplasias: a retrospective study. *Indian J Ophthalmol* 2007;55:361-363.
- Shah KV, Westra WH. Genital HPVs in the aerodigestive tract: etiologic association with a subset of oropharyngeal/tonsillar cancers and with recurrent respiratory papillomatosis. *Dis Markers* 2007;23:235-245.
- Nielson CM, Flores R, Harris RB, Abrahamsen M, et al. Human papillomavirus prevalence and type distribution in male anogenital sites and semen. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2007;16:1107-1114.
- Svec A, Mikyskov AI, Hes O, Tachezy R. Human papillomavirus infection of the epididymis and ductus deferens: an evaluation by nested polymerase chain reaction. *Arch Pathol Lab Med* 2003;127:1471-1474.
- Martorell M, Gil-Salom M, Perez-Valles A, Garcia JA, et al. Presence of human papillomavirus DNA in testicular biopsies from nonobstructive azoospermic men. *Arch Pathol Lab Med* 2005;129:1132-1136.
- Perez-Andino J, Buck CB, Ribbeck K. Adsorption of Human Papillomavirus 16 to Live Human Sperm. *PLoS ONE* 2009;4(6):e5847.
- Foresta C, Garolla A, Zuccarello D, Pizzol D, et al. Human papillomavirus found in sperm head of young adult males affects the progressive motility. *Fertil Steril* 2010;93:802-806.
- Foresta C, Pizzol D, Moretti A, Barzon L, et al. Clinical and prognostic significance of human papillomavirus DNA in the sperm or exfoliated cells of infertile patients and subjects with risk factors. *Fertil Steril* 2010;94:1723-1727.
- Foresta C, Ferlin A, Bertoldo A, Patassini C, et al. Human papillomavirus in the sperm cryobank: an emergin problem? *J Std AIDS* 2004;15:740-743.

Inyección intracitoplásmica de espermatozoides morfológicamente seleccionados (IMSI) vs inyección intracitoplásmica de espermatozoides (ICSI) en pacientes con falla repetida a ICSI*

Claudia González-Ortega,* Patricia Cancino-Villarreal,* Alicia Pérez-Torres, Marcos Ambrosio Vargas-Maciel,* Sandra Guadalupe Martínez-Garza,* Efraín Pérez-Peña,** Antonio Martín Gutiérrez-Gutiérrez*

Nivel de evidencia: II-1

RESUMEN

Antecedentes: la inyección intracitoplásmica de espermatozoides (ICSI) es altamente efectiva para el control de la infertilidad por factor masculino. Los espermatozoides seleccionados para inyección intracitoplásmica pueden tener alteraciones estructurales indetectables a 400x, como: vacuolas nucleares, disminuyendo tasas de embarazo e implantación. Los estudios recientes demuestran que con la inyección intracitoplásmica de espermatozoides morfológicamente seleccionados (IMSI), a mayor magnificación (> 6,600x), se incrementan las tasas de embarazo e implantación en pacientes con falla repetida a ICSI.

Objetivo: comparar los resultados de la inyección de espermatozoides móviles seleccionados con examen morfológico organelar (MSOME) para IMSI, con la ICSI en pacientes con falla repetida a ICSI.

Pacientes y método: estudio prospectivo, observacional y de cohortes. A partir del 1 de febrero de 2010 se administró inyección intracitoplásmica de espermatozoides morfológicamente seleccionados a las parejas con al menos dos ciclos fallidos de inyección intracitoplásmica de espermatozoides, y analizamos los primeros 30 ciclos en pacientes menores de 38 años con buena reserva ovárica. Este grupo de estudio se comparó con los últimos 30 ciclos de inyección intracitoplásmica de espermatozoides realizados antes de esa fecha, en pacientes con características clínicas similares. La inyección intracitoplásmica de espermatozoides morfológicamente seleccionados se realizó con una magnificación de 7,676 aumentos para evaluación y selección espermática.

Resultados: los grupos tuvieron características clínicas similares. La tasa de gestación con inyección intracitoplásmica de espermatozoides morfológicamente seleccionados fue mejor que con inyección intracitoplásmica de espermatozoides (63 vs 50%); la diferencia no fue significativa para el tamaño de la muestra, aunque la tendencia es clara y clínicamente significativa a favor de la inyección intracitoplásmica de espermatozoides morfológicamente seleccionados. La tasa de implantación con inyección intracitoplásmica de espermatozoides morfológicamente seleccionados (44.8%) mostró diferencias estadísticamente significativas vs inyección intracitoplásmica de espermatozoides (29.7%). No existieron diferencias significativas en tasas de aborto.

Conclusiones: la IMSI mejora significativamente la tasa de implantación en pacientes con falla repetida a la ICSI.

Palabras clave: inyección intracitoplásmica de espermatozoides morfológicamente seleccionados, IMSI, inyección intracitoplásmica de espermatozoides, ICSI, fallo repetido.

ABSTRACT

Background: Intracytoplasmic sperm injection (ICSI) is highly effective for the control of male factor infertility. The sperm selected for ICSI may have structural abnormalities undetectable to 400x as nuclear vacuoles, decreasing rates of pregnancy and implantation. Recent studies show that with intracytoplasmic morphologically selected sperm injection (IMSI), at higher magnification (> 6,600x), increases pregnancy and implantation rates in patients with repeated failure to ICSI.

Objective: To compare the results of the injection of selected motile sperm organelle morphology examination (MSOME) for IMSI, instead of the use of ICSI in patients with repeated failure to ICSI.

Patients and method: Prospective, observational cohort study. Since February 1, 2010 was administered IMSI to couples with at least two failed cycles of ICSI, and analyzed the first 30 cycles in patients under 38 years of good ovarian reserve. This study group was compared

with the last 30 cycles of ICSI performed before that date, in patients with similar clinical characteristics. The IMSI was performed with a magnification of 7,676 increases for evaluation and sperm selection.

Results: The groups had similar clinical characteristics. The pregnancy rate with IMSI was better than with ICSI (63 vs. 50%), the difference was not significant for the size of the sample, although the trend is clear and clinically significant in favor to IMSI. The implantation rate with IMSI (44.8%) showed statistically significant differences vs. ICSI (29.7%). No significant differences in abortion rates.

Conclusions: IMSI significantly improves the implantation rate in patients with repeated failure to ICSI.

Key words: IMSI, ICSI, repeated failure.

RÉSUMÉ

Antécédents: l'injection intracytoplasmique de spermatozoïdes est hautement effective pour le contrôle de l'infertilité par facteur masculin. Les spermatozoïdes sélectionnés pour injection intracytoplasmique de spermatozoïdes peuvent avoir des altérations structurelles indétectables à 400x comme vacuoles nucléaires, diminuant des taux de grossesse et implantation. Des études récentes démontrent qu'avec injection intracytoplasmique de spermatozoïdes morphologiquement sélectionnés, dans une magnification majeure (> 6,600x), les taux de grossesse et implantation en patients avec échec répété en injection intracytoplasmique de spermatozoïdes augmentent.

Objectif: comparer les résultats de l'injection de spermatozoïdes mobiles sélectionnés avec examen morphologique de spermatozoïdes (MSOME) pour injection intracytoplasmique de spermatozoïdes morphologiquement sélectionnés, avec l'emploi d'injection intracytoplasmique de spermatozoïdes en patientes avec échec répété en injection intracytoplasmique de spermatozoïdes.

Patientes et méthode: étude prospective, observationnelle et de cohortes. À partir du 1^{er} février 2010, on a administré injection intracytoplasmique de spermatozoïdes morphologiquement sélectionnés aux couples avec au moins deux échecs de cycles d'injection intracytoplasmique de spermatozoïdes, et on a analysé les 30 premiers cycles en patientes mineures de 38 ans avec une bonne réserve ovarienne. Ce groupe d'étude a été comparé avec les 30 derniers cycles d'injection intracytoplasmique de spermatozoïdes réalisés avant cette date, en patientes avec des caractéristiques cliniques pareilles. L'injection intracytoplasmique de spermatozoïdes morphologiquement sélectionnés a été réalisée avec une magnification de 7,676 augmentations pour évaluation et sélection spermatique.

Résultats: les groupes ont eu des caractéristiques cliniques similaires. Le taux de gestation avec injection intracytoplasmique de spermatozoïdes morphologiquement sélectionnés a été meilleur qu'avec injection intracytoplasmique de spermatozoïdes (63 vs 50%); la différence n'a pas été significative pour la taille de l'échantillon, cependant la tendance est claire et cliniquement significative favorisant l'injection intracytoplasmique de spermatozoïdes morphologiquement sélectionnés. Le taux d'implantation avec injection intracytoplasmique de spermatozoïdes morphologiquement sélectionnés (44.8%) a montré des différences statistiquement significantes vs injection intracytoplasmique de spermatozoïdes (29.7%). Il n'y a pas eu de différences significatives en taux d'avortement.

Conclusions: l'injection intracytoplasmique de spermatozoïdes morphologiquement sélectionnés améliore significativement le taux d'implantation en patientes avec échec répété en injection intracytoplasmique de spermatozoïdes.

Mots-clés: injection intracytoplasmique de spermatozoïdes morphologiquement sélectionnés, IMSI, injection intracytoplasmique de spermatozoïdes, ICSI, échec répété.

RESUMO

Antecedentes: A injeção intracitoplasmática de espermatozoides é altamente efetiva para o controle da infertilidade por fator masculino. Os espermatozoides selecionados para a injeção intracitoplasmática de espermatozoides podem ter alterações estruturais indetectáveis a 400x como vacuolar nucleares, diminuindo taxas de gestação e implantação. Recente estudo demonstra que com a injeção intracitoplasmática de espermatozoides morfologicamente selecionados, a maior magnificação (> 6.600x), incrementa taxas de gestação e implantação em pacientes com erro repetido a injeção intracitoplasmática de espermatozoides.

Objetivo: Comparar os resultados da injeção de espermatozoides móveis selecionados com exame morfológico organelas (MSOME) para injeção intracitoplasmática de espermatozoides morfologicamente selecionados, sobre a utilização de injeção intracitoplasmática de espermatozoides em pacientes com erro repetido a injeção intracitoplasmática de espermatozoides.

Pacientes e método: Estudo retrospectivo, observacional e de coortes. A partir de 1 de fevereiro de 2010 foi administrado injeção intracitoplasmática de espermatozoides morfologicamente selecionados aos casais com menos dois ciclos frustrados de injeção intracitoplasmática de espermatozoides, e analisamos os primeiros 30 ciclos em pacientes menores de 38 anos com boa reserva ovária. Esse grupo de estudo foi comparado com os últimos 30 ciclos de injeção intracitoplasmática de espermatozoides realizados antes dessa data, em pacientes com características clínicas similares. A injeção intracitoplasmática de espermatozoides morfologicamente selecionados foi realizada com uma magnitude de 7.676 aumentos para avaliação e seleção espermática.

Resultados: Os grupos tiveram características clínicas similares. A taxa de gestação com injeção intracitoplasmática de espermatozoides morfologicamente selecionados foi melhor que com injeção intracitoplasmática de espermatozoides (63 vs 50%); a diferença não foi significativa para o tamanho da amostra, ainda que a tendência é clara e clinicamente significativa a favor de injeção intracitoplasmática de espermatozoides morfologicamente selecionados. A taxa de implantação com injeção intracitoplasmática de espermatozoides morfologicamente selecionados (44,8%) mostrou diferenças estatisticamente significativas vs injeção intracitoplasmática de espermatozoides (29,7%). Não existiram diferenças significativas em taxas de aborto.

Conclusões: A injeção intracitoplasmática de espermatozoides morfologicamente selecionados melhora significativamente a taxa de implantação em pacientes com erro repetido a injeção intracitoplasmática de espermatozoides.

Palavras-chave: injeção intracitoplasmática de espermatozoides morfologicamente selecionados, IMSI, injeção intracitoplasmática de espermatozoides, ICSI, erro repetido.

La morfología espermática es el factor que mejor predice los resultados de la fertilización natural, inseminación artificial y FIV convencional. Recientemente se han publicado estudios que evidencian que la morfología espermática también tiene un papel importante en los resultados de la inyección intracitoplásmica de espermatozoides, lo que indica qué efectos paternos influyen en la tasa de formación de blastocistos.¹

Dependiendo de la morfología espermática estricta, cuyo valor límite inferior normal, según la quinta edición del Manual para el Examen y Procesamiento del Semen (MEPS), de la Organización Mundial de la salud² es 4%, se han asignado diferentes pronósticos para el tratamiento de la infertilidad con técnicas de reproducción asistida, se considera $\leq 4\%$ como pobre pronóstico y $>$ de 5% buen pronóstico.³

En la FIV convencional, la zona pelúcida del ovocito actúa como una barrera biológica en contra de los espermatozoides anormales. En la mayor parte de los casos únicamente los espermatozoides normales son capaces de fertilizar al ovocito. En un estudio realizado por Liu y Baker,⁴ se determinó que la zona pelúcida desempeña un papel decisivo en la selección de espermatozoides con morfología normal, movilidad e integridad del ADN. La inyección intracitoplásmica de espermatozoides omite este mecanismo de selección natural.

La inyección intracitoplásmica del espermatozoide en humanos la realizó con buenos resultados por primera vez Palermo y col., en 1992.⁵ Desde entonces es la técnica de elección para tratar el factor masculino severo. Sin

embargo, la selección de los espermatozoides para inyección intracitoplásmica de espermatozoides se basa en la motilidad y los aspectos morfológicos gruesos a una baja resolución (Figura 1).



Figura 1. Inyección intracitoplásmica de espermatozoides (ICSI).

Debido a la subjetividad de esta evaluación, se han diseñado instrumentos para el análisis de la morfología espermática y más recientemente equipos para aumentar la magnificación con el propósito de detectar alteraciones ultraestructurales imposibles de visualizar por métodos convencionales (Figura 2).

Un nuevo método de alta magnificación ($> 6,600\times$) denominado examinación morfológica organelar de espermatozoides móviles (MSOME), publicado por Bartoov y col. en 2002,⁶ mostró una correlación positiva significativa entre la incidencia de la morfología espermática normal y



Figura 2. Inyección intracitoplásmica de espermatozoides morfológicamente seleccionados (IMSI).

* Instituto de Ciencias en Reproducción Humana Vida, León, Gto.

** Instituto de Ciencias en Reproducción Humana Vida, Guadalajara, Jal.

Recibido: agosto, 2010. Aprobado: octubre, 2010.

* Artículo premiado con el segundo lugar al trabajo científico Dr. Luis Castelazo Ayala presentado en el LXI Congreso Mexicano de Ginecología y Obstetricia 2010, que se celebró en la ciudad de Chihuahua los pasados 26 al 30 de octubre.

Este artículo debe citarse como: González-Ortega C, Cancino-Villarreal P, Pérez-Torres A, Vargas-Maciell MA y col. Inyección intracitoplásmica de espermatozoides morfológicamente seleccionados (IMSI) vs inyección intracitoplásmica de espermatozoides (ICSI) en pacientes con falla repetida a ICSI. Ginecol Obstet Mex 2010;78(12):652-659.

www.nietoeditores.com.mx

tasas de fertilización después de inyección intracitoplásmica de espermatozoides. Estos resultados se obtuvieron después de la aplicación de este método en tiempo real en 100 parejas sometidas a inyección intracitoplásmica de espermatozoides. De los seis organelos subcelulares analizados (cuello, cola, mitocondrias, acrosoma, lámina posacrosomal y núcleo) la normalidad morfológica del núcleo espermático (forma y contenido de la cromatina) se asociaron significativamente con la tasa de fertilización y con los resultados de embarazo.

En 2003, Bartoov⁷ usó el criterio de MSOME para seleccionar espermatozoides móviles para inyección intracitoplásmica de espermatozoides, una técnica llamada inyección intracitoplásmica de espermatozoides morfológicamente seleccionados, en pacientes con al menos dos fallas previas a la inyección intracitoplásmica de espermatozoides. Las parejas a las que se les realizó inyección intracitoplásmica de espermatozoides morfológicamente seleccionados obtuvieron significativamente mejores resultados en términos de embarazo y tasas de aborto.

Más tarde, basándose nuevamente en el criterio de MSOME, Hazout aplicó la técnica (6,000x) al proceso de selección de espermatozoides para el proceso de ICSI, obtuvo una mejoría significativa en los resultados clínicos en pacientes con fallas previas a ICSI.⁸ Estos resultados ofrecen una nueva perspectiva para mejorar la eficiencia de las técnicas de reproducción asistida.

El objetivo de este estudio fue comparar los resultados obtenidos con la inyección intracitoplásmica de espermatozoides morfológicamente seleccionados (IMSI) vs inyección intracitoplásmica de espermatozoides (ICSI) convencional en parejas, con al menos dos fallas previas a ICSI.

PACIENTES Y MÉTODO

Pacientes

Estudio prospectivo, observacional y de cohortes. A partir del 1 de febrero de 2010 se realizó inyección intracitoplásmica de espermatozoides morfológicamente seleccionados a todas las parejas con al menos dos ciclos fallidos de ICSI. Analizamos los primeros 30 ciclos realizados en pacientes menores de 38 años con buena reserva ovárica. Este grupo de estudio se comparó con los últimos 30 ciclos de ICSI realizados antes de esa fecha en pacientes con características clínicas similares.

Criterios de inclusión: 1) Mujeres menores de 38 años. 2) Buena reserva ovárica (FSH basal < 12 UI/mL). 3) Sin otro factor femenino asociado que disminuya las tasas de implantación.

Preparación del semen

El semen se preparó con dos fases de Pure-sperm (alta y baja densidad) preparados con HTF con Hepes al 10% de suero sintético sustituto. Para este estudio se utilizó únicamente semen fresco de eyaculado.

Procedimiento de ICSI

La inyección intracitoplásmica de espermatozoides convencional se efectuó con un microscopio invertido Olympus IX71 equipado con inyector Eppendorf Celltram Air y Celltram Vario. La técnica de micromanipulación ya la publicamos con detalles.⁹ Brevemente, una vez decumulados los ovocitos, se seleccionaron únicamente los que estuvieron en metafase II para ser microinyectados. Los espermatozoides se seleccionaron con una magnificación de 400x con modulación de Hoffman. Bajo esta magnificación se excluyeron los espermatozoides con severas alteraciones (amorfo, redondo, multinucleado) y la microinyección se realizó de acuerdo con la técnica estándar propuesta por Palermo. El tiempo aproximado que se requirió para el procedimiento de inyección intracitoplásmica de espermatozoides fue de 20 a un máximo de 40 minutos por paciente.

Selección de espermatozoides para inyección intracitoplásmica de espermatozoides morfológicamente seleccionados (IMSI)

Para realizar la inyección intracitoplásmica de espermatozoides morfológicamente seleccionados es necesario utilizar una caja de Petri con fondo de cristal (Fluoridish), preparada de la siguiente manera:

- 1) En la parte central de la caja se colocan 2 gotas de 5 µL de polivinilpirrolidona (PVP) al 8%, 1 µL de semen diluido en ambas gotas de PVP.
- 2) Se colocó una gota de 5 µL de HTF con Hepes (adicionado con 5% de albúmina sérica humana HSA) entre ambas gotas de PVP para colocar los espermatozoides seleccionados.
- 3) En el lado derecho de la placa se colocaron gotas de 5 µL de HTF con Hepes según la cantidad de ovocitos a microinyectar. Una vez hecha la placa se cubrió con parafina líquida.

La selección de espermatozoides se realizó con base en el criterio de MSOME de alta magnificación en tiempo real con la ayuda de un microscopio invertido (Olympus IX71, Tokio, Japón) equipado con óptica de contraste de interferencia diferencial de Nomarski (DIC), un objetivo de inmersión de 100x Apo Uplan, lente del objetivo 1.60 y un lente del condensador con apertura numérica de 0.55. La imagen se capturó en una videocámara Sony DP20 y se observó en un monitor de 17 pulgadas de diámetro diagonal; la magnificación total que se obtuvo fue de 7,676x.

Se seleccionaron los espermatozoides de núcleo liso, simétrico y con dimensiones normales (4.75 ± 0.28 mm de largo con 3.28 ± 0.20 μ m de ancho), que tuvieran como máximo una vacuola pequeña. Para poder visualizar detenidamente el espermatozoide fue necesario hacerlo pasar varias veces a través de una micropipeta angulada estéril con un diámetro interno de 9 μ m (Humagen, Charlottesville, VA, USA).

Los espermatozoides con malformaciones severas (cabeza redonda, cabeza de alfiler, múltiples vacuolas) no se analizaron y se descartaron automáticamente.

Primero se seleccionaron los espermatozoides necesarios para la microinyección y se colocaron en una gota juntos, y posteriormente se realizó la inyección intracitoplásmica de espermatozoides de manera convencional. Se seleccionó de preferencia una mayor cantidad de espermatozoides que ovocitos a microinyectar. El proceso de selección de espermatozoides se llevó un promedio de 60-120 minutos, dependiendo de la calidad del semen.

La selección y microinyección de los espermatozoides la realizaron únicamente dos embriólogas, después de estandarizar los criterios de selección entre ambas.

Estimulación ovárica y aspiración folicular

La estimulación ovárica se realizó con FSH recombinante (Gonal-F; Serono, México) en dosis de 150 UI/día subcutáneas. Al quinto día o al encontrar un folículo mayor de 14 mm se indicó la administración de antagonistas de la hormona liberadora de gonadotropinas (Cetrotide; Serono, México) 0.25 mg/día sc hasta el día del disparo con HGC. Cuando dos o más folículos tuvieran 18 mm o más de diámetro, se administraron 250 mg subcutáneos de HGC recombinante (Ovidrelle; Serono, México).

La aspiración de los ovocitos se realizó a las 37 h de la aplicación de la HCG por vía transvaginal guiada por ultrasonido. Una vez identificados los complejos

ovocito-corona-cúmulus, se lavaron en HTF con Hepes suplementado con 5% de HSA, y posteriormente se cultivaron de manera individual en *Global for fertilization* (Lifeglobal), suplementado al 5% de HSA y se conservaron en un ambiente de 5% de CO₂, 37 °C y 90% de humedad relativa, por al menos dos horas antes de ser decumulados.

Una vez transcurrido ese tiempo los ovocitos fueron decumulados con hialuronidasa 40 UI/mL y se valoró el estado de madurez nuclear; únicamente los ovocitos en metafase II fueron microinyectados. Para el cultivo de los embriones utilizamos *Global Medium* (Lifeglobal) suplementado al 5% HSA.

La fertilización se confirmó por la presencia de dos pronúcleos y dos cuerpos polares a las 17 horas después de la microinyección. Los cigotos con una adecuada fertilización se cambiaron a medio fresco cada 24 horas.

Los embriones se clasificaron como excelentes cuando presentaron en día 2 menos de 10% de fragmentación y cuatro blastómeras simétricas; y en día 3 menos de 10% de fragmentos y ocho blastómeras simétricas, sin multinucleación. El porcentaje de embriones de excelente calidad se definió como el número de embriones de excelente calidad sobre el número total de embriones divididos. La transferencia se realizó en día 3.

Soporte de fase lútea

Se indicó la administración de progesterona intramuscular en dosis de 50 mg/día, que inició a las 24 horas de realizada la punción folicular, manteniendo el soporte hasta las 9-12 semanas de gestación. Un grosor endometrial de al menos 8 mm se consideró adecuado para realizar transferencia embrionaria.

El embarazo clínico se definió como gonatotrofina coriónica humana positiva y la existencia de al menos un saco gestacional con latido cardíaco fetal por ultrasonido. El aborto se consideró como la pérdida del embarazo antes de las 24 semanas de gestación.

La tasa de implantación se calculó con el número total de embriones transferidos dividido entre el número de sacos gestacionales implantados.

Análisis estadístico

Se utilizó la prueba de t de Student para realizar la comparación de variables continuas entre los dos grupos y la prueba de χ^2 para variables discretas. Un valor de $p < 0.05$ se consideró estadísticamente significativo.

RESULTADOS

No hubo diferencias estadísticamente significativas en ambos grupos en cuanto a: la edad de las pacientes, años de infertilidad, fallas previas de inyección intracitoplásmica de espermatozoides, factor masculino asociado, cantidad de ovocitos obtenidos por paciente y cantidad de ovocitos en metafase II (Cuadro 1).

No encontramos diferencias estadísticamente significativas en el número de embriones transferidos por paciente, ni en el porcentaje de embriones de excelente calidad entre ambos grupos (Cuadro 2), (inyección intracitoplásmica de espermatozoides, 43.3% *vs* inyección intracitoplásmica de espermatozoides morfológicamente seleccionados, 45.7%).

En el grupo de inyección intracitoplásmica de espermatozoides morfológicamente seleccionados, en 12 pacientes se realizó transferencia electiva de dos embriones, y en el grupo de inyección intracitoplásmica de espermatozoides únicamente se realizó en cuatro de los casos; esto motivado por la alta tasa de implantación y un elevado número de

gestaciones múltiples observadas en los primeros procedimientos realizados con inyección intracitoplásmica de espermatozoides morfológicamente seleccionados.

Todas las pacientes fueron transferidas, logrando un total de 15 gestaciones con inyección intracitoplásmica de espermatozoides (50%), 11 embarazos en evolución y cuatro abortos (26.6%). Con inyección intracitoplásmica de espermatozoides morfológicamente seleccionados se obtuvieron 19 gestaciones (63%), 16 de las cuales siguen en evolución y hubo tres abortos (15.7%).

La diferencia en tasa de gestación no fue significativa para este tamaño de muestra, aunque la tendencia es clara a favor de IMSI. La tasa de implantación fue significativamente mayor en el grupo de IMSI (44.8%), que en el grupo de ICSI (29.7 %). No existieron diferencias en la tasa de aborto (Cuadro 2).

DISCUSIÓN

Se ha comprobado que la morfología espermática tiene un papel preponderante en los resultados obtenidos en un

Cuadro 1. Características clínicas en el grupo de ICSI e IMSI

	ICSI (n = 30)	IMSI (n = 30)	p
Edad	34.7 ± 4.03	34.9 ± 3.2	ns
Años de infertilidad	4.9 ± 3.6	5.2 ± 3.2	ns
Fallas previas a la ICSI	2.2 ± 0.3	2.3 ± 0.4	ns
Factor masculino	15 (75%)	14 (70%)	ns
Ovocitos (n)	408	363	ns
Ovocitos/paciente	13.6 ± 6.2	12.1 ± 6.4	ns
Ovocitos MII/paciente	8.6 ± 4.5	7.9 ± 3.6	ns

ns: no significativa.

Cuadro 2. Resultados obtenidos en el grupo de ICSI e IMSI

	ICSI	IMSI	p
Fecundación (%)	89	91.2	ns
División (%)	90.3	92.3	ns
Embriones de excelente calidad	89/206 (43.3%)	91/199 (45.7%)	ns
Embriones transferidos/px	2.8 ± 0.3	2.6 ± 0.5	ns
Embarazos	15/30 (50%)	19/30 (63%)	ns
Tasa de implantación	25/84 (29.7%)	35/78 (44.8%)	< 0.05
Embarazo múltiple	9/25 (36%)	14/35 (40%)	ns
Abortos	4/15 (26.6%)	3/19 (15.7%)	ns

ns: no significativa.

proceso de fertilización natural, inseminación artificial, y en técnicas de reproducción asistida de alta complejidad. Una morfología espermática normal es fundamental para que el espermatozoide sea capaz de penetrar la zona pelúcida del ovocito y poder llegar hasta el citoplasma para depositar su ADN, y proveer de su maquinaria para dar lugar a la formación del áster y posteriormente iniciar el proceso de división embrionaria.

Tradicionalmente, la selección de los espermatozoides para las técnicas de microinyección se basa en el criterio del embriólogo; así mismo, la precisión con que puede evaluar esta normalidad morfológica depende de manera importante del poder de resolución del sistema de magnificación óptica que esté utilizando. Espermatozoides aparentemente normales a una magnificación de 400x podrían tener importantes alteraciones estructurales, que únicamente serían detectables con altas magnificaciones (> 6,000x) como la existencia de vacuolas nucleares.

Barth y Oko¹⁰ reportaron que la presencia de vacuolas nucleares en el espermatozoide no bloquea la fertilización, pero incrementa la tasa de pérdidas embrionarias tempranas. Bartoov en 1994¹¹ observó una clara asociación negativa entre la existencia de vacuolas nucleares en semen con el potencial natural de fertilidad masculina.

Berkovitz y col.¹² graduaron la severidad de las alteraciones morfológicas nucleares, principalmente grandes vacuolas, y sugirió que la vacuolización del núcleo espermático refleja algunos defectos cromosómicos o del ADN, pero no mostró datos que confirmaran dicha hipótesis.

Los mismos autores¹³ reportaron que las vacuolas bloquean el desarrollo embrionario, reducen la tasa de embarazo e incrementan las tasas de aborto; y Franco y col.¹⁴ demostraron una asociación entre la presencia de grandes vacuolas nucleares y la fragmentación del ADN en el espermatozoide.

Las tasas de fertilización entre ambas técnicas fueron similares entre ICSI (89%) vs IMSI (91.2%), y los resultados no se vieron influidos por el factor masculino. Tampoco encontramos diferencias estadísticamente significativas en las tasas de división embrionaria de la ICSI (90.3%) vs IMSI (92.3%), lo que confirma los resultados publicados por otros autores.^{7,15,16}

Además, Garolla y col.¹⁷ mostraron que las vacuolas nucleares afectan la función mitocondrial, la integridad de la cromatina y la tasa de aneuploidía, por lo que con base en los hallazgos clínicos y de laboratorio en las posibles

repercusiones de daño al ADN para la progenie y considerando que las vacuolas espermáticas nucleares pueden detectarse de manera más precisa con alta magnificación, se sugiere a la IMSI, principalmente en casos graves de factor masculino, falla de ICSI en repetidas ocasiones y fragmentación del ADN espermático, lo que podría reflejarse en mejor pronóstico clínico.

En la bibliografía existen resultados controversiales acerca de la influencia de la IMSI, acerca de la calidad embrionaria y del desarrollo embrionario temprano. Hazout,¹⁸ en un estudio que incluyó 125 parejas (con infertilidad por factor masculino y al menos dos ciclos fallidos de ICSI), encontró un número similar de embriones de buena morfología ($p = ns$) en día 2 y 3 entre los ciclos de IMSI y ciclos previos de ICSI. Sin embargo, en un estudio comparativo previo, realizado por Bartoov y col.¹⁹ en el que se compararon 50 casos de IMSI, que fueron apareados con 50 casos previos de ICSI (con infertilidad masculina y al menos dos ciclos fallidos de ICSI previos). Bartoov y col. concluyeron que el procedimiento de IMSI podría incrementar significativamente la cantidad de embriones de excelente morfología en día 2-3. En nuestro estudio, no encontramos diferencias estadísticamente significativas en la cantidad de embriones con excelente morfología en ambos grupos.

El único estudio prospectivo y aleatorizado hasta el momento lo realizó Antinori y col. en 2007.¹⁵ Incluyeron 446 parejas con diagnóstico de oligoastenoteratozoospermia en el que evaluaron las ventajas de la IMSI en relación con ICSI convencional, y encontraron mayor tasa de embarazo clínico en el grupo de IMSI (39.2% vs 26.5%) y mayor tasa de implantación (11.3% vs 17.3%) en el grupo de IMSI. Del total de ciclos realizados, solamente 139 eran con dos o más fallas previas a ICSI, y en este subgrupo la tasa de gestación fue igualmente mejor con IMSI de una forma significativa.

En este estudio encontramos excelentes tasas de embarazo en ambos grupos, fue mayor en el grupo de IMSI 63% vs 50% en ICSI, diferencia sin significación estadística para el tamaño de la muestra estudiada, aunque con una tendencia favorable al grupo de IMSI. De continuar los resultados similares con el incremento de casos, esta diferencia pudiera ser estadísticamente significativa. Tampoco encontramos diferencias en cuanto a la tasa de aborto; sin embargo, la mayoría de las gestaciones hasta este momento siguen en evolución.

Resulta relevante insistir en la existencia de pocos estudios de IMSI en el mundo. Debido a la reciente introducción de la técnica, en México no encontramos publicaciones sobre el tema, éste es el primer estudio de su aplicación en pacientes con falla repetida a ICSI.

CONCLUSIONES

Con base en los resultados obtenidos en este estudio de cohortes, prospectivo y comparativo de 60 casos, la microinyección de espermatozoides morfológicamente seleccionados (IMSI) mostró mejores resultados en términos de implantación, en comparación con la inyección intracitoplásmica de espermatozoides (ICSI) convencional ($p < 0.05$), en pacientes con al menos dos fallas previas a ICSI.

REFERENCIAS

- De Vos A, Van De Velde H, Joris H, Verheyen G, et al. Influence of individual sperm morphology on fertilization, embryo morphology, and outcome of intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril* 2003;79:42-48.
- World Health Organization. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. 5th ed. WHO Press, 2010.
- Kruger TF, Acosta AA, Simmons KF, et al. Predictive value of sperm morphology in in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1998;49:112-117.
- Liu DY, Baker HW. High frequency of defective sperm-zona pellucid interaction in oligozoospermic infertile men. *Hum Reprod* 2004;19:228-233.
- Palermo G, Joris H, Devroey P, et al. Pregnancies after intracytoplasmic injection of single spermatozoon into an oocyte. *Lancet* 1992;340:17.
- Bartoov B, Berkovitz A, Eltes F, et al. Real-time fine morphology of motile human sperm cells is associated with IVF-ICSI outcome. *J Androl* 2002;23:1-8.
- Bartoov B, Berkovitz A, Eltes F, et al. Pregnancy rates are higher with intracytoplasmic morphologically selected sperm injection than with conventional intracytoplasmic injection. *Fertil Steril* 2003;80:1413-1419.
- Hazout A, Dumont-Hassan M, Junca AM, et al. High magnification ICSI overcomes paternal effect resistant to conventional ICSI. *RBM Online* 2006;12:19-25.
- Gutiérrez GAM, González OC, Cancino VP, Tovar CG y col. Micromanipulación de gametos. En: Delgado UJ, Fernández del Castillo C. *Ginecología y Reproducción Humana. Temas selectos*. Colegio Mexicano de Especialistas en Ginecología y Obstetricia, 2006;p:46,381-393.
- Barth AD, Oko RJ. Defects of the sperm head. In: Barth AD, Oko RJ, editors. *Abnormal morphology of bovine spermatozoa*. IS Iowa State University Press, Ames, 1988;p:130-192.
- Bartoov B, Eltes F, Pansky M. Improved diagnosis of male infertility potencial a combination of quantitative ultramorphology and routine semen analyses. *Hum Reprod* 1994;9:2069-2075.
- Berkovitz A, Eltes F, Yaari S, et al. The morphological normalcy of the sperm nucleus and pregnancy rate of intracytoplasmic injection with morphologically selected sperm. *Hum Reprod* 2005;20:185-190.
- Berkovitz A, Eltes F, Ellenbogen A, et al. Does the presence of nuclear vacuoles in human sperm selected for ICSI affect pregnancy outcome? *Hum Reprod* 2006;21:1787-1790.
- Franco Jr JG, Baruffi RLR, Mauri AL, et al. Significance of large nuclear vacuoles in human spermatozoa: Implications for ICSI. *RBM Online* 2008;17:42-45.
- Antinori M, Licata E, et al. Intracytoplasmic morphologically selected sperm injection: a prospective randomized trial. *RBM Online* 2007;6:835-841.
- Mauri A, Petersen C, et al. Comparison of day 2 embryo quality after conventional ICSI versus intracytoplasmic morphologically selected injection (IMSI) using sibling oocytes. *Europ J Obst Gynec Reprod Biol* 2010;150:42-46.
- Garolla A, Fortín D, Menegazzo M, et al. High power microscopy for selecting spermatozoa for ICSI by physiological status. *RBM Online* 2008;17:610-616.
- Hazout A, Dumont-Hassan M, Junca AM, et al. High magnification ICSI overcomes paternal effect resistant to conventional ICSI. *RBM Online* 2006;12:19-25.
- Bartoov B, Berkovitz A, Eltes F. Pregnancy rates are higher with Intracytoplasmic morphologically selected sperm injection the convencional intracytoplasmic injection. *Hum Reprod* 2003;806:1413-1418.



Morbilidad materna extrema en el Hospital General Dr. Aurelio Valdivieso, Servicios de Salud de Oaxaca*

Omar Calvo-Aguilar,* Víctor Edilberto Morales-García,** Jaime Fabián-Fabián***

Nivel de evidencia: II-1

RESUMEN

Antecedentes: la morbilidad obstétrica extrema es un prometedor complemento a la investigación de muertes maternas que se utiliza para evaluar y mejorar los servicios de salud materna. Se trata de una complicación obstétrica severa que pone en riesgo la vida de la mujer embarazada y que requiere una intervención médica urgente para prevenir la muerte de la madre.

Objetivo: identificar las principales determinantes de la morbilidad obstétrica extrema en el Hospital General Dr. Aurelio Valdivieso, Servicios de Salud de Oaxaca.

Material y método: estudio observacional, transversal, de revisión de expedientes de tipo analítico. Se buscaron los códigos relacionados con los padecimientos que pudieron originar la morbilidad obstétrica extrema y las causas indirectas que pudieron ocasionarla.

Resultados: la prevalencia de morbilidad obstétrica extrema fue de 2.1%. Las comorbilidades más frecuentes fueron: eclampsia, insuficiencia hepática y preeclampsia que dieron la razón de momios y la significación estadística más altas. La asociación de morbilidad obstétrica extrema derivada de la intervención quirúrgica, a pesar de tener una prevalencia alta, se mostró como un factor protector. Hubo otras variables asociadas pero no tuvieron significación y sus intervalos de confianza estuvieron por debajo de la unidad, como sucedió con la insuficiencia renal y metabólica y la transfusión sanguínea.

Conclusiones: la morbilidad obstétrica extrema tuvo una prevalencia similar a la reportada en otros países. Casi siempre la originan enfermedades específicas (FLASOG): preeclampsia, eclampsia y hemorragia obstétrica. Las enfermedades del grupo de insuficiencia orgánica fueron menos frecuentes pero su asociación con la morbilidad obstétrica extrema fue más significativa. Las agrupadas en el rubro de intervención no tuvieron significación estadística.

Palabras clave: morbilidad obstétrica extrema, embarazo complicado, complicaciones del embarazo.

ABSTRACT

Background: Obstetric Morbidity Extreme (OME) is a promising addition to the investigation of maternal deaths and is used for the evaluation and improvement of maternal health services is defined as a severe obstetric complication that threatens the life of the pregnant woman and requires urgent medical intervention to prevent death of the mother.

Objective: To identify association between diseases and obstetric morbidity Extreme.

Material and method: Transversal review analytical records. We searched for codes related to conditions that could cause extreme obstetric morbidity and the indirect causes that might cause it.

Results: The prevalence of OME 21 per 1000 newborns, diseases with greater association were eclampsia, liver failure and preeclampsia yielded the highest OR and statistical significance, the association of OME derived from surgery despite having a high prevalence in the analysis showed no association, in the same way if other variables showed association but had no significance and confidence intervals are below the unit that is the case of renal failure, metabolic failure and blood transfusion.

Conclusions: The OME is caused by group entities specific disease (FLASOG) in most cases such as preeclampsia, eclampsia and obstetric hemorrhage.

Key words: obstetric morbidity extreme, complicated pregnancy, complications of pregnancy.

RÉSUMÉ

Antécédents: la morbidité obstétrique extrême est un complément prometteur à la recherche de morts maternelles qui est employé pour évaluer et améliorer les services de santé maternelle. Il s'agit d'une complication obstétrique sévère qui met en risque la vie de la femme enceinte et qui a besoin d'une intervention chirurgicale d'urgence afin de prévenir la mort de la mère.

Objectif: identifier les principaux déterminants de la morbidité obstétrique extrême à l'Hôpital Général Dr. Aurelio Valdivieso, Services de Santé d'Oaxaca.

Matériel et méthode: étude observationnelle, transversale, de révision de dossiers de type analytique. Nous avons cherché des codes relatifs aux conditions extrêmes qui pourraient entraîner la morbidité obstétricale et les causes indirectes qui pourraient lui faire.

Résultats: la prévalence de morbidité obstétrique extrême a été de 2.1%. Les comorbidités les plus fréquentes ont été: éclampsie, insuffisance hépatique et pré-éclampsie qui ont donné la raison de possibilités et la signification statistique les plus hautes. L'association de morbidité obstétrique extrême dérivée de l'intervention chirurgicale, malgré le fait d'avoir une haute prévalence, s'est montrée comme un facteur protecteur. Il y a eu d'autres variables associées, mais elles n'ont pas eu de signification et leurs intervalles de confiance ont été au-dessous de l'unité, comme s'est passé avec l'insuffisance rénale et métabolique et la transfusion sanguine.

Conclusions: la morbidité obstétrique extrême a eu une prévalence semblable à celle rapportée dans d'autres pays. Des maladies spécifiques (FLASOG) sont presque toujours à son origine: pré-éclampsie, éclampsie et hémorragie obstétrique. Les maladies du groupe d'insuffisance organique ont été moins fréquentes, mais leur association avec la morbidité obstétrique extrême a été plus significative. Celles qui sont groupées dans la rubrique d'intervention n'ont pas eu de signification statistique.

Mots-clés: morbidité obstétrique extrême, grossesse compliquée, complications de la grossesse.

RESUMO

Antecedentes: A morbidade obstétrica extrema é um promotor complemento aos estudos de morte materna que se utiliza para avaliar e melhorar os serviços de saúde materna. Trata-se de uma complicação obstétrica severa que põe em risco a vida da mulher grávida e que requer uma intervenção médica urgente para prevenir a morte da mãe.

Objetivo: Identificar as principais determinantes da morbidade obstétrica extrema no Hospital Geral Dr. Aurélio Valdivieso, Serviços de Saúde de Oaxaca (México).

Material e método: Estudo observacional, transversal, de revisão de expedientes do tipo analítico. Foram pesquisados os códigos relativos às condições que podem causar morbidade obstétrica extrema e as causas indiretas que podem causá-la.

Resultados: A prevalência de morbidade obstétrica extrema foi de 2,1%. As correlações mais frequentes foram: eclâmpsia, insuficiência hepática e pré-eclâmpsia que deram a razão de múmias e as estatísticas mais altas. A associação de morbidade obstétrica extrema derivada da intervenção cirúrgica apesar de ter uma prevalência alta, foi mostrada um fator protetor. Houve outras variáveis associadas, mas não tiveram significância e seus intervalos de confiança estiveram por debaixo da unidade, como sucedeu com insuficiência renal e metabólica e a transfusão sanguínea.

Conclusões: A morbidade obstétrica extrema teve uma prevalência similar a da comunicada em outros países. Quase sempre se originam doenças específicas (FLASOG): pré-eclâmpsia, eclâmpsia e hemorragia obstétrica. As doenças do grupo de insuficiência orgânica foram menos frequentes, mas sua associação com a morbidade obstétrica extrema foi mais significativa. As agrupadas no rubro de intervenção não tiveram significâncias estatísticas.

Palavras-chave: morbidade obstétrica extrema, gravidez complicada, complicações da gestação.

* Médico ginecoobstetra, subespecialista en Medicina Materno Fetal, adscrito a la División de Ginecología y Obstetricia.

** Médico ginecoobstetra, jefe del servicio de Ginecología.

*** Residente de cuarto año de Ginecología y Obstetricia. Hospital General Dr. Aurelio Valdivieso, Servicios de Salud de Oaxaca.

Correspondencia: Dr. Omar Calvo Aguilar. García Vigil 317, colonia Centro, Oaxaca de Juárez 68000, Oax. Correo electrónico: omarcalvoaguilar@hotmail.com

Recibido: agosto, 2010. Aprobado: octubre, 2010.

* Artículo premiado con el tercer lugar al trabajo científico Dr. Luis Castelazo Ayala presentado en el LXI Congreso Mexicano de Ginecología y Obstetricia 2010, que se celebró en la ciudad de Chihuahua los pasados 26 al 30 de octubre.

Este artículo debe citarse como: Calvo-Aguilar O, Morales-García VE, Fabián-Fabián J. Morbilidad materna extrema en el Hospital General Dr. Aurelio Valdivieso, Servicios de Salud de Oaxaca. Ginecol Obstet Mex 2010;78(12):660-668.

www.nietoeditores.com.mx

Los eventos adversos durante el embarazo, el parto o el puerperio desencadenan una serie de consecuencias económicas, sociales y psicológicas, por eso se consideran una situación de catástrofe. La mayoría de las mujeres afectadas son de un medio socioeconómico bajo. En el caso de México, los 100 municipios de menor índice de desarrollo humano se encuentran en los estados de Chiapas, Chihuahua, Guerrero, Nayarit y Oaxaca. Según datos oficiales, estos lugares tienen altas tasas de mortalidad materna,¹ que es solo “la punta de un iceberg”; es decir, que la morbilidad materna equivale a la base amplia y que aún no se ha descrito porque los estudios hospitalarios son limitados, y porque su diseño, ejecución y análisis son difíciles.²

La prevalencia de morbilidad difiere en los países en vías de desarrollo con respecto a los países industrializados. En el Reino Unido es de 12.0 por cada 1000 nacimientos.³ En

los países en desarrollo la cifra es cuatro veces mayor y aún puede incrementarse debido al subregistro. Las complicaciones se relacionan directamente con la falta de acceso o utilización de los servicios de maternidad. Además, con frecuencia los servicios no pueden responder a las situaciones de urgencia y la calidad en la atención es deficiente.

La identificación de casos con morbilidad obstétrica extrema o morbilidad materna extrema es un prometedor complemento a la investigación de muertes maternas y se usa para evaluar y mejorar los servicios de salud materna porque son más que los casos de mortalidad, lo que permite mejores conclusiones acerca de los factores de riesgo y de la calidad de la atención. El aprendizaje en la atención de las pacientes que superviven puede utilizarse para evitar nuevos casos de muerte materna, identificar factores de riesgo o situaciones similares, y mejorar la conducta y atención de las pacientes. Los elementos derivados del análisis de la morbilidad obstétrica extrema son de mejor comprensión para el personal de salud (“atención exitosa de la paciente”) que los de muerte materna. También pueden utilizarse como punto de partida para evaluar los servicios de salud. En los países industrializados se utiliza para valorar la calidad de los programas de maternidad segura en la población o para el estudio de casos.^{4,5}

En los estados que tienen los primeros lugares, a nivel nacional, en muerte materna es importante analizar los factores que contribuyen a esa situación. Durante el último decenio, el Hospital General Dr. Aurelio Valdivieso, de los servicios de Salud de Oaxaca, tuvo tasas, comparadas con otros países, muy altas de mortalidad materna. Por eso la revisión de los casos de morbilidad obstétrica extrema sirve como punto de partida para evaluar el fenómeno de mortalidad materna en la Institución.

La definición de la morbilidad obstétrica es decisiva para establecer los parámetros de evaluación de la morbilidad obstétrica extrema. La Organización Mundial de la Salud define la morbilidad obstétrica directa como resultado de complicaciones obstétricas relacionadas con el embarazo, parto y puerperio, de intervenciones, omisiones, tratamiento incorrecto, o de una cadena de acontecimientos que resulta de cualquiera de los anteriores. La definición de morbilidad obstétrica extrema, según RC Pattinson, es una complicación obstétrica severa que pone en riesgo la vida de la mujer y que requiere una intervención médica urgente para prevenir la muerte de la madre.³ La definición está claramente vinculada con la atención de la salud

por el sistema e implica que toda la morbilidad puede prevenirse. Este enfoque incluye las definiciones basadas en la atención, clínica, órganos y sistemas; sin embargo, no hay un patrón de referencia para definir la morbilidad obstétrica extrema, por eso depende del contexto local.^{4,5}

La prevalencia de morbilidad obstétrica extrema va en paralelo con las tasas de mortalidad materna. En los países industrializados, la prevalencia va de 0.05 a 1.7%. En los países en vías de industrialización, la prevalencia va de 0.6 a 8.5%.⁹ En una revisión sistemática de 30 estudios realizada en el año 2004 se encontró que entre las diferentes definiciones de morbilidad, la prevalencia estuvo entre 0.8 y 8.2% para la enfermedad de criterios específicos, 0.4 y 1.1% para órganos de acuerdo con el sistema de criterios y 0.1 y 3% para los estudios con criterios basados en la resolución.^{6,7,8}

OBJETIVO

Identificar las patologías obstétricas más estrechamente vinculadas con la morbilidad obstétrica extrema durante el periodo de estudio (1 de enero al 31 de diciembre de 2009).

MATERIAL Y MÉTODO

Estudio observacional, transversal y de revisión de los expedientes clínicos de mujeres atendidas por embarazo en el Hospital General Dr. Aurelio Valdivieso de los Servicios de Salud de Oaxaca entre enero y diciembre de 2009. Se identificaron los casos de morbilidad obstétrica extrema de acuerdo con los criterios de la FLASOG (enfermedad específica, insuficiencia orgánica e intervención). Se realizó estadística descriptiva de las variables poblacionales con análisis en búsqueda de asociación de las patologías con morbilidad obstétrica extrema. Cuando hubieron más de dos variables independientes se decidió, con base en la variable dependiente de tipo binario, realizar regresión logística para identificar cuál de las determinantes tiene mayor asociación y significación estadística con morbilidad obstétrica extrema. Este análisis se realizó con el programa SPSS 10, por modelo de regresión logística. Se buscaron los códigos relacionados con los padecimientos que pueden originar la morbilidad obstétrica extrema (preeclampsia severa, eclampsia, síndrome Hellp, preeclampsia leve, rotura uterina, hemorragia posparto, sepsis puerperal, histerectomía posparto, histerectomía poscesárea, etc.), y

las causas indirectas que pueden ocasionarla. En la décima revisión del CIE10, el sistema de clasificación estadística internacional de enfermedades y problemas relacionados con la salud se identifican las que cursaron con algún tipo de morbilidad relacionada con el embarazo parto y puerperio. Las que tuvieron morbilidad obstétrica extrema se agruparon y se obtuvieron los datos para estadística descriptiva en un formulario diseñado para este fin con base de datos de SPSS-10. Se clasificaron como sigue:

Grupo I: enfermedad específica. Se refiere a los signos y síntomas de un padecimiento descrito, incluye las morbilidades: preeclampsia severa (incluido HELLP), eclampsia, choque séptico y choque hipovolémico.

Grupo II: insuficiencia orgánica. Disfunción de un sistema orgánico no relacionado directamente con el que sufrió la lesión inicial. Incluye las siguientes afecciones: disfunción cardíaca, vascular, renal, hepática, metabólica, cerebral, respiratoria y de la coagulación.

Grupo III: intervención. Se refiere al tratamiento indicado a la paciente o a la intervención diferente de los procedimientos habituales que se requirió como terapéutica para resolver una complicación. Se incluyen las intervenciones quirúrgicas de urgencia en el postparto, postcesárea, o postaborto, transfusión de tres o más unidades de sangre o plasma relacionadas con un evento agudo que no sean originadas por los dos grupos anteriores.

RESULTADOS

Se evaluaron 9,178 expedientes de embarazadas que concluyeron con el nacimiento de un recién nacido vivo en 85.4% de los casos (7,845 pacientes). El restante 14.6% correspondió a 1,233 casos en los que el embarazo concluyó por pérdida gestacional temprana (mola, embarazo anembriónico, aborto espontáneo, etc.) o finalizado con óbito. Del total de nacidos vivos, 66% nació por parto y 34% por cesárea. De los nacidos por vía vaginal, 1.4% fueron distócicos por presentación pélvica, mala presentación o posición fetal o gemelar, que requirieron aplicación de fórceps o maniobras para el nacimiento. Se identificaron 3,596 expedientes en los que se documentó algún tipo de morbilidad, con prevalencia de 450 por cada 1,000 embarazos (45%). De ellos, 164 reunieron criterios para morbilidad obstétrica extrema con prevalencia de 2.1%. La probabilidad de complicación obstétrica extrema es de 21 por cada 1000 mujeres embarazadas que ingresaron al

Hospital General Dr. Aurelio Valdivieso en el año 2009. Al realizar la clasificación de acuerdo con los criterios de la FLASOG, 60.37% de los casos de morbilidad obstétrica extrema correspondieron al grupo de enfermedad específica, con prevalencia de 1.26%; 25% de los casos a cuidados, con prevalencia de 0.52% y 14.63% de los casos a insuficiencia orgánica, con prevalencia de 0.3% (Cuadro 1).

La relación que guarda la morbilidad obstétrica extrema con respecto a los 11 casos de mortalidad materna ocurridos en el hospital durante ese mismo año, da una razón de 14.9 casos de morbilidad obstétrica extrema por cada muerte relacionada con el embarazo, parto y puerperio.

La media de edad de las pacientes con morbilidad obstétrica extrema fue de 26.6 años con límites de 15 y 44 años. El grupo de edad más afectado fue el de menores de 20 años, con 28%, seguido del grupo de 21 a 25 años, con 24%. El grupo etario con menor afectación fue el de 41 a 45 años con 3%, seguido del grupo de 26 a 30 años con 11%. Más de la mitad de las mujeres afectadas correspondió a menores de 25 años. En relación con el número de embarazos la mediana fue de 2, con límite máximo de 11. El 46% de las pacientes cursaba con el primer embarazo cuando ocurrió el evento adverso, con el segundo embarazo 20% de las pacientes, con el tercer embarazo 10% de las pacientes y 24% de los pacientes estaba en el cuarto o más embarazos, las grandes multíparas (15%) tuvieron menos complicaciones.

La escolaridad de las pacientes con morbilidad obstétrica extrema mostró que 44% habían terminado la primaria o habían cursado algún grado, 29% cursaron secundaria o algún grado de ésta y sólo 15% de las pacientes tenía un nivel medio superior o más (preparatoria o carrera técnica con 21 casos y 6 casos con escolaridad de profesional o universitaria) y 11% no tenía ningún grado de escolaridad. Así, 84% de las pacientes cursaron estudios menores al tercer grado de secundaria.

El control prenatal que llevaron las pacientes del grupo de morbilidad obstétrica extrema fue deficiente en la mayoría de los casos. Más de la mitad de ellas (55%) acudió a una consulta de control prenatal durante el primer trimestre, con dos consultas 12% y sólo 1% con tres consultas. El restante 32% de las pacientes no visitaron algún médico durante el primer trimestre. El 87% de las pacientes tuvieron una o menos consultas de control prenatal en el primer trimestre. El control prenatal posterior al primer trimestre mostró que 20 pacientes (12%) no acudieron

Cuadro 1.

	<i>n</i>	<i>%</i>	<i>Edad gestacional</i>		<i>Núm. de consultas totales</i>		<i>Núm. de consultas. Primer Trimestre</i>		<i>Días en UCI</i>		<i>Núm. de transfusiones</i>	
			<i>Media</i>	<i>DE</i>	<i>Media</i>	<i>DE</i>	<i>Media</i>	<i>DE</i>	<i>Media</i>	<i>DE</i>	<i>Media</i>	<i>DE</i>
Enfermedad específica	99	60.37	36.19	3.92	4.49	2.38	0.8	0.65	0.58	1.9	0.73	2.18
Insuficiencia orgánica	24	14.63	33.25	6.23	3.83	2.63	0.71	0.55	1.04	2.96	1.08	2.32
Manejo	41	25.00	36.05	5.5	4.85	2.66	0.98	0.79	0.56	1.38	2.49	3.16
Total de casos	164		35.73	4.81	4.52	2.48	1.21	0.45	0.64	1.97	1.22	2.57

a consulta prenatal, mientras que la media de consultas recibidas fue 4.5 consultas por paciente. El 45% tuvieron control prenatal irregular (cuatro o menos consultas); el restante 55% tuvo control prenatal regular con cinco o más consultas durante el embarazo.

La media de la edad gestacional al momento de la finalización del embarazo fue de 35.70 semanas con desviación estándar de 4.81. En la mayoría de las pacientes las complicaciones ocurrieron entre las 37 y 40 semanas (52%), seguido por embarazos de 33 a 36 semanas (30%), mientras que en el grupo de 40 semanas y más sólo se concentró el 2% de los casos. La media de la edad gestacional en la que se presentó la complicación fue de 35.7 semanas. En total, más de 90% de los casos ocurrieron en la etapa de viabilidad fetal entre las 29 y 40 semanas.

Por lo que se refiere a la etapa de trabajo de parto en que sobrevino la complicación, 55% de los casos fueron anteparto, 12% durante el trabajo de parto, en 31% la complicación sobrevino durante postparto y 2% no se contabilizó porque se trató de embarazo molar, embarazo ectópico o no finalizó el embarazo en el momento en que ocurrió la complicación. De los casos de morbilidad obstétrica extrema que sí finalizaron, la vía más utilizada fue la abdominal (cesárea) con 80% de las pacientes. La terminación por parto se dio en 13% de las pacientes. El 6% (10 pacientes) se finalizó por legrado o no se concluyó el embarazo en el momento en que sobrevino la morbilidad. El 29% de las pacientes con morbilidad obstétrica extrema requirieron cirugía adicional. La más frecuente fue la histerectomía por complicaciones, luego de la cesárea con 22 pacientes. A ocho pacientes se les realizó legrado instrumentado y en otras cirugías nueve pacientes a las que se realizó aspirado manual endouterino, debido principalmente a retención de fragmentos placentarios.

La Unidad de Cuidados Intensivos reportó que sólo se admitieron 26 pacientes (16%) con morbilidad obstétrica

extrema y 138 (84%) se atendieron fuera de ella. El promedio de estancia fue 4.0 días. La estancia en días totales de hospitalización fue, en promedio, de 7.3 días, mientras que la estancia promedio en el servicio de Obstetricia fue de 1.8 a 2 días.

El resultado perinatal de los casos de morbilidad obstétrica extrema fue aceptable, 89% de los recién nacidos fueron vivos (146). Se obtuvieron ocho recién nacidos muertos (5%), el resto (6%) no se contabilizó porque se trató de casos de mola hidatiforme, embarazo ectópico o no fue concluida la gestación en el momento de la complicación.

El Hospital General Dr. Aurelio Valdivieso es de alta concentración y es el medio resolutorio del Estado, por lo que la mayoría de las pacientes llega de otras unidades de segundo nivel. De los 164 casos identificados, 65% (106 casos) fueron enviados de otras unidades, 35% (58 casos) llegaron espontáneamente para finalizar el embarazo o llevaron control prenatal en esa misma unidad. Como se atiende población abierta, la mayoría de los casos son mujeres sin protección social. Los datos obtenidos indican que de los 164 casos, a su ingreso sólo 17 pacientes (10%) tenían Seguro Popular, una paciente Régimen Especial y 146 pacientes (89%) no contaban con algún régimen de seguridad social.

En la Clasificación Internacional de Enfermedades (CIE-10) se buscaron los padecimientos relacionados con el embarazo, parto y puerperio, 136 casos fueron morbilidad relacionada con el embarazo y 28 no se relacionaron con el mismo. Por lo que se refiere a las directamente relacionadas, las principales fueron estados hipertensivos con 79 casos que corresponden a 47.7%, en segundo lugar los trastornos relacionados con hemorragias obstétricas, con 17.64% y en tercer lugar sepsis puerperal, con 11.09% (Figura 1).

De los casos de morbilidad obstétrica extrema de causa indirecta extraídos de CIE-10 fueron 28 casos. Los

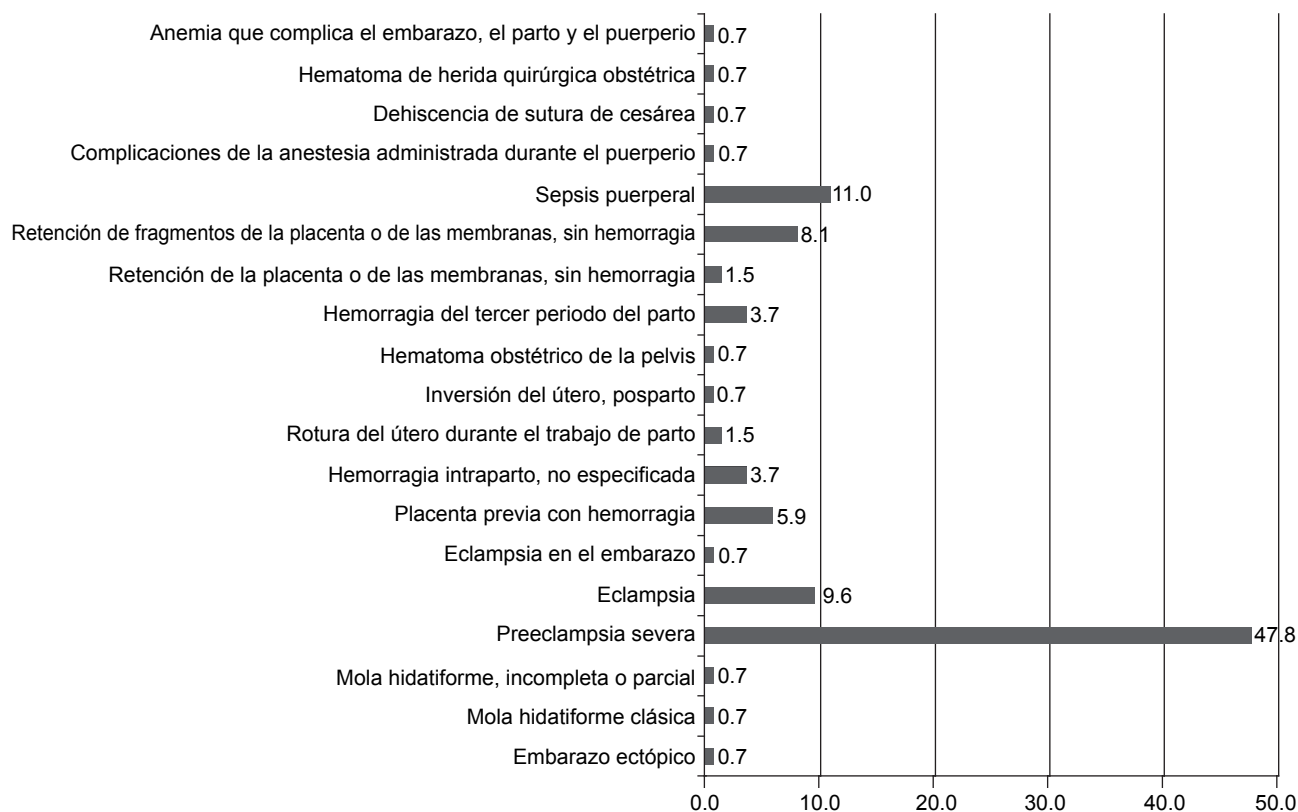


Figura 1. Causas directas para morbilidad obstétrica extrema.

más frecuentes fueron los padecimientos hematológicos, y la púrpura trombocitopénica idiopática la más citada (14.29%) (cuatro casos) y la trombocitopenia no especificada (10.71%) con tres casos (Figura 2).

Para el análisis, se conformaron tres grupos de determinantes: *a)* causa específica, *b)* insuficiencia orgánica y *c)* por manejo iniciado o realizado en la paciente. Para efectuar el análisis del estudio se tomaron en cuenta las morbilidades relacionadas con el embarazo de acuerdo con el CIE 10.

La prevalencia más alta fue para preeclampsia, englobada en enfermedad específica, fue de 39.63%, seguida de la morbilidad asociada con intervención quirúrgica (23.17%), como tercera causa el choque séptico, englobado en enfermedad específica (9.76%), como cuarta el choque hipovolémico (8.54%), englobado en enfermedad específica y como quinta causa los trastornos de la coagulación (6.71%) englobados en insuficiencia orgánica. Todas las enfermedades y sus porcentajes se muestran en la Figura 3.

Para evaluar la probabilidad de morbilidad obstétrica extrema se realizó un análisis de regresión logística para cada una de las determinantes. La mayor asociación fue con eclampsia e insuficiencia hepática, que obtuvieron la razón de momios y significación estadística más altas.

La asociación de morbilidad obstétrica extrema derivada de la intervención quirúrgica, a pesar de tener una prevalencia alta en el análisis, se mostró como un factor de protección. Otras variables sí mostraron asociación, pero no tuvieron significación y sus intervalos de confianza están por debajo de la unidad, como fue el caso de la insuficiencia renal, insuficiencia metabólica y transfusión sanguínea; el Cuadro 2 muestra los resultados.

DISCUSIÓN

La morbilidad obstétrica extrema es una forma de evaluar la calidad de la atención que se otorga, por eso se considera un indicador de salud en la población obstétrica. De

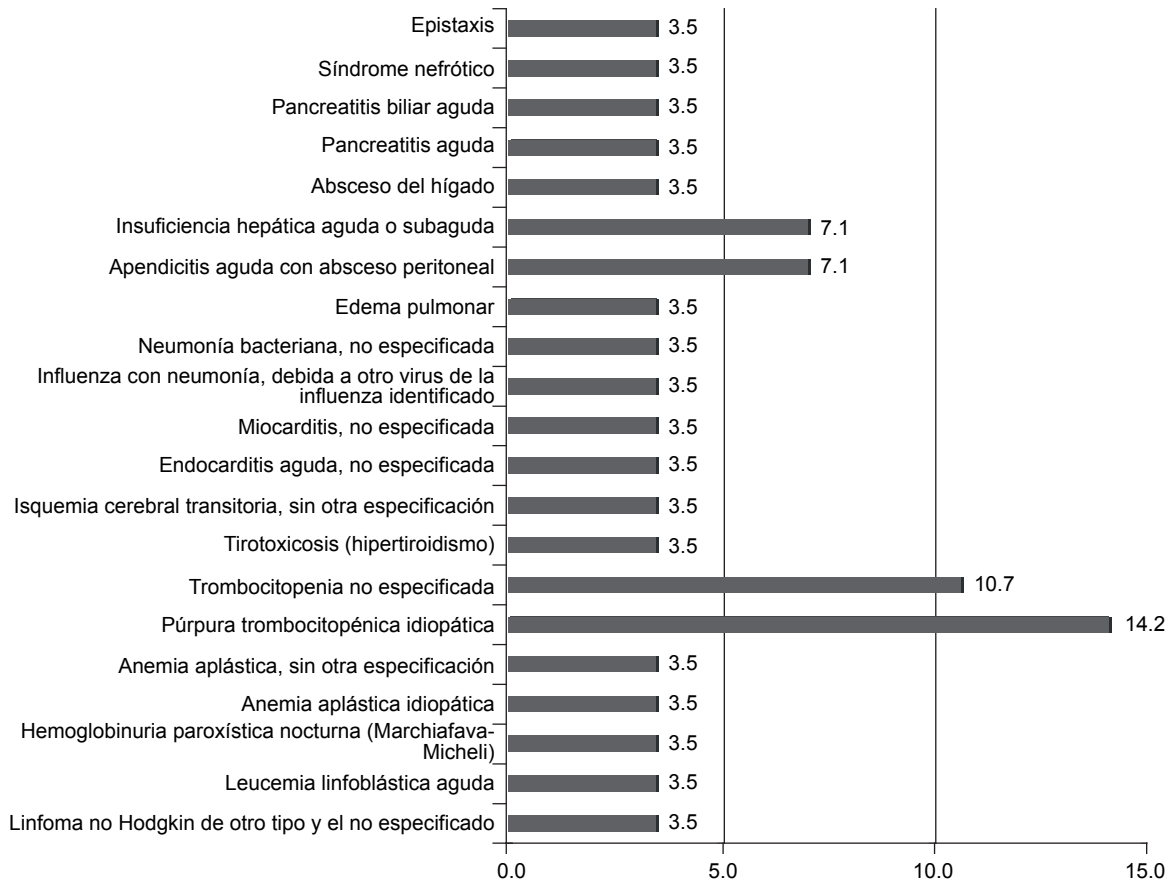


Figura 2. Causas indirectas de morbilidad obstétrica extrema.

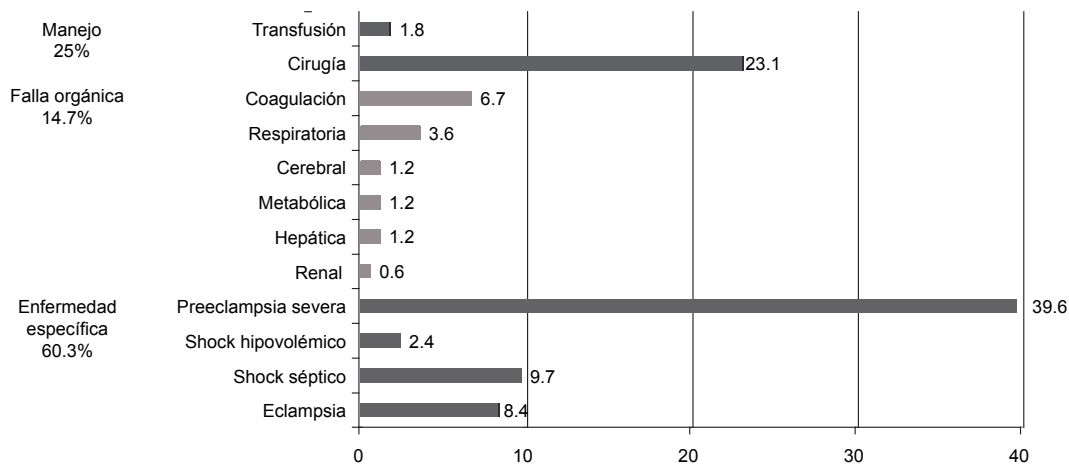


Figura 3. Enfermedades y sus porcentajes.

Cuadro 2. Variables asociadas con la morbilidad obstétrica

<i>Variable</i> Morbilidad	<i>Significancia</i>	<i>OR</i>	<i>IC 95%</i>	
			<i>Bajo</i>	<i>Alto</i>
Eclampsia	0.000	36.667	8.395	160.156
Choque séptico	0.492	1.560	0.439	5.551
Choque hipovolémico	0.731	0.764	0.165	3.539
Preeclampsia	0.009	4.864	1.474	16.049
Insuficiencia renal	0.103	9.167	0.637	131.961
Insuficiencia hepática	0.012	18.333	1.878	178.979
Insuficiencia metabólica	0.573	0.591	0.095	3.671
Insuficiencia cerebral	0.021	12.222	1.447	103.202
Insuficiencia respiratoria	0.002	11.000	2.356	51.362
Coagulación	0.003	8.067	2.068	31.471
Quirúrgica	0.030	0.264	0.079	0.882
Transfusión	0.113	2.584	0.800	8.345
CONST	0.000	0.055		

acuerdo con estimaciones de la ONU, las complicaciones maternas durante el embarazo, parto y puerperio aparecen incluso en 15% de todos los embarazos. En esta revisión, la morbilidad general fue de 45%, tres veces mayor que los reportes en otros estudios, debido a que el hospital es un centro de referencia de todos los hospitales de segundo nivel y básicos comunitarios con que cuenta el Estado. Las unidades de primer nivel lo utilizan para referencia de pacientes en las que se detectan complicaciones o factores de riesgo. La prevalencia de morbilidad obstétrica extrema en los países industrializados se encuentra entre 0.05 y 1.7%, en los países en vías de desarrollo es de entre 0.6 y 8.5%. En el Hospital General Dr. Aurelio Valdivieso de los Servicios de Salud de Oaxaca, durante el año 2009, la prevalencia fue de 2.1%. Este valor es el reportado en otros países en vías de industrialización e incluso se considera bajo de acuerdo con los datos de países en África o Bolivia.⁹ La prevalencia de acuerdo con los criterios de la FLASOG (enfermedad específica, insuficiencia orgánica y manejo) mostró en esta revisión datos similares a los reportados en la bibliografía, excepto del grupo de insuficiencia orgánica en el que la prevalencia fue menor a la reportada en el mundo.

El grupo más afectado fue el de jóvenes (menores de 25 años), en oposición a los reportes que indican que las mujeres mayores de 35 son las más afectadas por las complicaciones, esto debido a que en nuestro medio las mujeres inician la reproducción en edades más tempranas, de ahí derivan más embarazos y, por lo tanto, mayor probabilidad de complicaciones.

El 84% de las pacientes tenía educación secundaria o algún grado menor a la misma, y 11% no recibió algún tipo de escolaridad, lo que refleja lo reportado en 1990 cuando el riesgo de morir era ocho veces mayor para las mujeres sin escolaridad que para quienes cursaron la preparatoria.

También llama la atención que 89% de las pacientes no tenía algún tipo seguridad social, eso determinó que la morbilidad obstétrica extrema también se relacionara con los grupos más desprotegidos, íntimamente ligados al grado de desarrollo humano.

De acuerdo con los datos obtenidos, el grupo de enfermedad específica fue el que más contribuyó a la morbilidad obstétrica extrema, seguido por el de intervención, ambos similares a lo reportado en la bibliografía. Muchas de las complicaciones se relacionan con la vigilancia prenatal y la búsqueda intencionada de complicaciones del embarazo, estas mismas enfermedades son las que se encuentran como causa principal de mortalidad materna en el hospital y en el Estado.

También se observó que el intervencionismo origina más complicaciones que, en su mayor parte, son resueltas y no tuvieron asociación relevante. Sin embargo, la cadena de morbilidad que consume: personal, tiempo, espacios y material ya se inició, en ocasiones por procedimientos innecesarios, como las cesáreas sin indicación.

En el análisis de los padecimientos con mayor asociación con morbilidad obstétrica extrema se concluyó que la eclampsia y preeclampsia son dos de las de mayor vínculo con la enfermedad específica, mientras que las del grupo de

insuficiencia orgánica, aunque en menor frecuencia, tienen altas razones de momios. Por el contrario, la prevalencia de casos de complicaciones derivadas de intervenciones quirúrgicas no tuvo asociación significativa. En los países en vías de industrialización la principal complicación del embarazo sigue siendo la enfermedad hipertensiva inducida por el embarazo y sus complicaciones. Así como se encontró en este estudio, esas enfermedades contribuyen con 60% de los casos de muerte materna en el Hospital General Dr. Aurelio Valdivieso, según el reporte del comité, a diferencia de los países industrializados, donde la primera causa de muerte materna es la hemorragia o la trombosis (OMS). La púrpura trombocitopénica idiopática fue la más importante de las causas de insuficiencia orgánica, con cuatro casos, seguida de la trombocitopenia no especificada con tres casos. En el estudio realizado en Jamaica, la primera causa no obstétrica fue la enfermedad de células falciformes.⁹

CONCLUSIÓN

La morbilidad obstétrica extrema afecta a un importante grupo de pacientes que acuden a solicitar atención al Hospital General Dr. Aurelio Valdivieso. El principal problema, como en muchos lugares del mundo, son las complicaciones derivadas de la enfermedad hipertensiva inducida por el embarazo englobada en enfermedad específica, de acuerdo con criterios de la FLASOG y que se asocia significativamente con la morbilidad obstétrica extrema.

El grupo de enfermedad específica es el de la prevalencia más alta y todos los padecimientos que incluye se derivan del embarazo y pueden ser susceptibles de identificación en el control prenatal. Éste, es un factor de gran importancia porque la mitad de las pacientes no acudió a los servicios médicos para vigilancia del embarazo, circunstancia decisiva para poder identificar tempranamente las complicaciones e intervenir en la historia natural de la enfermedad. La mayoría de los casos se relacionaron con complicaciones del embarazo, parto y puerperio según el CIE 10. Por eso pudieron identificarse en etapas tempranas, lo que refleja deficiencias en esa consulta.

La edad es un factor no modificable. Se identificó que la mayoría de las pacientes con morbilidad obstétrica extrema eran jóvenes menores de 25 años. La única forma en la que puede incidirse es retrasando el momento del embarazo;

para esto, la mejor herramienta es la planificación familiar. La multiparidad se registró en menor proporción en los casos con complicaciones.

Los factores modificables se relacionan con el medio sociocultural propio de cada Estado, que pueden alterarse para mejorar algunas condiciones, como la escolaridad y el acceso a la asistencia social, ambas situaciones íntimamente ligadas al grado de desarrollo humano del Estado.

Es necesario que las pacientes con morbilidad obstétrica extrema se hospitalicen para atenderlas en unidades de terapia intensiva e intermedia. La falta de unidad de cuidados intensivos exclusiva para las áreas de Obstetricia puede incrementar las tasas de mortalidad materna. Solo 16% de las pacientes tuvieron acceso a este servicio, el resto se atendió en áreas inadecuadas, sin personal capacitado para controlar la eventualidad, como las salas de recuperación, cuartos para aislados y, a veces, salas comunes por falta de espacio físico en áreas críticas. Es necesario que todas las unidades hospitalarias que atienden pacientes obstétricas tengan la infraestructura física, tecnológica y de recursos humanos específicos para la atención de eventos de morbilidad obstétrica extrema.

REFERENCIAS

1. La Estrategia Nacional para Disminuir la Mortalidad Materna es un avance significativo para garantizar una maternidad segura. México: UNICEF, 28 de mayo de 2009.
2. XVI Conferencia Sanitaria Panamericana y LIV Sesión del Comité Regional. Estrategia regional para la reducción de la mortalidad y morbilidad maternas. Organización Panamericana de la Salud. Organización Mundial de la Salud, 2003.
3. Pattinson RC, Hall M. Near misses: a useful adjunct to maternal death enquiries. *British Medical Bulletin* 2003;67:231-247.
4. Oliveira Neto AF, et al. Factors associated with maternal death in women admitted to an intensive care unit with severe maternal morbidity. *Int J Gyn Obst* 2009;105:252-256.
5. Prual A, et al. Severe maternal morbidity from direct obstetric causes in West Africa: incidence and case fatality rates. *Bull of the WHO* 2000;78:593-602.
6. Burchett HE, Mayhew SH. Maternal mortality in low-income countries: What interventions have been evaluated and how should the evidence base be developed further? *Int J Gyn Obst* 2009;105:78-81.
7. Lale S, et al. WHO systematic review of maternal morbidity and mortality: the Prevalence of severe acute maternal morbidity (near miss). *Reproductive Health* 2004;1:3.
8. Cecatti C, et al. Research on severe maternal morbidities and near-misses in Brazil: what we have. *Learned Reproductive Health Matters* 2007;15(30):125-133.
9. Scarlett M, et al. Maternal mortality in patients admitted to an intensive care unit in Jamaica. *Int J Gyn Obst* 2009;105:169-179.

Impacto del envejecimiento masculino en la capacidad funcional del espermatozoide a través de la expresión de fosfatidil serina y oligonucleomas*

Alinne Colin-Valenzuela,* Nardhy Gómez-López,** Rosaura Ávila-Lombardo,**** Gerardo Barroso-Villa***

Nivel de evidencia: II-1

RESUMEN

Antecedentes: los procesos biomoleculares asociados con el envejecimiento y la muerte celular programada durante la espermatogénesis son bien conocidos, pero no su trascendencia biológica en el espermatozoide eyaculado, porque se ignora el comportamiento de estos marcadores apoptóticos en relación con la edad del hombre.

Objetivo: evaluar el efecto del envejecimiento en la capacidad funcional del espermatozoide y su relación con los procesos de muerte celular programada.

Material y método: estudio prospectivo, transversal y analítico efectuado con muestras seminales de 25 sujetos sanos de 20 a 70 años de edad, que se dividieron en dos grupos [(A: menores de 40 años) y (B: mayores de 40 años de edad)]. Se evaluaron los parámetros seminales OMS (1999) y los procesos de transformación biomolecular de membrana y la expresión por oligonucleosomas en la cascada terminal de apoptosis. Se cuantificaron por medio de citometría de flujo con láser de argón como fuente de lectura a 480 nm, discriminando los grados de celularidad negativa y positiva para cada uno de los indicadores.

Resultados: el porcentaje de células vivas con traslocación de fosfatidil serina en la membrana (anexina-V+/PI+) fue significativamente superior en los hombres mayores de 40 años ($p < 0.05$). Estos hallazgos se enriquecen con una correlación positiva y significativa ($r = 0.50$, $P < 0.008$), entre el biomarcador temprano y la edad de los sujetos. Respecto a la fragmentación del ADN, a pesar de no encontrarse diferencias estadísticamente significativas, sí se observó una tendencia clara de aumento conforme mayores eran los sujetos ($r = 0.51$).

Conclusiones: el incremento en la edad del hombre se asocia con aumento en la expresión de marcadores de apoptosis, lo que se demuestra por la mayor expresión de la traslocación de fosfatidil serina a nivel membranar. Así, este estudio confirma que la edad del sujeto se asocia con un declive en algunos de los parámetros seminales.

Palabras clave: espermatozoide, semen, apoptosis, anexina V, TUNEL, fragmentación del ADN.

ABSTRACT

Background: biomolecular processes associated with aging and programmed cell death during spermatogenesis are well known, but not its biological significance in ejaculated sperm, because it ignores the behavior of these apoptotic markers in relation to the age of man.

Objective: To evaluate the effect of aging on the functional capacity of sperm and their relationship to programmed cell death processes.

Material and methods: Prospective, cross-sectional and analytical performed with semen samples from 25 healthy subjects 20 to 70 years old, were divided into two groups [(A: under 40 years) and (B: over 40 years age)]. Semen parameters were evaluated WHO (1999) and transformation processes biomolecular membrane and the expression of oligonucleosomes in the terminal cascade of apoptosis. Were measured by flow cytometry with an argon laser as a source of reading at 480 nm, the degree of cellularity discriminate negative and positive for each of the indicators.

Results: The percentage of live cells with phosphatidylserine translocation in the membrane (annexin-V / PI) was significantly higher in men older than 40 years ($p < 0.05$). These findings are enriched with a significant positive correlation ($r = 0.50$, $P < 0.008$) between early biomarker and age of the subjects. With regard to DNA fragmentation, although no statistically significant differences were found, it is a clear trend of increase as older the subjects ($r = 0.51$).

Conclusions: The increasing age of the man is associated with increased expression of apoptosis, as demonstrated by the increased expression of phosphatidylserine translocation at the Membrane. Thus, this study confirms that the subject's age is associated with a decline in some of the seminal parameters.

Key words: sperm, semen, apoptosis, annexin V, TUNEL, DNA fragmentation.

RÉSUMÉ

Antécédents: les processus biomoléculaires associés au vieillissement et à la mort cellulaire programmée pendant la spermatogenèse sont bien connus, mais pas leur transcendance biologique sur le sperme éjaculé, car on ignore le comportement de ces marqueurs apoptotiques en relation avec l'âge de l'homme.

Objectif: évaluer l'effet du vieillissement dans la capacité fonctionnelle du spermatozoïde et sa relation avec les processus de mort cellulaire programmée.

Matériel et méthode: étude prospective, transversale et analytique effectuée avec des échantillons séminaux de 25 hommes en bonne santé de 20 à 70 ans, qui ont été classés en deux groupes [(A: mineurs de 40 ans) et B: majeurs de 40 ans]]. On a évalué les paramètres séminaux OMS (1999) et les processus de transformation biomoléculaire de membrane et l'expression par oligonucléosomes dans la cascade terminale d'apoptose. On a quantifié au moyen de cytométrie en flux avec laser d'argon comme source de lecture à 480 nm, en discriminant les degrés de cellularité négative et positive pour chacun des indicateurs.

Résultats: le pourcentage de cellules vivantes avec translocation de phosphatidylsérine dans la membrane (anexine-V+/PI+) a été significativement supérieur chez les hommes majeurs de 40 ans ($p < 0.05$). Ces découvertes s'enrichissent avec une corrélation positive et significative ($r = 0.50$, $P < 0.008$), entre le biomarqueur précoce et l'âge des hommes. Quant à la fragmentation de l'ADN, malgré le fait de n'avoir pas trouvé de différences statistiquement significatives, on a observé une claire tendance d'augmentation selon la supériorité d'âge des hommes ($r = 0.51$).

Conclusions: l'augmentation de l'âge de l'homme est associée avec une augmentation dans l'expression des marqueurs d'apoptose, ce qui se démontre avec la majeure expression de la translocation de phosphatidylsérine au niveau de la membrane. Ainsi, cette étude confirme que l'âge de l'homme est associé avec un déclin dans quelques paramètres séminaux.

Mots-clés: spermatozoïde, sperme, apoptose, anexine V, TUNEL, fragmentation de l'ADN.

RESUMO

Antecedentes: Os processos biomoleculares associados com o envelhecimento e a morte celular programada durante a espermatogênese são bem conhecidos, mas não a sua transcendência biológica no esperma ejaculado, porque se ignora o comportamento dos marcadores apoptóticos na relação com a idade do homem.

Objetivo: Avaliar o efeito do envelhecimento com a capacidade funcional do espermatozoide e sua relação com os processos de morte celular programada.

Material e método: Estudo prospectivo, transversal e analítico efetuado com amostras seminais de 25 pessoas saudáveis de 20 a 70 anos de idade, que foram divididos em dois grupos: [(A: menores de 40 anos) e (B: maiores de 40 anos de idade)]. Foram avaliados os parâmetros seminais OMS (1999) e os processos de transformações biomoleculares de membrana e a expressão por oligonucleossomas na cascata terminal de apoptoses. Foram quantificados por meio de citometria de fluxo com laser de argon como fonte de leitura a 480 nm, discriminando os graus de celularidade negativa e positiva para cada um dos indicadores.

Resultados: A porcentagem de células vivas com inversão de fosfatidil serina na membrana (anexina-V+/PI+) foi significativamente superior nos homens com mais de 40 anos ($p < 0,05$). Esses achados foram enriquecidos com uma correlação positiva e significativa ($r = 0,50$, $P < 0,008$), entre o biomarcador precoce e a idade dos pesquisados. Com respeito a fragmentação do DNA, apesar de não encontrar diferenças estatisticamente significativas, foi observado uma tendência clara de aumento conforme mais velhos eram os pesquisados ($r = 0,51$).

Conclusões: O incremento da idade do homem é associado com o aumento da expressão de marcadores de apoptoses, o que se demonstra pela maior expressão da inversão de fosfatidil serina a nível de membrana. Assim, este estudo confirma que a idade do homem pesquisado se associa com um declive em alguns dos parâmetros seminais.

Palavras-chave: espermatozoide, sêmen, apoptoses, anexina V, TUNEL, fragmentação de DNA.

* Residente de Biología de la Reproducción Humana.

** Adscrita a la Dirección de Investigación.

*** Investigador en Salud Reproductiva.
Instituto Nacional de Perinatología Isidro Espinosa de los Reyes

**** Dirección del laboratorio de Gametos, Centro de Reproducción Asistida Nascere.

Correspondencia: Dr. Gerardo Barroso. Instituto Nacional de Perinatología, Torre de Investigación, quinto piso. Montes Urales 800, colonia Lomas de Virreyes, México 11000, DF. Correo electrónico: barrosog@me.com

Recibido: agosto, 2010. Aprobado: octubre, 2010.

* Artículo premiado con el primer lugar al trabajo científico Dr. Alfonso Álvarez Bravo presentado en el LXI Congreso Mexicano de Ginecología y Obstetricia 2010, que se celebró en la ciudad de Chihuahua los pasados 26 al 30 de octubre.

Este artículo debe citarse como: Colin-Valenzuela A, Gómez-López N, Ávila-Lombardo R, Barroso-Villa G. Impacto del envejecimiento masculino en la capacidad funcional del espermatozoide a través de la expresión de fosfatidil serina y oligonucleomas. Ginecol Obstet Mex 2010;78(12):669-676.

www.nietoeditores.com.mx

Los procesos de muerte celular programada (apoptosis) se caracterizan por una serie de cambios morfológicos y bioquímicos que resultan en degradación celular sin respuesta inflamatoria.^{1,2} Al igual que en otros procesos fisiológicos y patológicos los reproductivos no son ajenos a estas vías de activación, lo que repercute en la capacidad reproductiva de hombres y mujeres.

En los últimos años ha habido interés en la participación de estos procesos apoptóticos en la espermatogénesis y en el desarrollo espermático tardío, lo que se refleja en la capacidad reproductiva final.^{3,4} Está demostrado que las alteraciones en los procesos apoptóticos se asocian con infertilidad masculina y con una elevada frecuencia de apoptosis en células germinales de tejido testicular en pacientes con azoospermia u oligozoospermia severa.^{5,6}

También se ha estudiado su participación en el espermatozoide maduro y en la calidad del semen eyaculado.⁷ Se ha correlacionado la activación de mecanismos apoptóticos con la calidad del semen,⁸ lo que sugiere que la identificación de marcadores apoptóticos puede ser un factor importante para evaluar la calidad seminal.

Para evaluar la expresión de la apoptosis en el espermatozoide existen diferentes técnicas que detectan el proceso apoptótico en etapas tempranas y las que lo detectan en etapas tardías. Uno de los métodos de detección temprana de apoptosis es la identificación de la fosfatidilserina en la capa externa de la membrana celular mediante la adición de anexina V, que es una proteína con afinidad por fosfolípidos dependientes de calcio, con alta afinidad por la fosfatidilserina, de modo tal que esta proteína indica el comienzo del proceso apoptótico.^{9,10}

La unión de anexina V con células apoptóticas puede detectarse con una tinción verde fluorescente con isotiocianato de fluoresceína que puede detectarse con citometría de flujo y microscopia fluorescente. A esta técnica se agrega yoduro de propidio, para obtener una tinción roja que diferencia las células necróticas de las viables con o sin translocación de fosfatidilserina.

Otra forma de identificar el proceso de apoptosis en etapas tempranas es mediante la detección de proteasas específicas de cisteína-aspartato o caspasas.¹¹ Éstas participan como transductores y efectores tempranos en las diferentes vías apoptóticas en células somáticas,¹² por lo que su detección mediante anticuerpos monoclonales indica el comienzo del proceso de muerte celular programada en forma muy inicial.

Las caspasas desempeñan un papel decisivo en la transducción de señales intracelulares en las células destinadas a la muerte programada;¹³ su activación ocurre por proteólisis o debido a la acción de otras proteínas.¹⁴ La unión de Fas-ligando en la membrana celular y el incremento de Bax/Bcl2 en la membrana mitocondrial inician la activación de las caspasas 8 y 9, respectivamente.¹⁵

Una vez activadas estas caspasas, la señal se transduce a las caspasas efectoras, incluidas las caspasas 3, 6 y 7.¹⁵ Estas enzimas degradan los sustratos celulares, incluidas las proteínas estructurales citoplasmáticas, como actina y citoqueratinas o proteínas nucleares, como poli (ADP ribosa), polimerasas (PARP) y laminasas.¹⁶⁻¹⁹ Al parecer, la caspasa 3 activa una dioxirribonucleasa (CAD, también llamada factor-40 de fragmentación de ADN o nucleasa activada por caspasa), que participa en la fragmentación del ADN.²⁰⁻²² Por eso la determinación de la caspasa 3, mediante anticuerpos monoclonales específicos, permite detectar la activación de la apoptosis.

Uno de los eventos tardíos y más representativos de la cascada apoptótica es la activación de endonucleasas endógenas que fragmentan el ADN y, por lo tanto, la liberación de grupos hidroxilo 3'. Esta propiedad es utilizada por el método de TUNEL para identificar células apoptóticas al marcar las terminales 3' hidroxilo con nucleótidos de desoxiuridina trifosfato, con algún compuesto, como fluoresceína (isotiocianato de fluoresceína -dUTP).²³

La enzima terminal dioxinucleotidil transferasa (TdT) cataliza la adición independiente (isotiocianato de fluoresceína -dUTP) a las terminales 3' hidroxil del ADN, por lo que en las células apoptóticas hay un número sustancial de estos sitios para su identificación mediante el método de TUNEL.

En la estimulación de la cascada apoptótica en el espermatozoide maduro se han asociado diferentes factores: radiación, tabaquismo,²⁴ hipertermia testicular,^{25, 26} quimioterapia, radioterapia,^{27, 28} inflamación del conducto genital²⁹ y criopreservación^{30, 31} seminal. Sin embargo, es poco lo que se conoce de la edad como un factor relacionado con el aumento en el número de células apoptóticas en el eyaculado.³²

Por lo que se refiere a los parámetros seminales, se ha observado que conforme la edad del hombre aumenta, disminuye significativamente la movilidad, morfología, concentración y volumen. En lo que concierne a la búsqueda de la relación de marcadores apoptóticos con la edad,

se han realizado pocos estudios y algunos autores concluyen que ésta disminuye conforme más edad se tiene.³³ Además, ninguno de ellos evalúa diferentes marcadores en el mismo estudio y no relacionan las concentraciones séricas de las diferentes hormonas relacionadas con los procesos apoptóticos.

Es necesario realizar un estudio con citometría de flujo que cuantifique estos marcadores biológicos relacionados con la apoptosis para definir el impacto de estos en el esquema reproductivo. Se pretende correlacionar los niveles de apoptosis con la edad y determinar si existe relación de las hormonas al evaluarlas con el envejecimiento de los hombres.

El efecto deletéreo del gameto masculino ha mostrado tener una repercusión decisiva en los procesos reproductivos, por eso se la ha relacionado, incluso, en 50% de los casos de infertilidad.

Esto expresa alteraciones en la función espermática, génica y en la expresión de aneuploidias durante los procesos de fertilización. Existe un efecto directo en la formación y desarrollo de pronúcleos y la participación del aparato mitótico, con consecuencias a corto y mediano plazo en el desarrollo embrionario.⁴³

A pesar de la evaluación de criterios morfológicos y de funcionalidad en los parámetros seminales (OMS, 1999) existe una variabilidad acentuada en la expresión de estos resultados que no necesariamente se relacionan con las condiciones reproductivas en el individuo.

Puesto que es poco conocido el efecto de la edad en los parámetros seminales es necesario investigar si existe un efecto deletéreo en la transmisión de enfermedades génicas y cromosómicas relacionadas con el daño progresivo del espermatozoide y cuantificarlo por medio de marcadores apoptóticos de membrana y nucleares.⁴³

En los últimos años, varios investigadores han reportado decremento en los parámetros seminales de sujetos de edad avanzada.

Recientemente se descubrió la apoptosis en espermatozoides maduros y se relacionó, en mayor medida, con pacientes infértiles. Sin embargo, su relación con la edad no se había descrita con exactitud, además de que existe controversia en cuanto a los resultados observados. Por eso es necesario realizar un estudio en el que se analice, con métodos más exactos, la relación de la edad del hombre con la calidad seminal por medio del estudio apoptótico de los espermatozoides maduros.

MATERIAL Y MÉTODO

Estudio prospectivo, transversal y analítico efectuado en el Instituto Nacional de Perinatología de marzo de 2008 a marzo de 2009 con muestras seminales de 25 sujetos sanos de 20 a 70 años de edad, que aceptaron participar en el estudio y que se dividieron en dos grupos [(A: menores de 40 años) y (B: mayores de 40 años de edad)]. Los sujetos de estudio tenían antecedente de fertilidad probada, espermocultivo negativo y no tenían enfermedades sistémicas.

Las muestras seminales se obtuvieron de pacientes voluntarios y se recolectaron con un periodo de abstinencia de 3 a 5 días. Se determinó su concentración, movilidad y morfología. Después de la licuefacción (30-45 minutos) de 5 µL de cada muestra se colocó en una cámara de Makler (Sefi Medical Instruments, Haifa, Israel) y se leyó en un microscopio de luz para motilidad y concentración espermática.

La morfología se evaluó de acuerdo con los criterios estrictos de Kruger. Cada muestra (10µL) se extendió en un portaobjetos y se dejó secar durante 20 minutos, antes de teñirse con la tinción Diff-Quick (Baxter Dade Diagnostics, Dubingen, Switzerland). Se leyeron, en promedio, 100 espermatozoides por extendido bajo microscopia de luz en un objetivo de inmersión 100X.

Finalmente, las muestras se conservaron a 37°C, 5% CO₂ en medio HFT y se analizaron, independientemente, para anexina V, anticuerpos anti-caspasa 3 y yoduro de propidio, además de método de TUNEL en la siguiente media hora.

Evaluación de la externalización de fosfatidil-serina con anexina V

La anexina V es una proteína con afinidad por fosfolípidos, dependiente de calcio y con alta afinidad por la fosfatidilserina, que refleja eventos apoptóticos tempranos. La unión de anexina V a células apoptóticas típicamente muestra una tinción verde fluorescente. Se agrega yoduro de propidio (tinción roja) para diferenciar células viables de las necróticas, y las células con translocación de fosfatidilserina muertas de las vivas con y sin translocación de fosfatidilserina.

Después de separar 10⁶ células de cada muestra (móvil y no móvil) se lavaron en PBS (buffer de solución salina fosfatada) y la muestra se centrifugó a 200 x g durante

cinco minutos. Las muestras se resuspendieron en 100 μ L de una solución con anexina-V marcada con fluoresceína y yoduro de propidio. La solución se prepara prediluyendo 20 μ de anexina-V-fluoresceína en 1 mL del buffer de incubación y 20 μ de la solución de yoduro de propidio. Se incuban durante 10-15 minutos a 15-25 °C.

Las muestras se analizan por citometría de flujo, previa adición de 0.5 mL de un buffer de incubación por 10^6 células. Las muestras se leen en el citómetro de flujo a 488 nm con un filtro de 515 nm para detectar anexina-V-fluoresceína y un filtro de más de 600 nm para detectar yoduro de propidio. Para evitar traslapaciones de los dos espectros emitidos se requiere compensación electrónica del instrumento.

Evaluación de apoptosis con el método de TUNEL

Uno de los eventos tardíos de la cascada apoptótica es la activación de endonucleasas endógenas que genera fragmentaciones en el ADN. El método TUNEL es capaz de detectar este tipo de células mediante la adición de una enzima terminal de desoxinucleotidil transferasa (TdT) para la incorporación de desoxinucleótidos marcados con isotiocianato de fluoresceína.

Para realizar el método de TUNEL se requiere hacerlo en dos etapas (fijación y tinción) con un equipo APO-DIRECT. El equipo incluye 5 mL de suspensiones celulares control positivas y negativas, de aproximadamente 1×10^6 células por mL en etanol 70% (v/v). Las células control se derivan de una línea celular de linfoma humano y se fijan como las células muestra que enseguida se explica.

Fijación

Las células en PBS-paraformaldehído al 1% se resuspenden a una concentración de $1-2 \times 10^6$ células/mL y la suspensión celular se suspende en hielo durante 30-60 minutos. Después, las células se centrifugan durante 5 minutos a 300 x g y se desecha el sobrenadante. Después, las células se lavan en 5 mL de PBS y se centrifugan para obtener el paquete celular (este paso se realizará en dos ocasiones).

Posteriormente, el paquete celular se resuspende en el PBS residual mediante agitación moderada en vortex. La concentración celular se ajusta a $1-2 \times 10^6$ células/mL en etanol al 70% (v/v) frío y se mantiene durante un mínimo de 30 minutos. Finalmente, las células se almacenan en etanol al 70% (v/v) a -20°C hasta su uso.

Tinción y análisis

Las células control positivas y negativas (6552LZ, 6553LZ) se resuspenden en sus respectivos viales. Se toma una alícuota de 1 mL de la suspensión de las células control (aproximadamente 1×10^6 células/1 mL) y se coloca en tubos de 12 x 75 mm para citometría de flujo. Se centrifugan a 300 x g durante cinco minutos y el etanol al 70% (V/V) se remueve por aspiración, sin alterar el paquete celular. Cada tubo de células control se resuspende con 1 mL del buffer de lavado (6548AZ), se centrifuga a 300 x g durante cinco minutos y el sobrenadante se remueve.

El tratamiento de lavado se repite y después cada paquete celular control se resuspende con 50 μ L de la solución de tinción (el buffer de reacción para la enzima TdT contiene la enzima TdT, fluoresceína conjugada con dUTP [6549AZ, 6554EZ, 6555EZ] y agua destilada).

Enseguida, se incuban las células en la solución de tinción durante 60 minutos a 37 °C y, al finalizar el periodo de incubación, se añade 1 mL del buffer de enjuague (0.05% azida de sodio 6550AZ) a cada tubo. Se centrifuga a 300 xg durante cinco minutos y se remueve el sobrenadante por aspiración (en dos ocasiones). Enseguida, el paquete celular se resuspende en 0.5 mL del buffer de tinción, con yoduro de propidio/RNasa (6551AZ) y las células se incuban en la oscuridad durante 30 minutos a temperatura ambiente. Finalmente, las células se analizan en la solución de yoduro de propidio/RNasa por citometría de flujo después de tres horas de haber concluido la tinción.

El análisis estadístico se realizó con el programa SPSS versión 17. Para la descripción de las variables cuantitativas se utilizaron medidas de tendencia central. La comparación de los grupos se realizó mediante prueba de la T de Student y Kruskal Wallis, según fuera apropiado. Las correlaciones se determinaron con rho de Spearman y regresiones logísticas simples.

RESULTADOS

Para el análisis las muestras seminales se dividieron en dos grupos: *A*: hombres menores de 40 años y *B*: mayores de 40 años de edad, con promedio de edad para el primer grupo de 28 ± 3 años de edad y para el segundo grupo de 54 ± 8 años de edad.

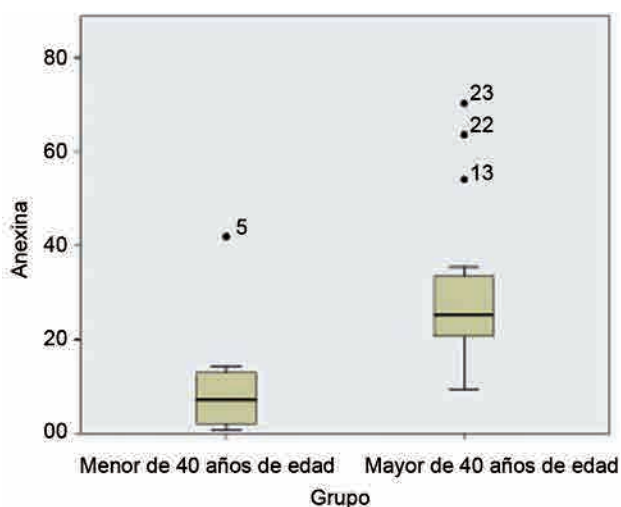
En el Cuadro 1 se presentan los parámetros seminales básicos. Se encontraron diferencias significativas entre

Cuadro 1. Parámetros seminales

		Media	Desviación estándar	P
Movilidad A	Menor 40 años	11.818	9.3895	.05
	Mayor 40 años	5.867	5.8538	
Movilidad B	Menor 40 años	64.2727	25.74137	NS
	Mayor 40 años	61.1333	25.18182	
Movilidad C	Menor 40 años	16.5455	32.11344	NS
	Mayor 40 años	5.6667	3.97612	
Movilidad D	Menor 40 años	7.4545	9.37405	NS
	Mayor 40 años	22.6000	25.11346	
Morfología	Menor 40 años	8.73	3.289	NS
	Mayor 40 años	6.73	2.492	
Concentración	Menor 40 años	74.000	48.4624	NS
	Mayor 40 años	50.133	39.0400	
Volumen	Menor 40 años	.8182	.25226	NS
	Mayor 40 años	.8333	.24398	

Cuadro 2. Marcadores de apoptosis

Marcador	Grupo	Promedio	Desviación estándar	P
Tunel	Menor 40	19.0273	14.9	NS
	Mayor 40	26.7267	16.7	
Anexina	Menor 40	9.8455	11.7	.002
	Mayor 40	30.7000	18.2	

**Figura 1.** Celularidad positiva para anexina V en sujetos mayores y menores de 40 años de edad.

los grupos de movilidad espermática rápida progresiva ($p < 0.05$), con un declive obvio conforme se incrementa la edad. En el resto de los parámetros no se alcanzó significación estadística; sin embargo, sí se observa una tendencia a su decremento conforme avanza la edad. Estos resultados se soportan con correlaciones positivas para la concentración, movilidad y morfología con los siguientes resultados: ($r = -.52$, $P < 0.01$), ($r = -.67$, $P < 0.01$) y ($r = -.47$, $P < 0.05$), respectivamente.

La expresión de biomarcadores de apoptosis se determinó mediante citometría de flujo y se recabaron los porcentajes de células anexina V+.

Para los marcadores de apoptosis se encontró una diferencia significativa para la expresión de anexina. Para la determinación de fragmentación del ADN se observó una clara tendencia al aumento de su expresión en hombres mayores de 40 años de edad; sin embargo, no se alcanzó la significación estadística para estos biomarcadores. Sus promedios se incluyen en el Cuadro 2.

En la Figura 1 se esquematiza mediante un gráfico de caja y bigote la celularidad positiva para anexina V.

CONCLUSIONES

La evaluación del espermatozoide estaba limitada a su observación en muestras “crudas” o sometidas a un proceso de capacitación. Las conclusiones de esa evaluación indicaban un deterioro de los parámetros seminales (movilidad, concentración, morfología) conforme mayor es la edad del hombre; esas observaciones coinciden con las encontradas en este estudio.^{34-37, 42}

En la última década se han evaluado los estudios realizados para valorar la funcionalidad en los procesos relacionados con el componente espermático a través de la expresión de marcadores apoptóticos.^{38,39,40} Esto ha mostrado que los procesos tempranos y tardíos influyen no solo en la capacidad de fertilización, proceso preimplantatorio y desarrollo embrionario, sino también en la transmisión de enfermedades génicas relacionadas con alteraciones en el cromosoma Y.

Hoy se sabe que la evaluación en el grado de fragmentación de ADN en el espermatozoide tiene una repercusión directa en los procesos de fertilización, lo que ha quedado demostrado clínicamente en pacientes con inseminación intrauterina, fertilización *in vitro* e inyección intracitoplasmática.^{41,42}

Para el reconocimiento de la activación de la cascada apoptótica en el espermatozoide se han descrito varios procedimientos, como la traslocación de fofatidil serina, activación de caspasas (fas ligando de fas, caspasa 3 activada) y formación de oligonucleosomas. Todos estos han sido auxiliares diagnósticos en la evaluación de la función del espermatozoide.¹¹⁻¹⁵

Sin embargo, la mayor parte de los hallazgos mencionados se encontró y evaluó en población masculina infértil y en edad reproductiva. Por eso el objetivo de este estudio fue analizar el comportamiento de dos marcadores de apoptosis en sujetos fértiles y su comportamiento conforme se incrementa la edad.

En la bibliografía revisada no se encontró un estudio previo que realizara estas comparaciones, de forma que con nuestros resultados se demuestra que el incremento en la edad del hombre se relaciona con mayor expresión de marcadores de apoptosis temprana, y al parecer el punto de corte para dicho incremento son los 40 años de edad. Respecto a los marcadores tardíos, a pesar de no haber diferencias significativas, sí se observa una tendencia hacia su incremento en los hombres mayores de 40 años.

La importancia de lo anterior radica en el conocimiento actual de la disfunción del espermatozoide como la causa más frecuente de infertilidad. Sin embargo, el diagnóstico patogénico y fisiopatológico es pobre. Si se excluyen las TRA no hay, en general, tratamiento adecuado.⁴³ La información genética provista por el espermatozoide está regulada a distintos niveles epigenéticos, incluidas las modificaciones del ADN mediante impronta, códigos de histonas y zonas asociadas, y quizá organización espacial cromosómica; pero el gameto masculino no debe ser más visto como un simple portador de información genética. Por estos motivos es fundamental que la investigación clínica se dirija al análisis de las causas etiológicas resultantes en lesiones y disfunciones del gameto masculino a nivel bioquímico, molecular y genético, y al esclarecimiento de sus contribuciones más allá de la fertilización, incluidas las posibles repercusiones en los procesos de implantación, placentación y la salud de la progenie.

Por último, consideramos que para darle mayor fuerza a estos resultados, resultaría prudente incrementar el tamaño de la muestra y analizar el comportamiento de marcadores apoptóticos seminales, determinados de forma longitudinal.

REFERENCIAS

1. Kerr J, Wyllie A, Currie AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer* 1972;26:239-257.
2. Wyllie A. Glucocorticoid-induced thymocyte apoptosis is associated with endogenous endonuclease activation. *Nature* 1980;284:555-556.
3. Print C, Loveland K. Germ cell suicide: new insights into apoptosis during spermatogenesis. *Bioessays* 2000;22:423-430.
4. Kierzenbaum A. Apoptosis during spermatogenesis: the thrill of being alive. *Mol Reprod Dev* 2001;58:1-3.
5. Lin W, Lamb D, Wheeler T, Lipshult L, Kim E. In situ end-labeling of human testicular tissue demonstrates increased apoptosis in conditions of abnormal spermatogenesis. *Fertil Steril* 1997;68:1065-1069.
6. Sinha Hikim A, Wang C, Lue Y, Johnson L, et al. Spontaneous germ cell apoptosis in human: evidence for ethnic differences in the susceptibility of germ cells to programmed cell death. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;83:152-156.
7. Baccetti B, Collodel G, Piomboni P. Apoptosis in human ejaculated sperm cells. *J Submicrosc Cytol Pathol* 1996;28:587-596.
8. Han-Ming S, Jun D, Sin-Eng C, Alvin L, Choon-Nam O. Detection of apoptotic alterations in sperm in subfertile patients and their correlations with sperm quality. *Hum Reprod* 2002;17(5):1266-1273.
9. Barroso G, Morshedi M, Oehninger S. Analysis of DNA fragmentation, plasma membrane translocation of phosphatidylserine and oxidative stress in human spermatozoa. *Hum Reprod* 2000;15: 1338-1344.
10. Oosterhuis G, Mulder A, Kalsbeek-Batenburg E, Lamblak C, et al. Measuring apoptosis in human spermatozoa: a biological assay for semen quality? *Fertil Steril* 2000;74:245-250.
11. Thornberry NA, Lazebnik Y. Caspases: enemies within. *Science* 1998;281:1312-1316.
12. Wolf B, Green D. Suicidal tendencies: apoptotic cell death by caspase family proteinases. *J Biol Chem* 1999;274:20049-20052.
13. Earnshaw W, Martins L, Kaufmann S. Mammalian caspases: structure, activation, substrates, and functions during apoptosis. *Annu Rev Biochem* 1999;68:383-424.
14. Villa P, Kaufmann S, Earnshaw W. Caspases and caspase inhibitors. *Trends Biochem Sci* 1997; 22:388-393.
15. Nunez G, Benedict M, Hu Y, Inohara N. Caspases: the proteases of the apoptotic pathway. *Oncogene* 1998;17:3237-3245.
16. Mashima T, Naito M, Noguchi K, Miller DK, et al. Actin cleavage by CPP-32/apopain during the development of apoptosis. *Oncogene* 1997;14:1007-1012.
17. Caulin C, Salvesen GS, Oshima RG. Caspase cleavage of keratin 18 and reorganization of intermediate filaments during epithelial cell apoptosis. *J Cell Biol* 1997;138:1379-1394.
18. Tewari M, Quan LT, O'Rourke K, et al. Yama/CPP32, a mammalian homolog of CED-3, is a CrmA-inhibitable protease that cleaves the death substrate poly (ADP-ribose) polymerase. *Cell* 1995;81:801-809.
19. Takahashi A, Alnemri ES, Lazebnik YA, et al. Cleavage of lamin A by Mch2_ but not CPP32: multiple interleukin 1_α-converting enzyme-related proteases with distinct substrate recognition properties are active in apoptosis. *Proc Natl Acad Sci* 1996;93:8395-8400.

20. Enari M, Sakahira H, Yokoyama H, Okawa K, et al. A caspase-activated DNase that degrades DNA during apoptosis, and its inhibitor ICAD. *Nature* 1999;391:43-50.
21. Liu X, Li P, Widlak P. The 40-kDa subunit of DNA fragmentation factor induces DNA fragmentation and chromatin condensation during apoptosis. *Proc Natl Acad Sci* 1998;95:8461-8466.
22. Halenbeck R, MacDonald H, Roulston A, Chen TT, et al. CPAN, a human nuclease regulated by the caspase-sensitive inhibitor DFF45. *Curr Biol* 1998; 8:537-540.
23. Gavrieli Y, Sherman Y, Ben-Sasson S. Identification of programmed cell death in situ via specific labeling of nuclear DNA fragmentation. *J Cell Biol* 1992;119:493-501.
24. Potts R, Newbury C, Smith G. Sperm chromatin damage associated with male smoking. *Mutat Res* 1999; 423:103-111.
25. Sailer B, Sarkar L, Bjordahl J, et al. Effects of heat stress on mouse testicular cells and sperm chromatin structure. *J Androl* 1997;18:294-301.
26. Banks S, King S, Irvine D, et al. Impact of a mild scrotal heat stress on DNA integrity in murine spermatozoa. *Reproduction* 2005;129:505-514.
27. Morris I. Sperm DNA damage and cancer treatment. *Int J Androl* 2002;25:255-261.
28. Sailer B, Jost L, Erickson K, et al. Effects of X-irradiation on mouse testicular cells and sperm chromatin structure. *Environ Mol Mutagen* 1995;25:23-30.
29. Erenpreiss J, Hlevicka S, Zalkalns J, et al. Effect of leukocytospermia on sperm DNA integrity: a negative effect in abnormal semen samples. *J Androl* 2002;23:717-723.
30. Duru N, Mahmood M, Schuffner A, Oehninger S. Criopreservation-thawing of fractionated human spermatozoa and plasma membrane translocation of phosphatidylserine. *Fertil Steril* 2001;75:263-268.
31. Critser J, Arneson B, Asker D, Huse-Benda A, Ball GD. Cryopreservation of human spermatozoa. II. Post-thaw chronology on motility and on zone-free hamster ova penetration. *Fertil Steril* 1987;47:980-984.
32. O'Brien J, Zini A. Sperm and DNA integrity and male infertility. *Urology* 2005;65:16-22.
33. Singh N, Muller C, Berger R. Effects of age on DNA double-strand breaks and apoptosis in human sperm. *Fertil Steril* 2003;80:1420-1430.
34. Kidd S, Eskenazi B, Wyrobek A. Effects of male age on semen quality and fertility: a review of the literature. *Fertil Steril* 2001;75:237-248.
35. Chia S, Lim S, Tay S, Lim S. Factors associated with male infertility: a case-control study of 218 infertile and 240 fertile men. *BJOG* 2000;107:55-61.
36. Hassan M, Killick S. Effect of male age on fertility: evidence for the decline in male fertility with increasing age. *Fertil Steril* 2000;79:1520-1527.
37. Chen Z, Toth T, Godfrey L, Mercedat N, et al. Seasonal variation and age-related changes in human semen parameters. *J Androl* 2003;24:226-231.
38. Chen Z, Hauser R, Trbovich A, Shifren J, Dorer D. The relationship between, human semen characteristics and sperm apoptosis: a pilot study. *J Androl* 2006;27:112-120.
39. Ricci G, Pericarari S, Boscolo R, Montico M, Guashino S. Semen preparation methods and sperm apoptosis swim up versus gradient-density centrifugation technique. *Fertil Steril* 2008. In Press.
40. Hoogendijk C, Kruger T, Bouic P, Henkel R. A novel approach for the selection of human sperm using annexin V-binding and flow cytometry. *Fertil Steril* 2008. In Press.
41. Avendaño C, Franchi A, Taylor S, Morshedi M, Bocca S, Oehninger S. Fragmentation of DNA in morphologically normal human spermatozoa. *Fertil Steril* 2009;91:1077-84.
42. Cohen-Bacrie P, Belloc S, Menezo Y, Clement P, et al. Correlation between DNA damage and sperm parameters: a prospective study of 1,633 patients. *Fertil Steril* 2008. In Press.
43. Barroso G, Valdespin C, Vega E, Kershenovich R, et al. Developmental sperm contributions: fertilization and beyond. *Fertil Steril* 2009;92:835-848.

Expresión de moléculas de adhesión celular en la interfase materno fetal al término de la gestación humana*

Rodrigo Vega-Sánchez,* Elizabeth de Jesús-Torres,* Marcia Arenas-Hernández,* Jorge Beltrán-Montoya,** Rolando Maida-Claros,*** Guadalupe Estrada-Gutiérrez,**** Felipe Vadillo-Ortega¹

Nivel de evidencia: II-1

RESUMEN

Antecedentes: el trabajo de parto humano es un proceso de tipo inflamatorio modulado por leucocitos que invaden los tejidos gestacionales. El incremento local de moléculas de adhesión celular (CAMs) favorece la permanencia de estos leucocitos en la coriodecidua. Los tejidos gestacionales expresan ICAM-1, mientras que los leucocitos circulantes expresan su ligando Mac-1.

Objetivo: analizar, primero, si la expresión de CAMs en las membranas fetales está asociada al progreso de la edad gestacional; y, segundo, la expresión de CAMs en los leucocitos de la circulación intrauterina (placenta).

Material y método: estudio cerrado realizado en el Instituto Nacional de Perinatología Isidro Espinosa de los Reyes. Se incluyeron muestras provenientes de mujeres sanas de entre 15 y 44 años de edad con embarazos a término (≥ 37 semanas de gestación).

Resultados: el análisis por PCR en tiempo real mostró que la expresión de CAMs en las membranas fetales permaneció constante antes del trabajo de parto. ICAM1 e ICAM3 mostraron una tendencia al incremento durante el trabajo de parto, mientras que ICAM2, VCAM1, SELP y SELE disminuyeron conforme avanzaba la edad gestacional. Los leucocitos placentarios mostraron un claro incremento en la expresión de ITGAM (Mac-1) durante el trabajo de parto.

Conclusiones: estos resultados muestran que en la interfase materno-fetal se expresa una combinación específica de CAMs durante el trabajo de parto, incluidos ICAM-1, ICAM-3 y Mac-1. La expresión de estas moléculas podría promover la permanencia de los leucocitos en los tejidos locales para modular el microambiente inflamatorio local durante el trabajo de parto humano.

Palabra clave: adhesión celular, CAMs, trabajo de parto, leucocitos.

ABSTRACT

Background: The human labor is an inflammatory process invading leukocytes modulated by gestational tissues. The local increase of cell adhesion molecules (CAMs) promotes the permanence of these leukocytes in the coriodecidua. Gestational tissues express ICAM-1, while circulating leukocytes expressing its ligand Mac-1.

Objective: To analyze, first, if the expression of CAMs in the fetal membranes is associated with progress of gestational age, and second, the expression of CAMs on circulating leukocytes in the uterus (placenta).

Material and method: original and closed study conducted at the Instituto Nacional de Perinatología Isidro Espinosa de los Reyes (Mexico City). We included samples from healthy women between 15 and 44 years of age with term pregnancies (≥ 37 weeks gestation).

Results: Real time PCR analysis showed that the expression of CAMs in the fetal membranes remained constant before labor. ICAM3 and ICAM1 tended to increase during labor, while ICAM2, VCAM1, SELE and SELP decrease with advancing gestational age. Placental leukocytes showed a clear increase in the expression of ITGAM (Mac-1) during labor.

Conclusions: These results show that the maternal-fetal interface expresses a specific combination of CAMs during labor, including ICAM-1, ICAM-3 and Mac-1. The expression of these molecules could promote the retention of leukocytes in the local tissues to modulate the local inflammatory microenvironment during human labor.

Key words: cell adhesion molecules, CAMs, labor, leukocytes.

RÉSUMÉ

Antécédents: le travail d'accouchement humain est un processus de type inflammatoire modulé par leucocytes qui envahissent les tissus gestatoires. L'augmentation locale de molécules d'adhésion cellulaire (CAMs) favorise la permanence de ces leucocytes dans la chorio-décidue. Les tissus gestatoires expriment ICAM-1, tandis que les leucocytes circulants expriment leur ligand Mac-1.

Objectif: analyser, d'abord, si l'expression de CAMs dans les membranes fœtales est associée au progrès de l'âge gestatoire; et, après, l'expression de CAMs en leucocytes présents dans la circulation intra-utérine (placenta).

Matériel et méthode: étude originelle et fermée, réalisée à l'Institut National de Périnatalogie Isidro Espinosa de los Reyes (à Mexico). On a inclus des échantillons provenant de femmes en bonne santé d'entre 15 et 44 ans avec grossesses à terme (≥ 37 semaines de gestation).

Résultats: l'analyse par PCR temps réel a montré que l'expression de CAMs dans les membranes fœtales est restée constante avant le travail d'accouchement. ICAM1 et ICAM3 ont montré une tendance à augmenter pendant le travail d'accouchement, tandis qu'ICAM2, VCAM1, SELP et SELE ont diminué selon l'avancement de l'âge gestatoire. Les leucocytes placentaires ont montré une claire augmentation dans l'expression d'ITGAM (Mac-1) pendant le travail d'accouchement.

Conclusions: ces résultats montrent que dans l'interphase materno-fœtale s'exprime un mélange spécifique de CAMs pendant le travail d'accouchement, inclus ICAM-1, ICAM-3 et Mac-1. L'expression de ces molécules pourrait promouvoir la permanence des leucocytes dans les tissus locaux pour moduler le microenvironnement inflammatoire local pendant le travail d'accouchement humain.

Mots-clés: adhésion cellulaire, CAMs, travail d'accouchement, leucocytes.

RESUMO

Antecedentes: O trabalho de parto humano é um processo do tipo inflamatório modulado por leucócitos que invadem os tecidos gestacionais. O incremento local de moléculas de adesão celular (CAMs) favorece a permanência desses leucócitos na córion-decidual. Os tecidos gestacionais expressam ICAM-1, enquanto que os leucócitos circulantes expressam ligando Mac-1.

Objetivo: Analisar. Primeiro, se a expressão de CAMs nas membranas fetais está associada ao progresso de idade gestacional; segundo, se a expressão de CAMs em leucócitos existentes na circulação intra-uterina (placenta).

Material e método: Estudo original e fechado realizado no Instituto Nacional de Perinatologia Isidro Espinosa dos Reyes (México-DF). Foram incluídas amostras provenientes de mulheres saudáveis dentre 15 e 44 anos de idade com gestações a término (≥ 37 semanas de gestação).

Resultados: A análise por PCR tempo real mostrou que a expressão de CAMs nas membranas fetais permaneceu constante antes do trabalho de parto. ICAM2, VCAM1, SELP e SELE diminuíram conforme avançava a idade gestacional. Os leucócitos placentários mostraram um claro incremento na expressão de ITGAM (Mac-1) durante o trabalho de parto.

Conclusões: Esses resultados mostram que a interfase materno-fetal expressa uma combinação específica de CAMs durante o trabalho de parto, incluídos ICAM1, ICAM3 e Mac-1. A expressão dessas moléculas poderia promover a permanência dos leucócitos nos tecidos locais para modular o micro-ambiente inflamatório local durante o trabalho de parto humano.

Palavras-chave: adesão celular, CAMs, trabalho de parto, leucócitos.

* Departamento de Investigación en Nutrición.

** Unidad de Tococirugía.

*** Departamento de Neonatología.

**** Departamento de Infectología.

Instituto Nacional de Perinatología Isidro Espinosa de los Reyes, México, DF.

¹ Departamento de Medicina Experimental, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México, México, DF.

Correspondencia: Dr. Rodrigo Vega Sánchez. Subdirección de Investigación en Salud Pública, Instituto Nacional de Perinatología Isidro Espinosa de los Reyes. Montes Urales 800, colonia Lomas Virreyes, Mexico 11000, DF. Correo electrónico: r.vega@servidor.inper.edu.mx

Recibido: agosto, 2010. Aprobado: octubre, 2010.

* Artículo premiado con el segundo lugar al trabajo científico Dr. Alfonso Álvarez Bravo presentado en el LXI Congreso Mexicano de Ginecología y Obstetricia 2010, que se celebró en la ciudad de Chihuahua los pasados 26 al 30 de octubre.

Este artículo debe citarse como: Vega-Sánchez R, De Jesús-Torres E, Arenas-Hernández M, Beltrán-Montoya J y col. Expresión de moléculas de adhesión celular en la interfase materno fetal al término de la gestación humana. Ginecol Obstet Mex 2010;78(12):677-684.

www.nietoeditores.com.mx

Diversas evidencias indican que el trabajo de parto normal en la mujer es un proceso inflamatorio, caracterizado por el aumento local de diversas moléculas efectoras: citocinas proinflamatorias, quimiocinas, prostaglandinas y metaloproteasas de matriz extracelular.¹ Se ha propuesto que la mayor cantidad de estas moléculas proviene del infiltrado leucocitario que invade los tejidos gestacionales durante el trabajo de parto, aun en ausencia de infección.^{2,3}

Recientemente describimos que las membranas fetales pueden inducir quimiotaxis de leucocitos durante el trabajo de parto, y que los leucocitos de la sangre placentaria poseen mayor perfil proinflamatorio que los leucocitos de sangre periférica materna.⁴⁻⁶ Estos hallazgos sugieren que durante el trabajo de parto normal los leucocitos son reclutados al compartimiento coriodecidual, donde podrían modular el proceso inflamatorio local.

La permanencia de leucocitos en la coriodecidea debe estar favorecida por el incremento local de moléculas de

adhesión celular (CAMs, por sus siglas en inglés). La molécula de adhesión intercelular 1 (ICAM-1) es la más estudiada en este contexto. Su expresión se incrementa en las células endoteliales de la placenta, en el amnios y en la coriodecidua con el trabajo de parto; incluso, se ha descrito que tiene cierto valor predictivo para parto pretérmino al medirse en el líquido cervicovaginal.⁷⁻¹¹

El análisis de CAMs en los leucocitos de sangre periférica materna ha mostrado cambios relacionados con el trabajo de parto. Se han estudiado la selectina L (CD62L), que participa en las primeras interacciones de los leucocitos con el endotelio vascular y las integrinas LFA-1 (CD11a) y Mac-1 (CD11b), que son los ligandos o correceptores de la molécula ICAM-1 y, por tanto, constituyen el complemento indispensable para el reclutamiento y permanencia de los leucocitos en los sitios de inflamación.¹²

Está demostrado que durante el trabajo de parto la cantidad de células positivas para Mac-1, y la intensidad en la expresión de esta molécula, aumentan en los monocitos y en los granulocitos de la sangre periférica materna.^{13,14}

En este trabajo estudiamos dos aspectos de la expresión de las CAMs en la interfase materno-fetal en el término de la gestación. Además, analizamos si el incremento en la expresión de CAMs en la coriodecidua es un proceso gradual que se desarrolla progresivamente al término de la gestación, en preparación para el inicio del trabajo de parto, o si es una consecuencia de éste. También analizamos la expresión de Mac-1 en leucocitos de sangre placentaria en comparación con la de los leucocitos de sangre periférica materna, con el fin de establecer si las células que circulan en el ambiente intrauterino son capaces de responder a las señales de reclutamiento expresadas por las membranas corioamnióticas.

MATERIAL Y MÉTODO

Selección de pacientes

Los criterios de inclusión y procedimientos de toma de muestras de este proyecto los aprobaron los Comités de Investigación y Ética del Instituto Nacional de Perinatología Isidro Espinosa de los Reyes (Núm. 212250-02151). Todas las pacientes dieron su consentimiento informado antes de la toma de las muestras.

Se incluyeron muestras provenientes de mujeres sanas entre 15 y 44 años de edad, con embarazos a término (≥ 37 semanas de gestación). Se excluyeron las pacientes con

embarazos múltiples o con alguna enfermedad, especialmente infección vaginal o intrauterina, diabetes mellitus o diabetes gestacional, preeclampsia o enfermedades autoinmunitarias.

Membranas fetales

Para analizar el incremento gradual de la expresión de CAMs en las membranas fetales al término de la gestación, éstas se recolectaron inmediatamente después del alumbramiento de la placenta y se transportaron al laboratorio en un contenedor estéril. Las membranas se lavaron con solución salina estéril, y un pedazo de tejido de aproximadamente 5 cm² se colocó inmediatamente en RNAlater (Ambion, Austin, TX, EUA) y se almacenó a -20 °C hasta su uso.

Las muestras de membranas fetales se clasificaron en cinco grupos de estudio correspondientes a las semanas de gestación de las pacientes, calculadas a partir de la fecha de la última menstruación.

Los primeros cuatro grupos incluían muestras de pacientes que llevaron a término su embarazo por cesárea electiva, sin trabajo de parto. El quinto grupo incluyó muestras de pacientes con trabajo de parto activo, independientemente de la edad gestacional o de la forma de resolución (Cuadro 1).

Cuadro 1. Muestras de membranas fetales

Grupo	Semanas de gestación	n
1	37	7
2	38	10
3	39	7
4	40	5
5	Con trabajo de parto	7

Leucocitos de sangre placentaria y periférica materna

Para analizar la expresión de CAMs en leucocitos de circulación intrauterina se obtuvieron muestras de sangre placentaria de las pacientes participantes, y de sangre periférica como grupo de comparación.

Las muestras de sangre placentaria se obtuvieron en los primeros 30 minutos posteriores al alumbramiento de la placenta. Para la obtención de estas muestras se exprimió manualmente la cara materna de los cotiledones de la placenta, y se recuperó la sangre que drenaba con pipetas estériles desechables. La sangre (5 mL) se depositó inme-

diatamente en tubos estériles con anticoagulante (heparina de sodio o EDTA).

Las muestras de sangre periférica materna se obtuvieron durante el procedimiento obstétrico (cesárea o parto vaginal), o inmediatamente después de éste. La sangre (5 mL) se obtuvo mediante punción venosa en el antebrazo de las pacientes y se depositó inmediatamente en tubos estériles con anticoagulante.

A partir de las muestras de sangre placentaria y periférica se aislaron los leucocitos totales por medio de gradiente de densidad, con el reactivo Polymorphprep (Axis-Shield, Oslo, Noruega), se siguieron las instrucciones del fabricante.

Al formarse el gradiente se obtuvieron dos bandas de células correspondientes a los leucocitos mononucleares y a los polimorfonucleares, respectivamente; en todos los casos se recuperaron ambas bandas para tener el paquete leucocitario completo.

Los eritrocitos residuales se eliminaron resuspendiendo el paquete celular en un amortiguador de cloruro de amonio (cloruro de amonio 150 mM, bicarbonato de potasio 10 mM, EDTA 0.1 mM) durante 10 minutos a temperatura ambiente; finalmente los leucocitos se lavaron con PBS estéril.

Las muestras de leucocitos periféricos y placentarios se dividieron en dos grupos de estudio: grupo 1: sin trabajo de parto ($n = 6$), y grupo 2: con trabajo de parto ($n = 8$).

Aislamiento de ARN y síntesis de ADNc

El ARN total de las membranas fetales y de los leucocitos periféricos y placentarios se aisló con el reactivo Trizol (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA), según las instrucciones del fabricante. Después del aislamiento del ARN, las muestras se trataron con DNasa I, seguido de la inactivación de la DNasa, para eliminar la posible contaminación con ADN genómico.

El ADN complementario (ADNc) se sintetizó a partir del ARN total con el equipo *Transcriptor First Strand cDNA Synthesis Kit* (Roche Applied Science, Mannheim); se usaron hexámeros al azar como iniciadores, en un termociclador Mastercycler Gradient equipment (Eppendorf, Hamburgo, Alemania) a 25 °C - 10 min / 55 °C - 30 min / 85 °C - 5 min. El ADNc se almacenó a -20 °C hasta su uso.

Expresión relativa de las CAMs

La expresión de las CAMs se analizó por PCR semicuantitativa en tiempo real en un equipo *Light Cycler 2.0*,

con el equipo *Light Cycler TaqMan Master* y las sondas de hidrólisis TaqMan siguiendo los protocolos del fabricante (Roche Applied Science).

En las membranas fetales se analizó la expresión de los genes ICAM1, ICAM2, ICAM3, VCAM1, SELE (selectina E) y SELP (selectina P); en los leucocitos periféricos y placentarios se analizó la expresión de los genes ITGAL (LFA-1) e ITGAM (Mac-1). En todos los casos se usó el gen GAPDH como referencia para calcular la expresión relativa.

Para las reacciones de PCR se diseñaron iniciadores específicos para cada uno de los genes con el programa ProbeFinder, disponible en www.universalprobelibrary.com. El cuadro 2 muestra las secuencias de los iniciadores y los números de sondas utilizados en este estudio. Todos los iniciadores se diseñaron para contener secuencias de unión de intrones, con el fin de evitar falsos positivos provenientes de cualquier residuo de ADN genómico. Las condiciones de la PCR en tiempo real fueron: un ciclo a 95 °C - 10 min; 45 ciclos de desnaturalización (95 °C - 10 seg), alineamiento (60 °C - 30 seg) y extensión (72 °C - 1 seg).

Análisis estadísticos

Las diferencias estadísticas entre los grupos de estudio se analizaron con la prueba de Mann-Whitney, se utilizó el programa SPSS v. 12. Los valores de p menores de 0.05 se consideraron significativos.

RESULTADOS

CAMs en membranas fetales

La expresión de las CAMs analizadas en las membranas fetales permaneció relativamente constante conforme avanzaba la edad gestacional. No se observó diferencia en la expresión de ICAM1 a lo largo de las semanas de gestación, pero sí una clara tendencia a aumentar en las muestras provenientes de pacientes con trabajo de parto. Este mismo comportamiento se observó en el caso de ICAM3 (Figura 1).

Las expresiones relativas de ICAM2, VCAM1 y SELP mostraron una tendencia evidente a disminuir conforme avanzaba la edad gestacional, la cual sólo fue significativa en el caso de ICAM2 al comparar las muestras con trabajo de parto con las muestras de pacientes en la semana 37 de gestación (Figura 1).

Cuadro 2. Secuencias de iniciadores y números de sondas

<i>Gen</i>	<i>Sonda TaqMan</i>	<i>Iniciador sentido</i>	<i>Iniciador antisentido</i>
ICAM1	71	5' - ccttcctcaccgtgtactgg -3'	5' -agcgtagggtaaggttcttcg- 3'
ICAM2	75	5' - caatgaattccaacgtcagc -3'	5'- accaaagtgggttcagtg- 3'
ICAM3	40	5' - ggtaccatccgtgttg- 3'	5'- gaactcctgccctggac- 3'
VCAM1	39	5' - tgaatctaggaaattggaaaagg -3'	5' - tgaatctctggatccttaggaaaa- 3'
SELE	27	5' - gcaagaagaagctggccta -3'	5' - tggccactgcaggatgtat- 3'
SELP	67	5' - ccttcaggacaatggacagc -3'	5' - ttagttctgagcatttcacagc- 3'
ITGAL	26	5'- ccacagatggaagcattttg-3'	5'- gtgttctggtcacacgttcg-3'
ITGAM	9	5'- ggcatccgcaaagtggta-3'	5'- ggatcttaaggcattcttcg-3'
GAPDH	60	5'- gccacatcgctcagacac- 3'	5' -gcccaatacgaacaaatcc- 3'

La expresión de SELE permaneció constante independientemente de la edad gestacional y del trabajo de parto, aunque fue significativamente menor en las muestras de pacientes con 40 semanas de gestación ($p = 0.016$) (Figura 1).

CAMs en leucocitos placentarios y periféricos

Al analizar la expresión de CAMs en leucocitos circulantes en la sangre placentaria y periférica, no se observaron diferencias en la expresión de ITGAL, ya sea antes o durante el trabajo de parto (Figura 2).

La expresión de ITGAM fue significativamente mayor en los leucocitos periféricos antes del trabajo de parto, comparada con los leucocitos placentarios ($p = 0.01$). Sin embargo, esta diferencia no se observó durante el trabajo de parto, debido a un incremento en la expresión de ITGAM en los leucocitos placentarios que, aunque fue evidente, no alcanzó significación estadística (Figura 2).

DISCUSIÓN

El trabajo de parto de la mujer es el resultado de la generación de un microambiente inflamatorio en el espacio coriodecidual, ambiente modulado principalmente por leucocitos infiltrantes. En este contexto, se ha observado que la expresión de algunas CAMs aumenta durante el trabajo de parto, de ahí que se haya propuesto como un mecanismo de permanencia de dichos leucocitos infiltrantes.

En este trabajo estudiamos, por un lado, la expresión de CAMs en membranas fetales asociada con el avance de la gestación y, por otro lado, la expresión de CAMs en leucocitos que circulan en el ambiente intrauterino.

En el caso de las membranas fetales, nuestro diseño experimental demostró que el incremento en la expresión

de las CAMs estudiadas no es un proceso gradual asociado con el progreso de la gestación, sino que depende de la existencia del trabajo de parto, lo que fue evidente en el caso de ICAM1 e ICAM3.

El incremento en la expresión de la molécula ICAM-1 asociado con el trabajo de parto ha sido reportado en células endoteliales de la placenta, en el amnios y en la coriodecidual; e incluso se ha descrito que tiene cierto valor predictivo para parto pretérmino, al medirse en el líquido cervicovaginal.⁷⁻¹¹

La expresión de ICAM-3, particularmente en los linfocitos T, está involucrada en la presentación de antígeno, participando en la interacción de estos linfocitos con las células presentadoras de antígeno. Además, ICAM-3 favorece la unión de ICAM-1 y su receptor LFA-1.¹⁵ En este sentido, la mayor expresión de ICAM-3 en las membranas fetales durante el trabajo de parto podría sugerir que hay más linfocitos T infiltrados, lo que coincide con reportes anteriores de nuestro grupo y de otros.^{4,16,17}

Nuestros resultados sugieren, también, que durante el trabajo de parto humano la participación de otras CAMs –como ICAM-2, VCAM-1, selectina P y selectina E– no parece ser importante, si se considera que su expresión permanece constante en las membranas fetales, e incluso tiende a disminuir.

El análisis de la expresión de las moléculas de adhesión LFA-1 y Mac-1 (ligandos de la ICAM-1 que expresan los tejidos gestacionales durante el trabajo de parto), mostró un claro incremento en la expresión de ITGAM, el gen que codifica para Mac-1 en los leucocitos placentarios. Este incremento se ha reportado anteriormente en los monocitos y granulocitos de la sangre periférica materna al término de la gestación.^{13,14}

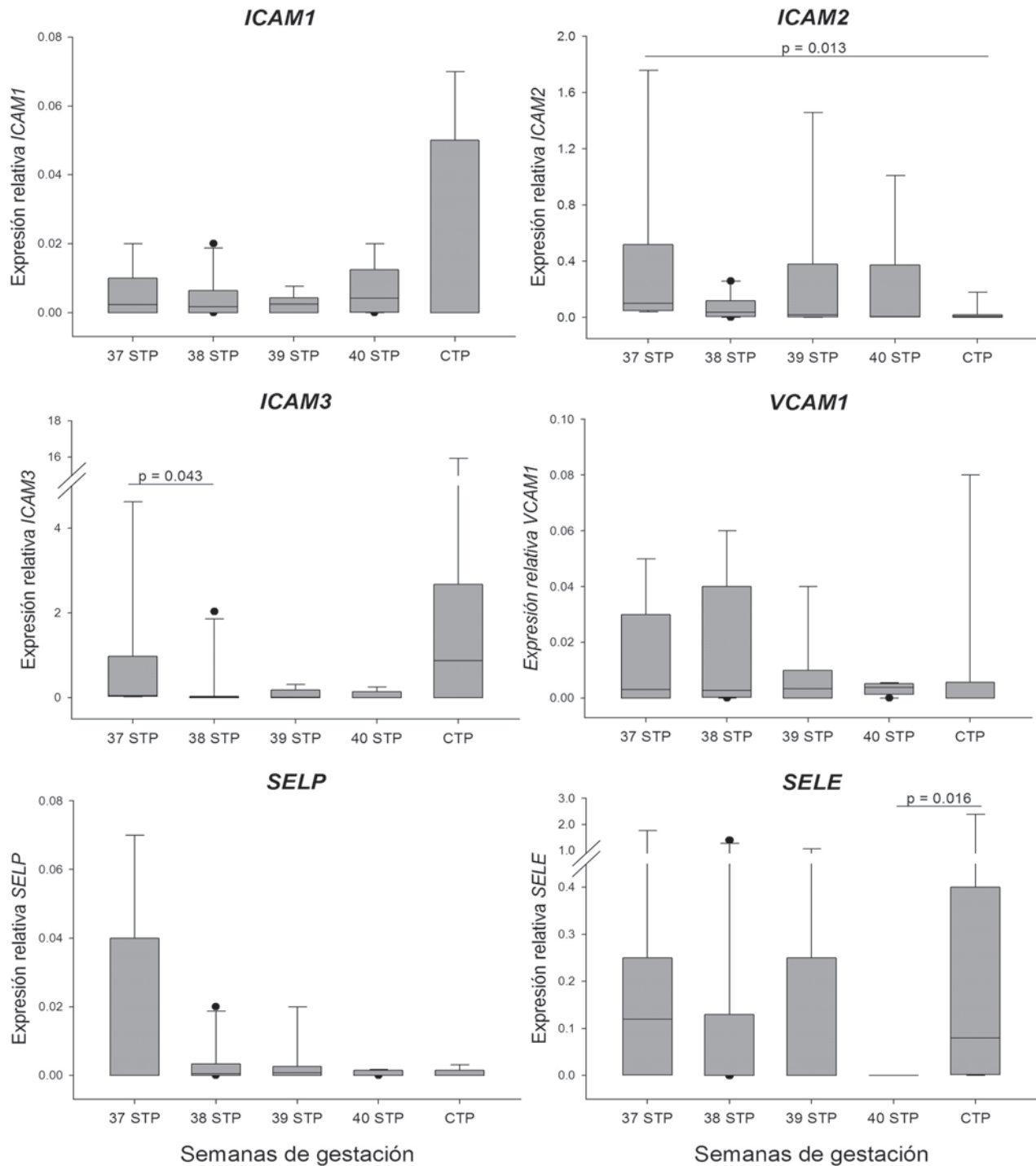


Figura 1. Expresión de moléculas de adhesión celular en membranas fetales humanas al término de la gestación.

Las líneas horizontales representan los valores de las medianas de expresión relativa con los percentiles 25/75 (cajas) y los percentiles 5/95 (líneas verticales). Los puntos negros representan valores atípicos.

STP: sin trabajo de parto; CTP: con trabajo de parto. En todos los casos: 37 STP, n = 7; 38 STP, n = 10; 39 STP, n = 7; 40 STP, n = 5; CTP, n = 7.

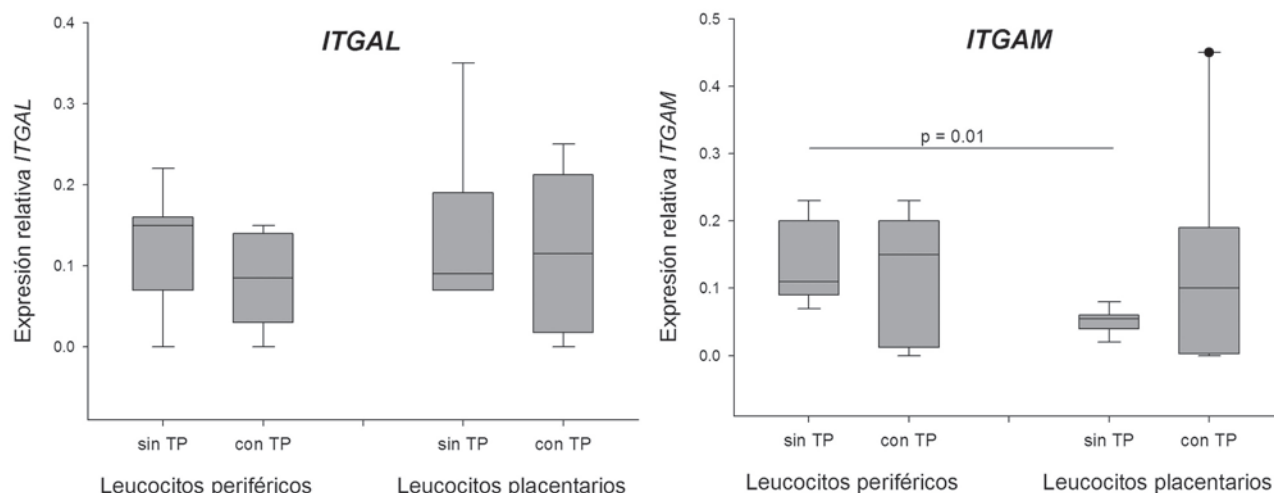


Figura 2. Expresión génica de ITGAL e ITGAM en leucocitos periféricos y placentarios al término de la gestación.

TP: trabajo de parto; n = 6 sin TP; n = 8 con TP. Las líneas horizontales representan los valores de las medianas de expresión relativa con los percentiles 25/75 (cajas) y los percentiles 5/95 (líneas verticales). Los puntos negros representan valores atípicos.

Lo anterior sugiere que mientras los leucocitos de la sangre periférica materna podrían aumentar su expresión de Mac-1, como resultado del avance de la gestación, los leucocitos que circulan en la placenta incrementan dicha expresión exclusivamente como respuesta a señales asociadas con el trabajo de parto, lo que permitiría específicamente a estos leucocitos interactuar con las células locales que estuvieran expresando ICAM-1. La interacción molecular entre los leucocitos placentarios infiltrantes y las células coriodeciduals podría resultar en la amplificación de la red de señales que promueven el trabajo de parto.

En conjunto, nuestros resultados apoyan la hipótesis de que en la interfase materno-fetal al término de la gestación, y particularmente durante el trabajo de parto, se expresa una combinación específica de CAMs, incluidas ICAM-1, ICAM-3 y Mac-1. La expresión de estas moléculas no está asociada con el avance en la edad gestacional, sino exclusivamente con el trabajo de parto. Esta expresión selectiva de CAMs promovería el reclutamiento y permanencia de leucocitos a la coriodecidual, los que podrían modular el microambiente inflamatorio local durante el trabajo de parto.

Agradecimientos

Agradecemos a Lourdes Vadillo Pérez por su ayuda en la recolección de las muestras de membranas fetales.

REFERENCIAS

1. Vega Sánchez R, Vadillo Ortega F. Fisiopatología del nacimiento pretérmino. *Ginecol Obstet Mex* 2007;75(S1):S14-S19.
2. Thomson AJ, Telfer JF, Young A, Campbell S, et al. Leukocytes infiltrate the myometrium during human parturition: further evidence that labour is an inflammatory process. *Hum Reprod* 1999;14(1):229-236.
3. Young A, Thomson AJ, Ledingham M, Jordan F, et al. Immunolocalization of proinflammatory cytokines in myometrium, cervix, and fetal membranes during human parturition at term. *Biol Reprod* 2002;66(2):445-449.
4. Gomez-Lopez N, Estrada-Gutierrez G, Jimenez-Zamudio L, Vega-Sanchez R, Vadillo-Ortega F. Fetal membranes exhibit selective leukocyte chemotactic activity during human labor. *J Reprod Immunol* 2009;80(1):122-131.
5. Vega-Sanchez R, Gomez-Lopez N, Flores-Pliego A, Clemente-Galvan S, et al. Placental blood leukocytes are functional and phenotypically different than peripheral leukocytes during human labor. *J Reprod Immunol* 2010;84(1):100-110.
6. Vega Sánchez R, Estrada Gutiérrez G, Cérbulo Vázquez A, Beltrán Montoya J, Vadillo Ortega F. Caracterización del espacio coriodecidual como un microambiente rico en moléculas efectoras que inducen la rotura de las membranas corioamnióticas durante el trabajo de parto. *Ginecol Obstet Mex* 2004;72:593-601.
7. Steinborn A, Sohn C, Heger S, Niederhut A, et al. Labour-associated expression of intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) in placental endothelial cells indicates participation of immunological processes in parturition. *Placenta* 1999;20(7):567-573.
8. Marvin KW, Keelan JA, Sato TA, Coleman MA, et al. Enhanced expression of intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) in

- amnion with term and preterm labour. *Placenta* 2000;21(1):115-121.
9. Marvin KW, Keelan JA, Sato TA, Coleman MA, et al. Expression of intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) in choriodecidua with labour and delivery at term and preterm. *Reprod Fertil Dev* 1999;11(4-5):255-262.
10. Osman I, Crawford M, Jordan F, Young A, et al. Expression and localization of cell adhesion molecules in human fetal membranes during parturition. *J Reprod Immunol* 2004;63(1):11-21.
11. Marvin KW, Keelan JA, Coleman MA, McCowan LM, et al. Intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) in cervicovaginal fluid of women presenting with preterm labor: predictive value for preterm delivery. *Am J Reprod Immunol* 2000;43(5):264-271.
12. Janeway CA, Travers P, Walport M, Shlomchik MJ, editors. *Innate Immunity*. In: *Immunobiology: the immune system in health and disease*. Nueva York: Garland Science Publishing, 2005;p:37-100.
13. Luppi P, Irwin TE, Simhan H, Deloia JA. CD11b Expression on circulating leukocytes increases in preparation for parturition. *Am J Reprod Immunol* 2004;52(5):323-329.
14. Yuan M, Jordan F, McInnes IB, Harnett MM, Norman JE. Leukocytes are primed in peripheral blood for activation during term and preterm labour. *Mol Hum Reprod* 2009;15(11):713-724.
15. Montoya MC, Sancho D, Bonello G, Collette Y, et al. Role of ICAM-3 in the initial interaction of T lymphocytes and APCs. *Nat Immunol* 2002;3(2):159-168.
16. Gomez Lopez NY, Estrada-Gutierrez G, Vadillo-Perez L, Vadillo-Ortega F. Changes in Leukocyte Subpopulations in the Choriodecidua and Fetal Membranes during Human Labor. *Reproductive Sciences* 2008;15(2 suppl.):86A.
17. Osman I, Young A, Ledingham MA, Thomson AJ, et al. Leukocyte density and pro-inflammatory cytokine expression in human fetal membranes, decidua, cervix and myometrium before and during labour at term. *Mol Hum Reprod* 2003;9(1):41-45.

Efecto de la merocianina-540 en la capacidad fertilizante del espermatozoide correlacionada con la expresión de fragmentos 3-OH terminales*

Gerardo Barroso-Villa,* Alinne Colin-Valenzuela,** Nardhy Gómez-López,*** Mauricio Velázquez-Magaña****

Nivel de evidencia: II-1

RESUMEN

Antecedentes: el empaquetamiento de la heterocromatina durante la espermatogénesis ha sido correlacionado con la expresión de cuerpos apoptóticos residuales (que tiñen con merocianina A) que impactarán en la función espermática, en el proceso de fertilización, así como en la expresión conjunta de la traslocación transmembranal de fosfatidil serina y oligonucleosomas.

Objetivo: evaluar la expresión de cuerpos teñidos con merocianina en los procesos funcionales del espermatozoide y su grado de concordancia con biomarcadores apoptóticos Anexina V y TUNEL.

Material y método: se realizó un estudio prospectivo, transversal, incluyéndose once mil células pertenecientes a muestras seminales de hombres infértiles; se evaluaron de acuerdo a los criterios de la OMS (1999) acotándose mediante los lineamientos de Tygerberg. Los procesos de transformación biomolecular de membrana y la expresión por oligonucleosomas en la cascada terminal de apoptosis fueron cuantificados por medio de citometría de flujo utilizándose láser de argón como fuente de lectura a 480nm, discriminando los grados de celularidad tanto negativa como positiva para cada uno de los indicadores.

Resultados: por diseño de estudio se encontró una baja cuantificación en los parámetros seminales, movilidad, morfología y concentración espermática. La expresión promedio de células [DNA-PI(+)/dUTP-FITC(+)] (cuantificación de TUNEL) y [Annexin-V(+)/PI(-)] fue de $36.5 \pm 17.4\%$ y $31.2 \pm 17.4\%$ respectivamente. Al comparar la expresión de TUNEL sin el efecto de los cuerpos M540 ($36.3 \pm 1.7\%$ vs $36 \pm 1.7\%$) no se determinó una diferencia significativa.

Conclusiones: con este estudio se demuestra que existe remanente de los procesos primarios de espermiación los cuales pueden participar de forma importante en los procesos apoptóticos y funcionales del espermatozoide, sin embargo su expresión no repercute en la medición de biomarcadores de apoptosis seminales cuya determinación ha venido a modificar la percepción diagnóstica y funcional de los parámetros reproductivos en el espermatozoide.

Palabras claves: espermatozoide, cuerpos apoptóticos, merocianina, apoptosis, TUNEL, Anexina V.

ABSTRACT

Background: The packaging of heterochromatin during spermatogenesis has been correlated with the expression of residual apoptotic bodies (which stain with merocyanine A) that will impact on sperm function in the fertilization process; as well as the joint expression of the transmembrane translocation phosphatidyl serine and oligonucleosomes.

Objective: To evaluate the expression of bodies stained with merocyanine in the functional processes of sperm and their level of agreement with apoptotic Annexin V and TUNEL biomarkers.

Material and method: We performed a prospective, cross, including 11,000 cells belonging to semen samples from infertile men, were evaluated according to WHO criteria (1999), bounded by the lines of Tygerberg. The biomolecular transformation processing of the membrane and the expression of oligonucleosomes in the terminal cascade of apoptosis were quantified by cytometry flow, using an argon laser as a reading source of 480 nm, discriminating the degree of cellularity, both negative and positive for each indicators.

Results: Because of the study design was found low quantification in semen parameters, motility, morphology and sperm concentration. The average expression of cells [DNA-PI(+)/dUTP-FITC(+)] (quantification of TUNEL) and [Annexin-V(+)/PI(-)] was $36.5 \pm 17.4\%$ and $31.2 \pm 17.4\%$, respectively. By comparing the expression of TUNEL without the effect of M540 bodies ($36.3 \pm 1.7\%$ vs $36 \pm 1.7\%$) a significant difference was not determined.

Conclusions: This study shows that there is a remnant of the primary processes of spermiation, which can take an important role in apoptotic and functional processes of the sperm. However, its expression does not affect measurement of biomarkers of apoptosis seminal, whose determination changed the diagnosis and functional perception of reproductive parameters in the sperm.

Key words: sperm, apoptotic bodies, merocianina, apoptosis, TUNEL, Annexin V.

RÉSUMÉ

Antécédents: l'emballage de l'hétérochromatine pendant la spermatogenèse a été lié avec l'expression de corps apoptotiques résiduels (teints avec mérocyanine A) qui ont une répercussion sur la fonction spermatique, sur le processus de fertilisation et sur l'expression conjointe de la translocation transmembranale de phosphatidylsérine et oligonucléosomes.

Objectif: évaluer l'expression de corps teints avec mérocyanine dans les processus fonctionnels du spermatozoïde et son degré de concordance avec biomarqueurs apoptotiques annexine V et TUNEL.

Matériel et méthode: étude prospective, transversale effectuée avec 11,000 cellules des échantillons séminaux d'hommes infertiles. On a évalué avec les critères de l'OMS (1999) et on les a délimités avec les tendances de Tygerberg. Les processus de transformation biomoléculaire de membrane et l'expression par oligonucléosomes dans la cascade terminale d'apoptose ont été quantifiés avec cytométrie en flux et un laser d'argon comme source de lecture à 480 nm. Pour chacun des indicateurs on a discriminé les degrés de cellularité négative et positive.

Résultats: par le dessin de l'étude, on a trouvé une faible quantification dans les paramètres séminaux: mobilité, morphologie et concentration spermatique. La moyenne d'expression des cellules [DNA-PI⁽⁺⁾/dUTP-FITC⁽⁺⁾] (quantification de TUNEL) et [Annexine-V⁽⁺⁾/PI⁰] a été de $36.5 \pm 17.4\%$ et $31.2 \pm 17.4\%$, respectivement. Au moment de comparer l'expression de TUNEL sans l'effet des corps M540 ($36.3 \pm 1.7\%$ vs $36 \pm 1.7\%$), on n'a pas déterminé de différence significative.

Conclusions: cette étude montre qu'il existe un rémanent des processus primaires de spermiation, qui peuvent participer de manière significative dans les processus apoptotiques et fonctionnels du spermatozoïde. Toutefois, leur expression n'a pas d'effets sur le mesurage de biomarqueurs d'apoptoses séminales, dont la détermination a modifié la perception diagnostique et fonctionnelle des paramètres reproductifs dans le spermatozoïde.

Mots-clés: spermatozoïde, corps apoptotiques, mérocyanine, apoptose, TUNEL, annexine V.

RESUMO

Antecedentes: O empacotamento da heterocromatina durante a espermatogênese é correlacionado com a expressão de corpos apoptóticos residuais (que tem com merocianina A) que tem repercussão com a função espermática no processo de fertilização e a expressão conjunta da inversão transmembranar de fosfatidil serina e oligonucleossomas.

Objetivo: Avaliar a expressão de corpos pintados com merocianina nos processos funcionais do espermatozoíde e seu grau de concordância com biomarcadores apoptóticos anexina V e TUNEL.

Material e método: Estudo prospectivo, transversal efetuado com 11,000 células de amostras seminais de homens inférteis. Foram avaliados com critérios da OMS (1999) e apontaram com os lineamentos de Tygerberg. Os processos de transformações biomolecular de membranas e a expressão por oligonucleossomas na cascata terminal de apoptoses se quantificaram com a citometria de fluxo e um laser de argon como fonte de leitura a 480 nm. Para cada um dos indicadores foram discriminados os graus de celularidade negativa e positiva.

Resultados: Através do estudo se encontrou uma baixa quantificação nos parâmetros seminais: mobilidade, morfologia e concentração espermática. A expressão média das células [DNA-PI⁽⁺⁾/dUTP-FITC⁽⁺⁾] (quantificação de TUNEL) e [Annexin-V⁽⁺⁾/PI⁽⁺⁾] foi de $36,5 \pm 17,4\%$ e $31,2 \pm 17,4\%$, respectivamente. Ao comparara a expressão de TUNEL sem o efeito dos corpos M540 ($36,3 \pm 1,7\%$ vs $36 \pm 1,7\%$) não determinou uma diferença significativa.

Conclusões: Este estudo demonstra que existe um remanente dos processos primários de espermição, que podem participar de maneira importante nos processos apoptóticos e funcionais do espermatozoíde. Entretanto, sua expressão não repercute na mediação dos biomarcadores de apoptoses seminais, cuja determinação modificou a percepção diagnóstica e funcional dos parâmetros reprodutivos no espermatozoíde.

Palavras-chave: espermatozoíde, corpos apoptóticos, merocianina, apoptoses, TUNEL, anexina V.

* Investigador en Salud Reproductiva.

** Residente de Biología de la Reproducción Humana.

*** Adscrita a la Dirección de Investigación.

Instituto Nacional de Perinatología Isidro Espinosa de los Reyes.

**** Cuerpo médico, Centro Médico ABC.

Correspondencia: Dr. Gerardo Barroso. Instituto Nacional de Perinatología, Torre de Investigación, quinto piso. Montes Urales 800, colonia Lomas de Virreyes, México 11000, DF. Correo electrónico: barrosog@me.com

Recibido: octubre, 2010. Aceptado: noviembre, 2010.

* Artículo premiado con el tercer lugar al trabajo científico Dr. Alfonso Álvarez Bravo presentado en el LXI Congreso Mexicano de Ginecología y Obstetricia 2010, que se celebró en la ciudad de Chihuahua los pasados 26 al 30 de octubre.

Este artículo debe citarse como: Barroso-Villa G, Colin-Valenzuela A, Gómez-López N, Velázquez-Magaña M. Efecto de la merocianina-540 en la capacidad fertilizante del espermatozoide correlacionada con la expresión de fragmentos 3-OH terminales. Ginecol Obstet Mex 2010;78(12):685-691.

www.nietoeditores.com.mx

Durante los últimos años se ha mostrado una disminución progresiva en la capacidad reproductiva tanto en hombres como en mujeres, lo cual ha conllevado a un incremento en la demanda de los servicios para la atención de problemas reproductivos.

De igual forma el estudio del espermatozoide ha adquirido un papel importante en la evaluación de los procesos reproductivos, en donde sus capacidades están relacionadas no solo con los procesos de fertilización y desarrollo embrionario, sino también con los fenómenos de placentación así como con aquellos relacionados con procesos restrictivos derivados de la vasculogénesis, transporte y nutrición placentaria.¹

Es de reciente interés el estudio de los procesos de muerte celular programada en las células germinales, así los procesos apoptóticos caracterizados por una serie de cambios morfológicos y bioquímicos que resultan en la eliminación de las células sin la presencia de una respuesta inflamatoria. Así se ha concluido que estos eventos, no resultan reproductivos impactando en sus vías de activación, lo cual repercutirá en la capacidad reproductiva tanto en el hombre como en la mujer.²⁻⁴

Para tener una fertilización exitosa se requiere de una membrana plasmática íntegra y funcional en el espermatozoide, dicha membrana tendrá una participación fundamental en el metabolismo celular para mantener la motilidad espermática, durante el proceso de capacitación, reacción acrosomal y durante la interacción con el gameto femenino.^{5,6}

En el caso de que esta membrana sufra alguna alteración, la fase inicial de su daño se caracterizara por una pérdida en la simetría de los fosfolípidos de membrana que resulta de la traslocación de la fosfatidilserina (FS) de la capa interna a la externa, fenómeno que resulta característico del inicio de la apoptosis celular. Para la identificación de este fenómeno, se utiliza a la Anexina V la cual es una proteína que muestra afinidad por los fosfolípidos dependientes de calcio, como es la FS así la unión de anexina V a células apoptóticas de detecta a través de una tinción verde fluorescente con isotiocinato de fluoresceína (FITC) señal que se detecta mediante citometría de flujo y microscopia de fluorescencia.^{7,8}

Las fases tardías de la apoptosis se caracterizan por la fragmentación del ADN y resulta de la activación de las endonucleasas endógenas, generando una multitud de grupos 3' hidroxilo, lo anterior puede ser determinado mediante el llamado método de TUNEL el cual identificara a

las células apoptóticas marcando las terminales 3' hidroxilo con nucleótidos de desoxiuridina trifosfato, adicionado a FITC, reacción que es catalizada por la enzima terminal desoxinucleotidil transferasa (TdT), procesos que son cuantificados mediante el uso de citometría de flujo.⁹⁻¹¹

Recientemente se han identificado en el semen humano, cuerpos de forma redonda con diferentes tamaños y densidades a los cuales se les ha denominado cuerpos M540 debido a que se tiñen con fluorocromo de merocianina, la cual es un compuesto lipofílico que es sensible a los cambios en la arquitectura de la membrana tal y como ocurre durante la apoptosis de las células somáticas.¹² Se ha identificado que estos cuerpos expresan marcadores apoptóticos que ocurren durante la apoptosis testicular tales como caspasas, Fas, p53, Bcl-x, fragmentación del ADN y también presentan ubiquitinación.¹³⁻¹⁵

El origen de dichos cuerpos no ha sido bien definido, pero se ha propuesto que pudieran ser remanentes citoplasmáticos desprendidos un incremento de estos cuerpos en el espermatozoide, sin embargo estos cuerpos también podrían derivar de otros tipos celulares que se encuentran en apoptosis en el tracto genital masculino y se ha observado un incremento de estos cuerpos en el semen de pacientes con alteraciones seminales.¹⁶

Así, los niveles altos de los cuerpos apoptóticos encontrados en el semen de pacientes podrían indicar la apoptosis excesiva o desregulada en el compartimiento genital masculino, particularmente a nivel testicular.

De este modo, se ha concluido que la apoptosis tiene una participación importante en la espermatogénesis, siendo un mecanismo fundamental en el desarrollo del espermatozoide y clínicamente sus alteraciones se han vinculado con la infertilidad masculina lo anterior sustentado por la demostración de una correlación negativa entre la presencia de apoptosis en el espermatozoide maduro y la calidad seminal.¹⁷ Así se ha sugerido que la identificación de marcadores apoptóticos, puede ser un factor importante para la evaluación de la calidad del semen.¹⁸

Con este trabajo se pretende identificar el impacto de los cuerpos teñidos con merocianina, en la determinación de marcadores apoptóticos en hombres infértiles.

MATERIAL Y MÉTODO

Este estudio se realizó en el Instituto Nacional de Perinatología de marzo del 2008 a marzo del 2009, se incluyeron

11 sujetos en edad reproductiva, que aceptaron participar en el estudio, y que estuvieran en protocolo de estudio en el servicio de reproducción asistida, debiendo contar con, espermocultivo negativo y carecer de enfermedades sistémicas.

Las muestras seminales obtenidas de los pacientes voluntarios se recolectaron con un periodo de abstinencia de 3 a 5 días, se determinó concentración, movilidad y morfología. Después de licuefacción (30-45 minutos), 5 µl de cada muestra será colocada en una cámara de Makler (Sefi Medical Instruments, Haifa, Israel) y se leerá bajo el microscopio de luz para motilidad y concentración espermática.

Por otra parte, la morfología se evaluará de acuerdo a los criterios estrictos de Kruger. Para ello, cada muestra (10 µl) se extenderá en un portaobjetos y se dejará secar por 20 minutos antes de teñirse con la tinción Diff-Quick (Baxter Dade Diagnostics, Dubingen, Switzerland), se leerá un promedio de 100 espermatozoides por extendido bajo microscopía de luz en objetivo de inmersión 100X. Finalmente, las muestras se mantendrán a 37 °C, 5% CO₂ en medio HFT y serán analizadas independientemente para Anexina V, y Ioduro de propidio (IP) además de método de TUNEL en la siguiente media hora.

Evaluación de externalización de fosfatidil-serina con Anexina-V

La anexina V es una proteína con afinidad por fosfolípidos, dependiente de calcio y con una alta afinidad por la fosfatidilserina (FS), la cual refleja eventos apoptóticos tempranos. La unión de Anexina V a células apoptóticas típicamente muestra una tinción verde fluorescente. IP (tinción roja) será agregado para diferenciar células viables de las necróticas, permitiendo diferenciar las células con translocación de FS que están muertas y después aquellas vivas con y sin translocación de FS.

Después de la separación, se lavarán 10⁶ células de cada muestra (móvil y no móvil) en PBS (buffer de solución salina fosfatada) y se centrifugará la muestra a 200 x g por 5 minutos. Las muestras serán resuspendidas en 100 µl de una solución que contendrá Anexina-V marcada con fluoresceína además de IP (la solución se prepara prediluyendo 20 µ de Anexina-V-fluoresceína en 1 ml del buffer de incubación adicionando 20 µ de la solución de IP) y se incubarán por 10-15 minutos a una temperatura de 15-25 °C.

Finalmente, las muestras serán analizadas por citometría de flujo previa adición de 0.5 ml de un búffer de incubación por 10⁶ células. En el citómetro de flujo, las muestras se leerán a 488nm con un filtro de 515nm para la detección de Anexina-V-fluoresceína y un filtro de más de 600nm para la detección de PI. Se requiere compensación electrónica del instrumento para evitar traslapaciones de los dos espectros emitidos.

Evaluación de apoptosis mediante el método de TUNEL

Uno de los eventos tardíos de la cascada apoptótica es la activación de endonucleasas endógenas que genera fragmentaciones en el ADN. El método llamado TUNEL es capaz de detectar éste tipo de células mediante la adición de una enzima terminal de desoxinucleotidil transferasa (TdT) para la incorporación de desoxinucleótidos marcados con isotiocianato de fluoresceína (FITC).

Para realizar el método de TUNEL el cual requiere de dos etapas (fijación y tinción) utilizaremos el kit APO-DIRECT. El kit incluye 5 ml de suspensiones celulares control tanto positivas como negativas, de aproximadamente 1 x 10⁶ células por ml en etanol 70% (v/v). Las células control se derivan de una línea celular de linfoma humano y han sido fijadas como se fijarán las células muestra que se explica a continuación.

Fijación: Se comienza el procedimiento al resuspender las células en PBS-paraformaldehído 1% a una concentración de 1-2 x 10⁶ células/ml y colocar la suspensión celular en hielo por 30-60 min. Después, se centrifugarán las células durante 5 min a 300 x g y se desechará el sobrenadante. A continuación, se lavarán las células en 5 ml de PBS y se centrifugará para obtener el paquete celular (este paso se realizará en dos ocasiones). Posteriormente se resuspenderá el paquete celular en el PBS residual mediante agitación moderada en vortex. Se ajustará la concentración celular a 1-2 x 10⁶ células/ml en etanol al 70% (v/v) frío y se mantendrá por un mínimo de 30 min. Finalmente, se almacenarán las células en etanol al 70% (v/v) a -20°C hasta su uso.

Tinción y análisis

Se resuspenden las células control positivas y negativas (6552LZ, 6553LZ) en sus respectivos viales. Se tomará una alícuota de 1 ml de la suspensión de las células control (aprox. 1 x 10⁶ células/1 ml) y se colocarán en tubos de 12 x 75 mm para citometría de flujo. Se centrifugarán a

300 x g por 5 min y se removerá el etanol al 70% (V/V) por aspiración sin alterar el paquete celular. Se resuspenderá cada tubo de células control con 1 ml del buffer de lavado (6548AZ), se centrifugará a 300 x g por 5 min y se removerá el sobrenadante. Se repetirá el tratamiento de lavado y después, se resuspenderá cada paquete celular control con 50 µl de la solución de tinción (contiene el buffer de reacción para la enzima TdT, la enzima TdT, fluoresceína conjugada con dUTP [6549AZ, 6554EZ, 6555EZ] y agua destilada).

Posteriormente, se incubarán las células en la solución de tinción por 60 min a 37 °C y al finalizar el periodo de incubación se añadirá 1 mL del búffer de enjuague (0.05% Azida de Sodio 6550AZ) a cada tubo, se centrifugará a 300 x g por 5 min y se removerá el sobrenadante por aspiración (en dos ocasiones). A continuación, se resuspenderá el paquete celular en 0.5 ml del buffer de tinción con yoduro de propidio/RNasa (6551AZ) y se incubarán las células en la oscuridad por 30 minutos a temperatura ambiente. Finalmente, se analizarán las células en la solución de yoduro de propidio/RNasa por citometría de flujo después de 3 horas de concluir con la tinción.

Protocolo de tinción para merocianina: las muestras previamente fijadas se tiñen con merocianina y son detectados previa incubación en solución (13.5 µM preparada en dimetilsulfoxido) durante 15 minutos a 37 °C y con 5% de CO₂, posteriormente las células se lavan con PBS 1X, a la par se preparo un control negativo omitiendo la adición de TDT. Después se realiza 2 lavados consecutivos con la finalidad de detener la reacción anterior, por ultimo las células se analizan por citometría de flujo en una tinción buffer PI/RNasa, para la citometría (Beckman Coulter, USA) las muestras son procesadas a FC 500 usando lasser de Argón a 480nm.

El análisis estadístico se realizó mediante el programa SPSS versión 17; para la descripción de las variables cuantitativas se utilizaron medidas de tendencia central, la comparación de los grupos se realizó mediante prueba de la *t* de Student.

RESULTADOS

Las muestras seminales se clasificaron de acuerdo con los parámetros descritos por la OMS (1999),¹⁹ las alteraciones seminales encontradas fueron las siguientes: oligoteratozoospermia (n = 1), oligoastenoteratozoospermia (n = 2),

astenoteratozoospermia (n = 4) y teratozoospermia (n = 4), los resultados de los parámetros seminales convencionales se ilustran en el Cuadro 1. La media de la edad de los pacientes fue de 31.4 ± 2.5 años.

Cuadro 1. Parámetros seminales convencionales

	<i>Promedio</i>	<i>Desviación estándar</i>
Concentración (x 10 ⁶ /mL)	46.81	37.287
Morfología (%)	3.00	2.645
Movilidad (%)	11.82	20.272
Volumen (mL)	3.26	1.598

El total de células analizadas mediante citometría de flujo fue de 10x10⁶ células. En la determinación de apoptosis temprana células [Annexin-V⁽⁺⁾/PI⁽⁻⁾], el promedio fue de 31.2 ± 17.4%. Para la apoptosis tardía (TUNEL) [DNA-PI⁽⁺⁾/dUTP-FITC⁽⁺⁾] fue de 36.5 ± 17.3%.

La expresión de positividad para merocianina fue de 0.25 ± 0.18%.

La fragmentación del ADN determinada con el método de TUNEL empleando IP para descartar los cuerpos M540 en las muestras seminales fue de 36.3 ± 17.3. Por último la contribución de los cuerpos M540 en la aplicación del método de TUNEL no fue significativa (Cuadro 2).

Cuadro 2. Porcentaje de células positivas para TUNEL con y sin efecto de los cuerpos M540

	<i>Promedio</i>	<i>Desviación estándar</i>
TUNEL (%)	36.3	17.3
TUNEL M540 (%)	36	1.73
<i>p</i>	NS	

La figura 1 corresponde a un histograma, en el cual se muestran las diferentes poblaciones seminales caracterizadas por citometría de flujo.

CONCLUSIONES

Los estudios realizados para valorar la funcionalidad en los procesos relacionados con el componente espermático a través de la expresión de marcadores apoptóticos han sido evaluados en la última década.¹⁷ Esto nos ha mostrado que procesos tanto tempranos como tardíos influyen no solo en la capacidad de fertilización, proceso preimplantatorio

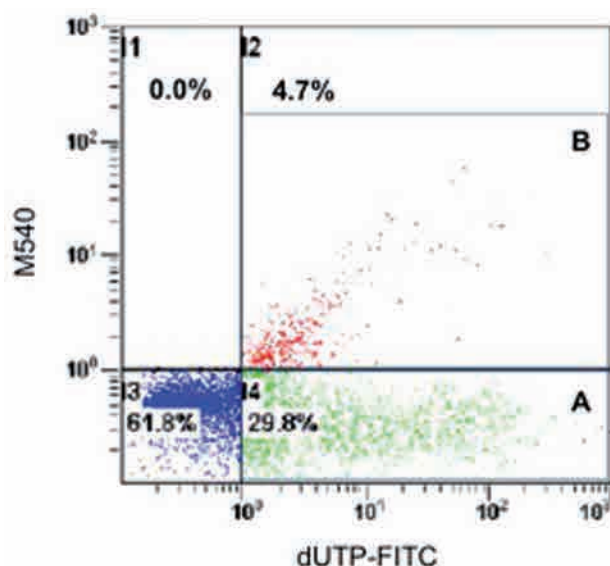


Figura 1. Ilustra un ejemplo de citometría de flujo en donde aparece un histograma que representa lo siguiente: células [DNA-PI(+)/dUTP-FITC(-)/M540(-)] que representan células viables 61.8%, [DNA-PI(+)/dUTP-FITC(+)] representando apoptosis tardía 29.8%, las células [DNA-PI(+)/M540(+)] 4.7% ilustran cuerpos M540, en esta técnica el IP para etiquetar el ADN celular.

y desarrollo embrionario, sino también en la transmisión de enfermedades genéticas relacionadas a alteraciones en el cromosoma Y.²⁰

Estudios recientes han descrito la presencia de elementos en el líquido seminal que comparten características relacionadas con los cuerpos apoptóticos y que una de estas características es la sobreexpresión de marcadores apoptóticos.¹⁰

Actualmente sabemos que la evaluación en el grado de fragmentación de ADN en el espermatozoide tiene impacto directo en los procesos de fertilización lo cual ha sido demostrado clínicamente en pacientes con inseminación intrauterina,²¹ fertilización *in vitro*²¹ e inyección intracitoplasmática.

Diversos modelos han sido descritos para el reconocimiento en la activación de la cascada apoptótica en el espermatozoide entre los cuales se incluyen a la traslocación de fosfatidil serina, activación de caspasas (fas, ligando de fas, caspasa 3 activada, formación de oligonucleosomas y que han sido auxiliares diagnósticos en la evaluación de la función del espermatozoide.^{22,23}

En un ensayo Muratori et al,¹⁰ encontraron la presencia de elementos de captación de merocianina A (M540),

posteriormente Marchianiy et al,¹² demostraron el impacto de la expresión de estos marcadores en la expresión de apoptosis. Con base en la experiencia obtenida en trabajos previos, hemos señalado la importancia de estos marcadores en el espermatozoide.^{14,22}

Por lo que llevamos a cabo este estudio, con el objetivo de evaluar el efecto de falsa positividad de los marcadores tempranos y tardíos y la adición de la tinción M540 para buscar diferencias en la determinación de marcadores de apoptosis, por efecto de cuerpos teñidos con merocianina que pudieran alterar la medición de dichos marcadores.

Como era de esperarse por el diseño del estudio se encontraron diferencias significativas en la determinación de parámetros seminales. Como ya habíamos señalado en trabajos previos hubo diferencias significativas en la expresión de TUNEL y Anexina V.

REFERENCIAS

1. Barroso G, Valdespin C, Vega E, Kershenovich R, Avila R, Avendano C et al. Developmental sperm contributions: fertilization and beyond. *Fertil Steril* 2009;92:835-48.
2. Barroso G, Morshedi M, Oehninger S. Analysis of DNA fragmentation, plasma membrane translocation of phosphatidylserine and oxidative stress in human spermatozoa. *Hum Reprod* 2000;15:1338-44.
3. Spano M, Bonde JP, Hjollund HI, Kolstad HA, Cordelli E, Leter G. Sperm chromatin damage impairs human fertility. The Danish First Pregnancy Planner Study Team. *Fertil Steril* 2000;73:43-50.
4. Weng SL, Taylor SL, Morshedi M, Schuffner A, Duran EH, Beebe S et al. Caspase activity and apoptotic markers in ejaculated human sperm. *Mol Hum Reprod* 2002;8:984-91.
5. Mower DA, Jr., Peckham DW, Illera VA, Fishbaugh JK, Stunz LL, Ashman RF. Decreased membrane phospholipid packing and decreased cell size precede DNA cleavage in mature mouse B cell apoptosis. *J Immunol* 1994;152:4832-42.
6. Rath R, Colenbrander B, Bevers MM, Gadella BM. Evaluation of in vitro capacitation of stallion spermatozoa. *Biol Reprod* 2001;65:462-70.
7. Oehninger S, Morshedi M, Weng SL, Taylor S, Duran H, Beebe S. Presence and significance of somatic cell apoptosis markers in human ejaculated spermatozoa. *Reprod Biomed Online* 2003;7:469-76.
8. Barroso G, Taylor S, Morshedi M, Manzur F, Gavino F, Oehninger S. Mitochondrial membrane potential integrity and plasma membrane translocation of phosphatidylserine as early apoptotic markers: a comparison of two different sperm subpopulations. *Fertil Steril* 2006;85:149-54.
9. Barroso G, Morshedi M, Oehninger S. Analysis of DNA fragmentation, plasma membrane translocation of phosphatidylserine and oxidative stress in human spermatozoa. *Hum Reprod* 2000;15:1338-44.

10. Muratori M, Marchiani S, Maggi M, Forti G, Baldi E. Origin and biological significance of DNA fragmentation in human spermatozoa. *Front Biosci* 2006;11:1491-9.
11. Moskovtsev SI, Willis J, White J, Mullen JB. Sperm DNA damage: correlation to severity of semen abnormalities. *Urology* 2009;74:789-93.
12. Marchiani S, Tamburrino L, Maoggi A, Vannelli GB, Forti G, Baldi E *et al*. Characterization of M540 bodies in human semen: evidence that they are apoptotic bodies. *Mol Hum Reprod* 2007;13:621-31.
13. Henkel R, Maass G, Jung A, Haidl G, Schill WB, Schuppe HC. Age-related changes in seminal polymorphonuclear elastase in men with asymptomatic inflammation of the genital tract. *Asian J Androl* 2007;9:299-304.
14. Muratori M, Marchiani S, Criscuoli L, Fuzzi B, Tamburino L, Dabizzi S *et al*. Biological meaning of ubiquitination and DNA fragmentation in human spermatozoa. *Soc Reprod Fertil Suppl* 2007;63:153-8.
15. Oldereid NB, Angelis PD, Wiger R, Clausen OP. Expression of Bcl-2 family proteins and spontaneous apoptosis in normal human testis. *Mol Hum Reprod* 2001;7:403-8.
16. Muratori M, Porazzi I, Luconi M, Marchiani S, Forti G, Baldi E. AnnexinV binding and merocyanine staining fail to detect human sperm capacitation. *J Androl* 2004;25:797-810.
17. Seli E, Sakkas D. Spermatozoal nuclear determinants of reproductive outcome: implications for ART. *Hum Reprod Update* 2005;11:337-49.
18. Marchiani S, Tamburrino L, Forti G, Baldi E, Muratori M. M540 bodies and their impact on flow cytometric analyses of human spermatozoa. *Soc Reprod Fertil Suppl* 2007;65:509-14.
19. World Health Organization. WHO Laboratory Manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction. 4th ed. Cambridge University Press, 1999.
20. Durakbasi-Dursun HG, Zamani AG, Kutlu R, Gorkemli H, Bahce M, Acar A. A new approach to chromosomal abnormalities in sperm from patients with oligoasthenoteratozoospermia: detection of double aneuploidy in addition to single aneuploidy and diploidy by five-color fluorescence in situ hybridization using one probe set. *Fertil Steril* 2008;89:1709-17.
21. Duran EH, Morshedi M, Taylor S, Oehninger S. Sperm DNA quality predicts intrauterine insemination outcome: a prospective cohort study. *Hum Reprod* 2002;17:3122-8.
22. Sakkas D, Mariethoz E, Manicardi G, Bizzaro D, Bianchi PG, Bianchi U. Origin of DNA damage in ejaculated human spermatozoa. *Rev Reprod* 1999;4:31-7.
23. Gandini L, Lombardo F, Paoli D, Caponecchia L, Familiari G, Verlengia C *et al*. Study of apoptotic DNA fragmentation in human spermatozoa. *Hum Reprod* 2000;15:830-9.

Oxitocina y síndrome de secreción inapropiada de hormona antidiurética neonatal. Reporte de un caso de hiponatremia severa temprana y revisión de la bibliografía

Carlos Aldana-Valenzuela,* José Alfredo Prieto-Pantoja,** Angélica Hernández-Acevedo**

Nivel de evidencia: III

RESUMEN

La hiponatremia dilucional asociada con sobrecarga hídrica materna y la aplicación de oxitocina para la inducción-conducción del trabajo de parto es una causa poco común de convulsiones neonatales tempranas. Reporte del caso de un recién nacido con hiponatremia dilucional severa y temprana, asociada con sobrehidratación materna y altas dosis de oxitocina para conducción del trabajo de parto. Los signos de actividad antidiurética en el recién nacido fueron muy prominentes, por lo que sugerían que se trataba de un caso de síndrome de secreción inapropiada de hormona antidiurética (SSIHAD), quizá debido al paso transplacentario de oxitocina y su efecto en el sistema renal neonatal. Este efecto no se ha reconocido suficientemente en la bibliografía. Las pruebas sanguíneas iniciales reportaron: glucosa, calcio, pH y gases, urea y creatinina en los límites normales. Bilirrubina de 8 mg. Líquido cefalorraquídeo con examen citoquímico normal, cultivo negativo. El ultrasonido de cráneo sin anomalías. Severa hiponatremia de 117 mEq/L, osmolaridad plasmática de 243 mOsm/L y densidad urinaria alta de 1.010. Este reporte intenta atraer la atención sobre la intoxicación perinatal de agua, que aún ocurre y que puede representar riesgos significativos a la madre y a su hijo. Es una complicación evitable si el médico sigue las recomendaciones vigentes sobre administración de líquidos y dosis de oxitocina a la mujer en trabajo de parto. El pediatra debe considerar siempre a la hiponatremia como parte del diagnóstico diferencial de convulsiones tempranas en el recién nacido.

Palabras clave: oxitocina, síndrome de secreción inapropiada de hormona antidiurética neonatal, hiponatremia dilucional.

ABSTRACT

This is a clinical case presentation of a full term newborn infant who suffered severe hyponatremia and early seizures, associated with maternal fluid overload with electrolyte free solutions and high doses of oxytocin for labor augmentation. Although this condition has been recognized since the 1960's with isolated reports, this particular case has features that needs further investigation, not only for the unusually severe hyponatremia, but most importantly we think, for the prominent signs of fluid retention, the infant had, that suggest excessive antidiuretic activity probably due to oxytocin. These findings are consistent with syndrome of inappropriate secretion of antidiuretic hormone. Although until now there is no proof that oxytocin by itself produces this syndrome. We think the association is possible in certain clinical circumstances, such as those found in this case. We also, briefly discussed the pathophysiology of perinatal hyponatremia, the neonatal treatment of this condition and the current guidelines for the women in labor. Hyponatremia should not be considered a benign condition, since in the neonate, it may affect brain function.

Key words: oxytocin, inappropriate secretion of antidiuretic neonatal hormone syndrome, dilutional hyponatremia.

RÉSUMÉ

L'hyponatrémie dilutionnelle associée avec surcharge hydrique maternelle et l'application d'ocytocine pour l'induction-conduction du travail d'accouchement est une cause peu commune de convulsions néonatales précoces. Rapport du cas d'un nouveau-né avec hyponatrémie dilutionnelle sévère et précoce, associée avec surhydratation maternelle et doses élevées d'ocytocine pour conduction du travail d'accouchement. Les signes d'activité antidiurétique dans le nouveau-né ont été très proéminents, ce qui suggérait qu'il s'agissait d'un cas de syndrome de sécrétion inappropriée d'hormone antidiurétique (SSIHAD), peut-être due au passage transplacentaire d'ocytocine et son effet sur le système rénal néonatal. Cet effet n'a pas été suffisamment reconnu dans la bibliographie. Les tests sanguins du début ont rapporté: glucose, calcium, pH et gaz, urée et créatinine dans les limites normaux. Bilirubine de 8 mg. Liquide céphalorachidien avec examen cytochimique normal, culture négative. L'ultrason du crâne sans anomalies. Hyponatrémie sévère de 117 mEq/L, osmolarité plasmatique de 243 mOsm/L et densité urinaire élevée de 1.010. Ce rapport essaie d'attirer l'attention sur l'intoxication périnatale d'eau, qui se présente encore et qui peut représenter des risques significatifs pour la mère et son enfant. C'est une complication évitable si le médecin suit les recommandations en vigueur sur l'administration de liquides et de doses d'ocytocine à la femme en travail d'accouchement. Le pédiatre doit considérer toujours l'hyponatrémie comme partie du diagnostic différentiel de convulsions précoces dans le nouveau-né.

Mots-clés: ocytocine, syndrome de sécrétion inappropriée d'hormone antidiurétique néonatale, hyponatrémie dilutionnelle.

RESUMO

A hiponatremia dilucional asociada con sobrecarga hídrica materna e a aplicação de oxitocina para a indução-condução do trabalho de parto é uma causa pouco comum de convulsões neonatais precoce. Comunicado de um caso de um recém-nascido com hiponatremia dilucional severa e precoce, associada com sobre-hidratação materna e altas doses de oxitocina para condução do trabalho de parto. Os signos de atividade antidiurética no recém-nascido foram muito proeminentes, o qual sugeria que se tratava de um caso de síndrome de secreção inapropiada de hormônio antidiurética (SSIHAD), talvez devido ao passo transplacentário de oxitocina e seu efeito sobre o sistema renal neonatal. Esse efeito não foi reconhecido suficientemente na bibliografia. As amostras sanguíneas iniciais resultaram: glicose, cálcio, ph e gases, e uréia e creatinina dentro dos limites normais. Bilirrubina de 8 mg. Líquido cefalorraquideo com exame citoquímico normal, cultivo negativo. O ultrassom de cráneo sem anormalidades. Severa hiponatremia de 117 mEq/L, osmolaridade plasmática de 243 mOsm/L e densidade urinaria alta de 1,010. Este comunicado tenta atrair a atenção sobre a intoxicação perinatal de água, o qual ainda ocorre e que pode representar riscos significativos da mãe e do filho. É uma complicação evitável se o médico segue as recomendações vigentes sobre administração de líquido e doses de oxitocina na mulher que está em trabalho de parto. O pediatra deve considerar sempre a hiponatremia como parte do diagnóstico diferencial de convulsões precoces no recém-nascido.

Palavras-chave: oxitocina, síndrome de secreção inapropiada de hormônio antidiurética neonatal, hiponatremia dilucional.

La hiponatremia dilucional asociada con sobrecarga hídrica materna y la aplicación de oxitocina para la inducción-conducción del trabajo de parto son causas poco comunes de convulsiones neonatales tempranas. La hiponatremia se reconoce desde la década de 1960,¹ aunque los reportes de casos son aislados.

Con frecuencia, la hiponatremia no se considera en el diagnóstico diferencial de convulsiones neonatales tempranas, cuando otras causas son más reconocidas, como la asfisia perinatal, hipoglucemia, hipocalcemia o las meningitis, que de inmediato las toma en cuenta el clínico. La mayoría de los pacientes hiponatrémicos son asintomáticos porque para que haya manifestaciones clínicas se requiere que la hiponatremia sea inferior a 125 mEq/L o, bien, que se haya desarrollado muy rápido.²

Cuando durante el trabajo de parto se infunden a la mujer cantidades excesivas de líquidos libres de electrolitos y dosis altas de oxitocina —que posee acción antidiurética—, el riesgo de hiponatremia se eleva.^{1,3,4} Debido a que la concentración de agua se equilibra pa-

sivamente a través de la placenta, el feto —en situaciones de hiponatremia materna— estará también hiponatrémico. De hecho, se ha encontrado que las concentraciones de sodio en la sangre materna y en la sangre del cordón umbilical son iguales.^{4,5}

La hiponatremia causa hipotonicidad plasmática, lo que facilita la entrada de agua al cerebro, con el consiguiente edema cerebral, que es el responsable —en última instancia— de las manifestaciones clínicas de este trastorno iónico.^{2,6} La hiponatremia crónica se asocia con problemas de neurodesarrollo,⁶ aunque los efectos a largo plazo de la hiponatremia aguda en el recién nacido no se conocen debidamente.

Otras morbilidades neonatales, como la taquipnea transitoria del recién nacido y la hiperbilirrubinemia, se han relacionado con la hiponatremia transplacentaria, aunque no hay actualmente una comprobación firme de estas asociaciones.^{7,8}

En este reporte se describe el caso de un recién nacido de término, con convulsiones tempranas asociadas con hiponatremia severa. Se discuten los factores causales de esta última y la sobrecarga hídrica materna y, en especial, se insiste en la contribución que, quizá, tuvo la oxitocina, con sus efectos semejantes a la vasopresina, y que aún en la actualidad son insuficientemente entendidos. Este último hecho se considera de interés porque en los reportes clínicos publicados, hasta donde sabemos, no se ha considerado.

CASO CLÍNICO

Recién nacida de término (38 semanas de edad gestacional) e hija de una madre de 20 años, primigesta, que

* Departamento de Neonatología.

** Departamento de Pediatría.

Hospital Materno Infantil de León. León, Guanajuato.

Correspondencia: Dr. Carlos Aldana Valenzuela. Bosques de Chapultepec 118, colonia Bosques del Parque, León 37130, Gto. Correo electrónico: caldnfp@prodigy.net.mx
Recibido: julio, 2010. Aprobado: julio, 2010.

Este artículo debe citarse como: Aldana-Valenzuela C, Prieto-Pantoja JA, Hernández-Acevedo A. Oxitocina y síndrome de secreción inapropiada de hormona antidiurética neonatal. Reporte de un caso de hiponatremia severa temprana y revisión de la bibliografía. Ginecol Obstet Mex 2010;78(12):692-696.

ingresó a nuestra institución con trabajo de parto irregular y membranas íntegras. La conducción del trabajo de parto fue mediante una infusión intravenosa de oxitocina de 33 mUs/min, diluida en solución glucosada al 5%, con un volumen infundido total de 2,000 mL en cinco horas. Debido a la no progresión del trabajo de parto, a pesar de la conducción del mismo, se realizó operación cesárea con bloqueo peridural. Se le administraron 500 mL de solución Hartmann, justo antes del nacimiento.

La niña nació vigorosa y se calificó con Apgar de 8-9 en tiempos convencionales. En la evaluación clínica inicial resultó normal, con peso de 3,650 g, por lo que se envió, junto con su madre, al servicio de Alojamiento Conjunto. En ese servicio permanecieron 30 horas y fueron dadas de alta en buenas condiciones, con cita médica general en siete días en su unidad de atención primaria correspondiente.

Ya en casa, horas más tarde, la recién nacida rechazó el seno materno y empezó a mostrar irritabilidad cada vez más acentuada, llanto incesante. La madre advirtió falta de producción de orina, por lo que fue llevada al servicio de Urgencias de nuestro hospital, donde cumplió tres días de edad. Justo a su llegada a este servicio presentó una crisis convulsiva generalizada, por lo que se le administraron 20 mg/kg de difenilhidantoína por vía intravenosa. La paciente mostró leve ictericia y peso de 3,900 kg, 250 gramos más que el peso al nacer.

Las pruebas sanguíneas iniciales reportaron: glucosa, calcio, pH y gases, y urea y creatinina dentro de los límites normales. Bilirrubina de 8 mg. Líquido cefalorraquídeo con examen citoquímico normal, cultivo negativo. El ultrasonido de cráneo sin anormalidades. Severa hiponatremia de 117 mEq/L, osmolaridad plasmática de 243 mOsm/L y densidad urinaria alta de 1.010.

La niña se ingresó a la sección de Pediatría y se trató con restricción hídrica de 50 mL/kg/día y una reposición intravenosa de sodio de 9.7 mEq/kg/día, durante 40 horas. El sodio sérico se incrementó lentamente a 122,130 y se normalizó (140 mEq) a las 48 h de tratamiento. Presentó oliguria de 0.7 mL/kg/h durante las primeras 24 h de internamiento, así como náuseas, vómito ocasional y somnolencia, pero no más convulsiones. La niña se recuperó muy bien, se suspendió la difenilhidantoína y fue dada de alta, después de tres días de estancia hospitalaria.

Volvió a evaluarse ocho días después, en el hospital, y se encontró asintomática y en buenas condiciones clínicas.

DISCUSIÓN

Aunque la frecuencia de hiponatremia perinatal puede ser tan alta como 47% en hospitales que usan soluciones libres de electrolitos para la inducto-conducción del trabajo de parto con oxitocina, la alteración generalmente es leve y asintomática.⁹ No obstante, hay reportes de casos incluso fatales que han ocurrido en mujeres en trabajo de parto expuestas a grandes cantidades de soluciones glucosadas con o sin oxitocina.¹⁰ Actualmente, para evitar la hiponatremia se recomienda diluir esta hormona en solución salina o Ringer lactado.^{4,11}

Este reporte muestra a un recién nacido de término que resultó con hiponatremia inusualmente severa y convulsiones y que es ilustrativo, por la coexistencia de varios factores contribuyentes.

La madre recibió 400 mL/hora de solución glucosada al 5% en un periodo breve de cinco horas, lo que excede —con mucho— los requerimientos de líquidos recomendados para la mujer en trabajo de parto. Si bien la restricción hídrica se asocia con trabajo de parto prolongado y disfuncional, no se recomienda exceder 200-250 mL/hora.^{4,12} A diferencia de la mujer no gestante, la embarazada, y sobre todo en trabajo de parto, tiene una capacidad limitada para eliminar las cargas de agua. La oxitocina endógena, que se eleva mucho durante el parto, puede contribuir a este efecto, que es potenciado por su administración exógena.¹³

En este escenario clínico de uso de soluciones sin electrolitos en cantidad considerable en la infusión de oxitocina llama la atención que el clínico no considere la posibilidad de hiponatremia, quizá por eso no midió la natremia materna ni la del cordón.

Un aspecto especialmente relevante en este caso fueron los signos, muy evidentes, de retención de líquidos que la recién nacida tenía al momento de su admisión al hospital. En los reportes previos revisados los niños hiponatremicos tuvieron la pérdida de peso habitual después del nacimiento,¹⁴ pero nuestro paciente presentaba oliguria, ganancia de peso de 6% al tercer día de edad, hiponatremia severa, densidad urinaria elevada y pruebas de función renal normales. Todo lo anterior es compatible con una actividad antidiurética importante, tal como ocurre en el síndrome de secreción inapropiada de hormona antidiurética. La información actual en relación con la oxitocina es limitada y no concluyente;¹⁵ sin embargo, en este caso se considera que existen suficientes elementos clínicos para pensar que

dicha relación sí puede, en ciertas circunstancias, existir. Se requiere más investigación en este sentido.

La oxitocina es un nonapéptido muy similar a la vasopresina. Algunos autores sugieren que, fisiológicamente, actúa como una hormona antidiurética, aunque de menor potencia, y que este mecanismo es dosis-dependiente.¹⁶ Aunque en la práctica clínica no hay un consenso uniforme y bien establecido en relación con la dosis máxima de oxitocina, en general se recomienda mantenerla por debajo de las 20 mUs/min, ya que con dosis superiores a 16 mUs/min se ha observado incapacidad para la depuración de agua por medio de la interacción con los receptores renales de vasopresina.^{4,17} En el caso de la paciente que aquí se reporta la madre recibió una infusión de oxitocina de 33 mUs/min, lo cual –muy probablemente– afectó su habilidad para controlar el exceso de fluidos que recibió. Este efecto generalmente es breve porque la mujer en trabajo de parto tiene una depuración rápida y eficaz de la hormona.¹⁷ Sin embargo, esto no es necesariamente cierto para el feto. Por una parte, la oxitocina atraviesa con facilidad la barrera placentaria y alcanza la circulación fetal¹⁸ y, por la otra, no hay información acerca de la farmacocinética de la misma en el feto-recién nacido, pero es factible, como sucede con tantos fármacos administrados al recién nacido, que la depuración sea más lenta debido a sus sistemas enzimáticos inmaduros, como el bajo filtrado glomerular, que ocurre en los primeros días de vida extrauterina. Todo esto, hipotéticamente, podría explicar que los efectos antidiuréticos puedan ser más prolongados en el recién nacido.

Un caso reportado¹⁹ de administración de oxitocina directa a un recién nacido es interesante porque ésta se confundió con vitamina K y porque el recién nacido sufrió hiponatremia, lo cual –en efecto– vuelve a sugerir que la oxitocina, incluso sola, puede causar hiponatremia dilucional.

El síndrome de secreción inapropiada de hormona antidiurética en recién nacidos se ha reportado en distintas circunstancias clínicas, como asfisia al nacer, infecciones pulmonares bacterianas y virales y neumotórax,²⁰ todas ellas ausentes en el caso que aquí se reporta. Hace poco se reportó un caso de síndrome de secreción inapropiada de hormona antidiurética neonatal por exposición *in utero* a antidepresivos inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina,²¹ lo cual tiene que ser considerado por el clínico. En el caso que se comunica no hubo exposición a estos fármacos.

El tratamiento de la hiponatremia dilucional es la restricción hídrica; sin embargo, cuando los signos de disfunción neurológica son severos –como en nuestra paciente–, la recomendación es elevar rápidamente la natremia con solución salina hipertónica. La corrección completa de la hiponatremia debe hacerse más gradual en 24-48 h, para evitar la desmielinización osmótica.²¹

Con la información disponible en la actualidad no podemos considerar a la hiponatremia, aun a la asintomática, como una condición benigna, ya que puede propiciar problemas en el neurodesarrollo del niño.

CONCLUSIONES

Se reportó el caso de un recién nacido con hiponatremia dilucional severa y temprana, asociada con sobrehidratación materna y altas dosis de oxitocina para conducción del trabajo de parto. Los signos de actividad antidiurética en el recién nacido fueron muy prominentes, por eso sugerían que se trataba de síndrome de secreción inapropiada de hormona antidiurética (SSIHAD), quizá debido al paso transplacentario de oxitocina y su efecto en el sistema renal neonatal. Este efecto no se ha reconocido suficientemente en la bibliografía.

Este reporte intenta atraer la atención sobre la intoxicación perinatal de agua, que aún ocurre y que puede representar riesgos significativos a la madre y a su hijo. Es una complicación evitable si el médico sigue las recomendaciones vigentes de administración de líquidos y dosis de oxitocina a la mujer en trabajo de parto. El pediatra debe considerar siempre a la hiponatremia como parte del diagnóstico diferencial de convulsiones tempranas en el recién nacido.

REFERENCIAS

1. Pittman JG. Water intoxication due to oxytocin. *N Engl J Med* 1963;268:481-482.
2. Adrogue HJ, Madias NE. Hyponatremia. *N Engl J Med* 2000;342:1581-1589.
3. Tarnow-Mordi WO, Shaw JC, Liu D, Gardner DA, Flynn FV. Iatrogenic hyponatraemia of the newborn due to maternal fluid overload: a prospective study. *Br Med J (Clin Res Ed)* 1981;283:639-642.
4. Ophir E, Solt I, Odeh M, Bornstein J. Water intoxication-a dangerous condition in labor and delivery rooms. *Obstet Gynecol Surv* 2007;62:731-738.

5. West CR, Harding JE. Maternal water intoxication as a cause of neonatal seizures. *J Paediatr Child Health* 2004;40:709-710.
6. Modi N. Hyponatraemia in the newborn. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 1998;78:F81-F84.
7. Buchan PC. Pathogenesis of neonatal hyperbilirubinaemia after induction of labour with oxytocin. *Br Med J* 1979;17:1255-1257.
8. Singhi SC, Chookang E. Maternal fluid overload during labour; transplacental hyponatraemia and risk of transient neonatal tachypnoea in term infants. *Arch Dis Child* 1984;59:1155-1158.
9. Singhi SC, Chookang E, Hall JS, Kalghatgi S. Iatrogenic neonatal and maternal hyponatraemia following oxytocin and aqueous glucose infusion during labour. *Br J Obstet Gynaecol* 1985;92:356-363.
10. Lilien AA. Oxytocin-induced water intoxication: report of a maternal death. *Obstet Gynecol* 1968;32:171-173.
11. Ruchala PL, Metheny N, Essenpreis H, Borcharding K. Current practice in oxytocin dilution and fluid administration for induction of labor. *J Obstet Gynecol Neonatal Nurs* 2002;31:545-550.
12. Garite J, Weeks J, Peters-Phair K, Pattillo C, Brewster WR. A randomized controlled trial of the effect of increased intravenous hydration on the course of labor in nulliparous women. *Am J Obstet Gynecol* 2000;183:1544-1548.
13. Wasserstrum N. Issues in fluid management during labor: general considerations. *Clin Obstet Gynecol* 1992;35:505-513.
14. Johansson S, Lindow S, Kapadia H, Norman M. Perinatal water intoxication due to excessive oral intake during labour. *Acta Paediatr* 2002;91:811-814.
15. Sasaki S. Is oxytocin a player in antidiuresis? *J Am Soc Nephrol* 2008;19:189-190.
16. Chou CL, DiGiovanni SR, Mejia R, Nielsen S, Knepper MA. Oxytocin as an antidiuretic hormone. I. Concentration dependence on action. *Am J Physiol* 1995;269:F70-77.
17. Smith JG, Merrill DC. Oxytocin for induction of labor. *Clin Obstet Gynecol* 2006;49:594-608.
18. Malek A, Blann E, Mattison DR. Human placental transport of oxytocin. *J Matern Fetal Med* 1996;5:245-255.
19. Hoff DS, Maynard RC. Accidental administration of oxytocin to a premature infant. *Neonatal Netw* 2002;21:27-29.
20. Gross P. Treatment of hyponatremia. *Intern Med* 2008;47:885-891.
21. Moritz ML, Ayus JC. Hyponatremia in preterm neonates: not a benign condition. *Pediatrics* 2009;124:e1014-1016.

Tumor del estroma gastrointestinal en el embarazo y control posterior. Caso clínico

Marcos Javier Cuerva-González,* Sara Iacoponi,* María de la Calle-Fernández,** Juan Pozo-Krieling***

Nivel de evidencia: III

RESUMEN

Los tumores del estroma gastrointestinal son los tumores más comunes del mesénquima del tubo digestivo. Aun así su incidencia se estima en aproximadamente 10 a 20 casos por cada millón de habitantes al año. Más de 90% de estos tumores ocurren en pacientes de más de 40 años. La edad media al diagnóstico es de 63 años. Su diagnóstico durante la gestación es realmente infrecuente, existen menos de diez casos en la bibliografía en los que coexisten un tumor del estroma gastrointestinal y la gestación. Se comunica el caso de una paciente que en su primera gestación fue diagnosticada de un tumor del estroma gastrointestinal tras una hemorragia digestiva masiva y el feto murió. Se realizó la resección del tumor y cesárea. Posteriormente se controló por obstetricia, cirugía digestiva y oncología. Los siguientes dos embarazos fueron normales, seis años después del diagnóstico se encuentra asintomática. A pesar de que sean tumores muy raros en el embarazo, es de suma importancia conocer su diagnóstico y tratamiento multidisciplinario, al igual que conocer sus factores pronósticos y posibles abordajes terapéuticos.

Palabras clave: tumor, estroma, gastrointestinal, gestación, GIST.

ABSTRACT

Gastrointestinal stromal tumors are the commonest stromal tumors of the digestive tract. Even though, the incidence is approximately 10 to 20 cases per million people and year. More than 90% of these tumors take place in patients over 40, and the median age is 63. Its diagnosis during pregnancy is extremely rare. There are less than 10 cases reported in literature about gastrointestinal stromal tumors diagnosed during pregnancy. We describe the case of a patient who was diagnosed of gastrointestinal stromal tumor during her first pregnancy due to massive lower digestive bleeding and the fetus died. She underwent a small bowel resection and cesarean section delivery. Afterwards, she was controlled by obstetricians, digestive surgeons and oncologists. The following two pregnancies were normal, and six years since the diagnosis she is asymptomatic. Even if they are extremely rare tumors during pregnancy, it is very important knowing their diagnosis and multidisciplinary treatment; also very important is knowing their prognostic factors and the different possible treatments.

Key words: tumour, stromal, gastrointestinal, pregnancy, GIST.

RÉSUMÉ

Les tumeurs du stroma gastro-intestinal sont les tumeurs les plus communes du mésenchyme du tube digestif. Même si leur incidence s'estime de manière approximative dans 10 à 20 cas sur chaque million d'habitants par année. Plus de 90% de ces tumeurs se passe chez des patientes de plus de 40 ans, la moyenne d'âge lors du diagnostic est de 63 ans. Leur diagnostic pendant la gestation est réellement rare, il existe moins de dix cas dans la bibliographie dans lesquels coexistaient une tumeur du stroma gastro-intestinal et la gestation. On rapporte le cas d'une patiente qui dans sa première gestation a été diagnostiquée avec une tumeur du stroma gastro-intestinal suivant une hémorragie digestive massive en mourant le fœtus. On a réalisé une résection de la tumeur et césarienne. Postérieurement elle a été contrôlée par obstétrique, chirurgie digestive et oncologie. Les deux grossesses suivantes ont été normales, six ans après le diagnostic, elle se trouve asymptomatique. Malgré la rareté de ces tumeurs dans la grossesse, il est très important de connaître leur diagnostic et traitement multidisciplinaire, de même que connaître leurs facteurs pronostiques et abordages thérapeutiques possibles.

Mots-clés: tumeur, stroma, gastro-intestinal, gestation, GIST.

RESUMO

Os tumores do estroma gastrointestinal são os tumores mais comuns da mesênquima do tubo digestivo. Ainda assim sua incidência se estima em aproximadamente 10 a 20 casos por cada milhão de habitantes ao ano. Mais de 90% desses tumores ocorrem em pacientes com mais de 40 anos. A idade média do diagnóstico é de 63 anos. O diagnóstico durante a gestação é realmente infrequente, existem menos de dez casos na bibliografia nos que coexista um tumor do estroma gastrointestinal e na gestação. Comunica-se o caso de uma paciente que em sua primeira gestação foi diagnosticada com um tumor de estroma gastrointestinal trás uma hemorragia digestiva mas-siva e o feto morreu. Foi realizada uma ressecção do tumor e cesárea. Posteriormente foi controlado por obstetrícia cirúrgica digestiva e oncologia. As duas gestações seguintes foram normais, seis anos depois do diagnóstico se encontra assintomática. Apesar de que são tumores raros na gravidez, é muito importante conhecer o diagnóstico e tratamento multidisciplinário, ao igual que conhecer seus fatores prognósticos e possíveis abordagens terapêuticas.

Palavras-chave: tumor, estroma, gastrointestinal, gestação, GIST.

Los tumores del estroma gastrointestinal son los tumores más comunes del mesénquima del tubo digestivo.¹ Su incidencia se estima en aproximadamente 10 a 20 casos por cada millón de habitantes al año,² aunque otros estudios refieren una incidencia de 20 a 40 casos por cada millón al año.³

Más de 90% de estos tumores ocurren en pacientes de más de 40 años, la edad media al diagnóstico es de 63 años; a pesar de esto existen casos en edad pediátrica.

Respecto al género, un estudio refiere un leve predominio en el masculino.² No existen diferencias en lo que se refiere a incidencia entre raza, distribución geográfica ni profesión.²

La localización más común es el estómago (50-60% de los casos), luego en el intestino delgado (30-40%), colon y recto (5-10%) y esófago (5%); mucho menos frecuente es en el mesenterio, retroperitoneo, omento; incluso existen casos alejados del tubo digestivo.¹

Debido a la distribución por edad de los tumores del estroma gastrointestinal, su diagnóstico durante la gesta-

ción es realmente infrecuente, de modo que existen menos de diez casos en la bibliografía en los que confluyan un tumor del estroma gastrointestinal y la gestación; y sólo uno de ellos se ha centrado en la evolución posterior de la paciente desde un punto de vista ginecoobstétrico.⁴

CASO CLÍNICO

Paciente femenina de 39 años, que cursaba su primer embarazo. Tuvo control prenatal sin complicaciones: índice de masa corporal de 31, ciclo menstrual 4/28, menarca a los 14 años; serologías de hepatitis, VIH, toxoplasma, sífilis, y rubéola negativas. Dos ecografías obstétricas mostraron una gestación en curso sin alteraciones. No tenía antecedentes familiares de interés.

Acudió al hospital en la semana 25 de gestación por una hemorragia digestiva masiva de menos de una hora de evolución. Los análisis preoperatorios indicaron hemoglobina de 2 g/dL y plaquetas $7 \times 10^3/\mu\text{L}$. Se realizó una ecografía obstétrica donde se observó un feto acorde con la edad gestacional, con movimientos cardiacos fetales ausentes y las asas intestinales muy distendidas.

Se realizó una laparotomía media infraumbilical urgente y se extirpó un tumor exofítico de 15 cm en el íleon distal a 12 cm de la válvula ileocecal. En la misma intervención se realizó una cesárea mediante histerectomía segmentaria transversa y se obtuvo un feto muerto de 720 g de peso.

A los tres días de la intervención la paciente sufrió un cuadro de insuficiencia respiratoria grave, que coincidió con el hallazgo de infiltrados bilaterales en una radiografía de tórax. Se sospechó una embolia de líquido amniótico. Se colocó un filtro de vena cava inferior y en los tres días siguientes la paciente tuvo un cuadro de trombosis venosa profunda de vena iliaca derecha.

* Médico residente, departamento de Ginecología y Obstetricia.

** Médico especialista, departamento de Ginecología y Obstetricia, Hospital Universitario La Paz, Madrid. Profesora de Ginecología y Obstetricia de la Universidad Autónoma de Madrid.

*** Médico residente, departamento de Anatomía Patológica. Hospital Universitario La Paz, Madrid, España.

Correspondencia: Dr. Marcos Javier Cuerva González. San Bernardo 83, 1º pta. 7. 28015, Madrid, España. Correo electrónico: marxichos@hotmail.com

Recibido: julio, 2010. Aprobado: agosto, 2010.

Este artículo debe citarse como: Cuerva-González MJ, Iacoponi S, De la Calle-Fernández M, Pozo-Krieling J. Tumor del estroma gastrointestinal en el embarazo y control posterior. Caso clínico. Ginecol Obstet Mex 2010;78(12):697-702.

www.nietoeditores.com.mx

El estudio anatómo-patológico reveló un tumor del estroma gastrointestinal de 15 x 12 cm (Figuras 1 y 2). Se realizó un estudio inmunohistoquímico positivo para c-Kit/CD 117, con un índice mitótico < 5/50 HPF y Ki67 < 1% (Figuras 3 y 4).

Tras 22 días desde la intervención, la paciente se encontraba estable y con buen estado general y fue dada de alta, con controles por los servicios de oncología, cirugía digestiva y ginecología y obstetricia.

Una vez pasados seis meses desde la resección del tumor, el equipo de oncología le realizó una revisión sin hallazgos, y se realizó un PET-TC que no reveló ningún foco que hiciera sospechar metástasis o recurrencia tumoral. Con esta prueba la paciente reiteró su deseo

genésico y acudió nuevamente a nuestro servicio de Ginecología y Obstetricia para atenderse en la división de esterilidad.

A los dos años, ya con 41 años, la paciente continuaba con su seguimiento multidisciplinario y seguía en tratamiento con acenocumarol. Acudió a una clínica privada para realizarse técnicas de reproducción asistida. Mediante fecundación *in vitro* logró la gestación, que se controló en nuestro centro. La gestación se controló como gestación de alto riesgo, en tratamiento con enoxaparina 40 mg/12 h desde el principio y discurrió sin complicaciones. Se decidió la resolución del embarazo en la semana 38 mediante cesárea por deseo materno y se obtuvo un recién nacido masculino vivo de 3,200 gramos.



Figura 1. Tumor del estroma gastrointestinal.

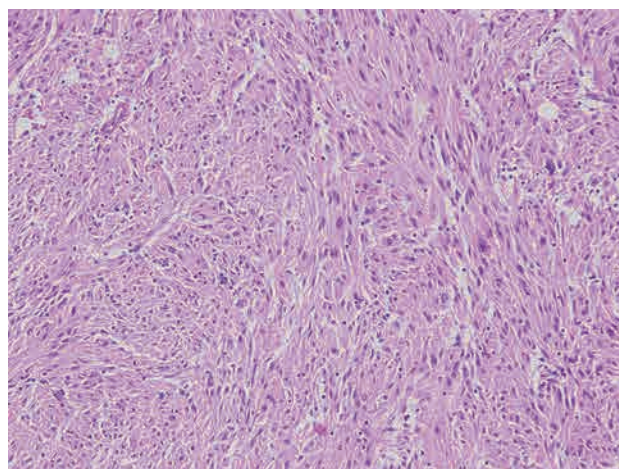


Figura 3. Tinción de hematoxilina-eosina, 20x.



Figura 2. Tumor del estroma gastrointestinal.

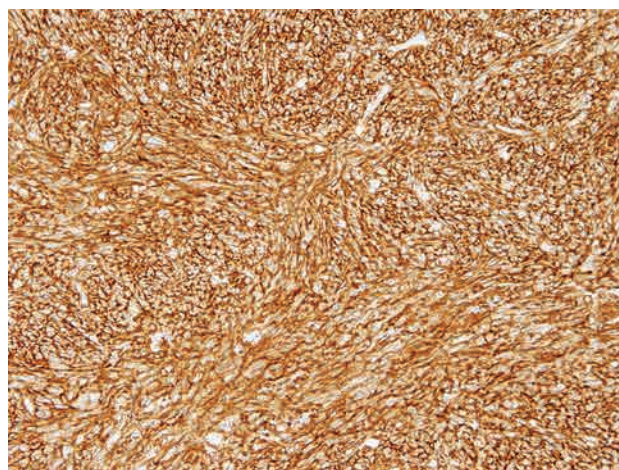


Figura 4. Tinción con marcador inmunohistoquímico CD117, 20x.

Con 43 años de edad (cuatro años después de la intervención) la paciente quedó nuevamente embarazada, en esta ocasión espontáneamente; se realizó un control de la gestación similar al previo. Nuevamente se decidió la resolución del embarazo mediante cesárea a las 38 semanas y se obtuvo en esa ocasión un recién nacido femenino vivo de 3,050 gramos. Se realizó la ligadura de trompas en la misma intervención tras consentimiento informado materno.

Seis años después de la intervención la paciente continúa asintomática, con pruebas de imagen negativas y seguimiento anual por el servicio de oncología. Sus dos hijos no padecen enfermedades relevantes.

DISCUSIÓN

En la bibliografía son muy escasos los casos clínicos de tumores del aparato digestivo durante el embarazo, mucho menos de tumores del estroma gastrointestinal. Se han encontrado menos de diez casos durante el embarazo.

Estos tumores ocurren habitualmente en pacientes de más de 40 años. Pueden afectar las distintas partes del aparato digestivo; la localización más común es el estómago (50-60% de los casos), seguida del intestino delgado (30-40%).¹ En general, se considera que el tamaño de estos tumores varía mucho, debido a que con frecuencia tardan en producir síntomas, se describen tumores del estroma gastrointestinal desde milimétricos hasta mayores de 30 cm; la media en el diagnóstico se sitúa entre 5 y 8 cm.⁵

Una vez que aparecen los síntomas, su presentación es muy errática. La bibliografía refiere que sólo 70% desarrolla síntomas, 20% es asintomático y 10% se detecta en la autopsia.² La hemorragia intestinal es la presentación clínica más común, se produce como consecuencia de la erosión del lumen del tubo gastrointestinal, y suele aparecer como un cuadro de abdomen agudo. En ocasiones, la hemorragia únicamente tiene lugar hacia la luz del tubo digestivo, en estos casos la anemia, la melena o la hematemesis (dependiendo de la localización del tumor y de su tamaño) alertan acerca de un posible cuadro tumoral.⁵

Los síntomas de estos tumores, cuando afectan al intestino delgado, son poco significativos, habitualmente implican un retraso de seis meses desde el inicio de los síntomas hasta el diagnóstico.⁵ El cuadro se compone de náuseas, vómitos, malestar abdominal y falta de apetito; cuadro que perfectamente puede confundirse con los sínto-

mas comunes de un embarazo.⁵ La posible pérdida de peso puede hacernos sospechar el origen tumoral del cuadro, para así evitar realizar el diagnóstico cuando el tumor ya se haya manifestado a través de un cuadro hemorrágico, ya sea hacia la cavidad o el peritoneo.

El proceso diagnóstico incluye muchas pruebas de imagen como la TC, pruebas de imagen con bario, angiografía, etcétera; aunque ninguna de estas pruebas puede asegurar el diagnóstico de tumor del estroma gastrointestinal. Realizar una biopsia percutánea está totalmente contraindicado por el riesgo de rotura y diseminación tumoral.⁵ Por tanto, el diagnóstico de tumor del estroma gastrointestinal habitualmente se realiza después de obtener la pieza quirúrgica.

Macroscópicamente hay un crecimiento exofítico, que se traduce en la visión por laparotomía de una masa que desplaza los órganos adyacentes proveniente del tubo digestivo. En 50% de los casos se observa ulceración de la mucosa en la pieza quirúrgica.⁶ Microscópicamente destaca el papel del marcador inmunohistoquímico CD117 o KIT⁷ hallado en al menos 95% de los tumores del estroma gastrointestinal; se trata de un factor de crecimiento transmembrana con actividad tirosina cinasa.⁸ Otros marcadores inmunohistoquímicos destacables en estos tumores son el CD34 (en 60-70% de los tumores del estroma gastrointestinal), la SMA (actina de músculo liso en 30-40%) y la proteína S-100 (en sólo 5%).⁸

En cuanto al pronóstico es difícil predecir si algún tumor del estroma gastrointestinal va o no a recurrir tras una resección completa. De hecho, las tasas de supervivencia en general tras la cirugía en este tipo de tumores varían de 28 a 65% a los cinco años.³ La causa principal de mal pronóstico es la recurrencia de la enfermedad, ya que una vez diagnosticada, la supervivencia media se sitúa entre 9 y 20 meses.³ Todo esto se debe a que en el momento del diagnóstico la neoplasia ya se encuentra diseminada en 20-40% de los casos. La diseminación es fundamentalmente intra-abdominal o hepática y prácticamente no ocurre por vía linfática, por lo que no es necesario realizar linfadenectomía en las intervenciones.

Se han identificado distintas variables para tratar de identificar el comportamiento clínico de los tumores del estroma gastrointestinal. Destacan tres factores como los principales en cuanto a la predicción del riesgo de recurrencia del tumor, una vez resecado: el índice mitótico, la localización del tumor y el tamaño.⁸

El índice mitótico sobresale como el predictor de riesgo más importante, se le atribuye un índice de riesgo para recurrencia de 14.6 cuando es mayor o igual a 5 mitosis por cada 50 campos a gran aumento ($> 5/50$ HPF). Respecto a la localización, tras la resección, tienen mayor riesgo de recurrencia los localizados en el intestino delgado que los situados en el estómago (índice de riesgo de 3.3). Acerca del tamaño, se les atribuye un riesgo de recurrencia de 2.5 a los mayores de 10 cm. Con estos factores pronósticos principales se han propuesto varias clasificaciones, de las que destaca la de Fletcher (Cuadro 1).⁹

Cuadro 1. Riesgo de recurrencia de tumor del estroma gastrointestinal

Riesgo	Tamaño	Índice mitótico
Muy bajo	< 2 cm	< 5/50 HPF
Bajo	2-5 cm	< 5/50 HPF
Intermedio	< 5 cm	6-10/50 HPF
	5-10 cm	< 5/50 HPF
Alto	> 10 cm	Cualquier Índice
	Cualquier tamaño	> 10/50 HPF
	> 5 cm	> 5/50 HPF

HPF: *High Power Field*, Campo Alto Aumento.

Adaptado de Fletcher, 2002.⁹

Existen también otros factores pronósticos de menor importancia como: la rotura o no del tumor durante la resección quirúrgica, la proliferación celular estimada inmunohistoquímicamente con el Ki67, el índice de aneuploidías. Recientemente se valora la expresión de la telomerasa como factor de mal pronóstico.⁸

En lo que se refiere al tratamiento, la cirugía es aún la única técnica con posibilidades curativas. Las técnicas principales son la resección en cuña a nivel del estómago o la resección segmentaria a nivel intestinal.

Es muy importante evitar la rotura del tumor durante su resección para minimizar el riesgo de implantes. La linfadenctomía no es necesaria a no ser que las cadenas ganglionares locorregionales muestren adenopatías macroscópicas.

La quimioterapia convencional obtiene resultados muy pobres, con una tasa de respuestas en torno a 5%;⁸ Debido a la localización de estos tumores la radioterapia no es una opción, ya que no pueden administrarse dosis altas, ni bien focalizadas en el aparato digestivo.

La aproximación terapéutica que supuso una revolución en los tumores del estroma gastrointestinal fue el imatinib mesilato, que es un inhibidor selectivo de las tirosincinasas. Hasta 80% de los pacientes con tumores del estroma gastrointestinal avanzados responden al imatinib.⁸ El imatinib se usa como tratamiento neoadyuvante en tumores recurrentes inoperables, y cada vez más como coadyuvante tras cirugía de tumores del estroma gastrointestinal con factores de mal pronóstico, debido al índice mitótico o al tamaño tumoral.

En lo que respecta al embarazo, existen menos de diez casos en la bibliografía en los que se describe un tumor del estroma gastrointestinal durante la gestación,^{4,10} se desconoce si los cambios que acontecen durante la gestación influyen en el tumor. La posibilidad de metástasis al feto o al útero de este tumor también se desconoce.⁴ El tratamiento recomendado sería el mismo que en la mujer no embarazada respecto al procedimiento quirúrgico; sin embargo, no existe ningún estudio acerca de la posibilidad de administrar imatinib durante la gestación, por lo que su uso debería limitarse a cuando fuese estrictamente necesario.

Otro problema que plantea este caso es el deseo genésico de la paciente. El riesgo de recurrencia tras la resección de un tumor del estroma gastrointestinal nunca es nulo, y su comportamiento es a menudo impredecible.⁸

El tumor de la paciente de esta comunicación poseía dos factores de riesgo de recurrencia (tamaño > 10 cm y localización en el intestino delgado (íleon) y según clasificaciones aceptadas, como la de Fletcher,⁹ sólo por el tamaño se hubiera clasificado como de muy alto riesgo respecto al pronóstico. En este caso, la paciente decidió lograr la gestación a través de un centro privado tras dos años de pruebas de imagen negativas (incluido un PET-TC negativo a los seis meses de la resección), y nuevamente quedó embarazada a los cuatro años. La única experiencia similar en la bibliografía⁴ sufrió una recurrencia de la enfermedad a los seis años. Por fortuna, nuestra paciente se encuentra actualmente asintomática, seis años después del diagnóstico.

Como conclusión, el diagnóstico de tumor del estroma gastrointestinal durante la gestación es realmente infrecuente. Los síntomas son vagos, siempre y cuando no haya complicaciones de tipo hemorrágico; además, la incidencia es realmente baja en la población general,⁵ 20 a 40 por cada millón de habitantes al año.³ Por tanto, la experiencia

con el tratamiento de este tipo de tumores en pacientes obstétricas es escasa, lo que realza la importancia de un abordaje multidisciplinario entre obstetras, oncólogos y cirujanos digestivos y pone de manifiesto la necesidad de aportar estos casos a la bibliografía científica. Así, la atención de múltiples expertos y la bibliografía científica parecen ser el camino para lograr la mejor aproximación terapéutica para estas pacientes.

REFERENCIAS

1. Miettinen M, Lasota J. Gastrointestinal stromal tumors –definition, clinical, histological, immunohistochemical, and molecular genetic features and differential diagnosis. *Virchows Archiv* 2001;438(1):1-12.
2. Kim KM, Kang DW, Moon WS, Park JB, et al. Gastrointestinal Stromal Tumor Committee; The Korean Gastrointestinal Pathology Study Group. Gastrointestinal stromal tumors in Koreans: incidence and the clinical, pathologic and immunohistochemical findings. *J Korean Med Sci* 2005;20:977-984.
3. Cichoż-Lach H, Kasztelan-Szczerbińska B, Słomka M. Gastrointestinal stromal tumors: epidemiology, clinical picture, diagnosis, prognosis and treatment. *Pol Arch Med Wewn* 2008;118(4):216-221.
4. Scherjon S, Lam WF, Gelderblom H, Jansen FW. Gastrointestinal stromal tumor in pregnancy: a case report. *Case Report Med* 2009;2009:456402.
5. Stamatakis M, Douzinas E, Stefanaki C, Safioleas P, et al. Gastrointestinal stromal tumor. *World J Surg Oncol* 2009;7:61.
6. Akahoshi K, Sumida Y, Matsui N, Masafumi O, et al. Preoperative diagnosis of gastrointestinal stromal tumor by endoscopic ultrasound –guided fine needle aspiration. *World J Gastroenterol* 2007;13(14):2077-2082.
7. Fernández JA, Parrilla P. Surgical treatment of an advanced GIST the age of imatinib. *Cir Esp* 2009;86(1):3-12.
8. Chaudhry UI, DeMatteo RP. Management of resectable gastrointestinal stromal tumor. *Hematol Oncol Clin North Am* 2009;23(1):79-96, viii.
9. Fletcher CD, Berman JJ, Corless C, Gorstein F, et al. Diagnosis of gastrointestinal stromal tumors: a consensus approach. *Hum Pathol* 2002;33:459-465.
10. Lanzafame S, Minutolo V, Caltabiano R, Minutolo O, et al. About a case of GIST occurring during pregnancy with immunohistochemical expression of epidermal growth factor receptor and progesterone receptor. *Pathol Res Pract* 2006;202(2):119-123.



*Rutina Diagnóstica de la Esterilidad Femenina**

Por los Dres. Carlos D. GUERRERO,
Jorge ROYALO JIMÉNEZ y
Luis VIRAMONTES.

De la Asociación Mexicana de Estudios de Esterilidad. México, D. F.

El enorme incremento que ha adquirido el estudio del problema de la esterilidad conyugal en los últimos años, ha llevado al convencimiento de proceder a un estudio planificado de ambos cónyuges y solamente después de conocidos los diversos factores etiológicos que aparecen como responsables de la esterilidad, se procederá a los tratamientos adecuados. Es más lógico establecer que el espermatozoide penetra el moco cervical, vive ahí, puede llegar a la extremidad distal de la trompa y ahí alcanzar el óvulo, que someter a la paciente a un tratamiento médico empírico y en ocasiones cruento, muchas veces no exento de peligro.

Motivan estas consideraciones previas, aquellas pacientes estériles que deambulan por los consultorios no especializados y que han sido tratadas en forma errónea, aunque de perfecta buena fe, por colegas absolutamente éticos y competentes pero sin un concepto y un entrenamiento correctos de lo que significa el diagnóstico de la causa de esterilidad.

Los hechos anteriores han justificado que la ASOCIACIÓN MEXICANA PARA ESTUDIO DE LA ESTERILIDAD, haya publicado en mayo de 1950 y recomendado entre sus asociados una forma especial de historia clínica y fijado los requerimientos mínimos para el estudio de la pareja estéril.

* TEMA OFICIAL. Presentado ante la V Reunión Nacional de Ginecología y Obstetricia, San Luis Potosí. Sept., 15-18, 1954.

Reproducido de GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA DE MÉXICO 1955;X(1):47-51.

www.nietoeditores.com.mx

Como el tema de esta comunicación se refiere exclusivamente a la rutina diagnóstica de la esterilidad femenina, pasaremos por alto todos los problemas relativos al varón, no sin destacar un hecho que es de importancia capital: la necesidad del estudio completo de ambos cónyuges.

CONCEPTO GENERAL Y EXPLICACIÓN DE LAS CAUSAS DE ESTERILIDAD

Para que se efectúe el embarazo es indispensable la fusión del gameto masculino con el gameto femenino; puesto que entendemos por esterilidad la incapacidad de una pareja para alcanzar una fecundación, enumeraremos las condiciones y exigencias para que una mujer pueda ser fecundada:

1. Que el marido produzca espermatozoides en número suficiente y con fisiología normal (factor masculino).
2. Que no existan obstáculos a la migración de los gametos (espermatozoide y óvulo) en el aparato genital femenino. Lo anterior exige:
 - a) que exista la posibilidad de que los espermatozoides sean puestos en sitio apropiado de la mujer, sobrevivir ahí y luego poder penetrar el endocérnix (factor masculino-femenino combinado o cérvico-vagino-espermático).
 - b) que los espermatozoides y el óvulo puedan llegar a las trompas, sitio en donde se realiza la fecundación (factor mecánico de tránsito o factor femenino útero-tubario-peritoneal).

3. Que la mujer sea capaz más o menos regularmente, de producir un óvulo normal (factor endócrino-ovárico).
4. Que el huevo temprano resultante de la fusión óvulo-espermática, encuentre "nido" protector en el endometrio (factor endometrial).

MÍNIMO DE ESTUDIOS QUE DEBERÁN EFECTUARSE EN LA MUJER ESTÉRIL

1. Estudio clínico general que comprende:
 - a) Historia clínica con eminente orientación gineco-endócrina.
 - b) Examen físico completo.
 - c) Bacteriología y parasitoscopia uretro-vagino-cervical.

2. Estudio clínico especializado:

No concurriendo algún factor que autorice la postergación del desarrollo del estudio, como sería por ejemplo el no haber transcurrido un período suficiente de actividad sexual entre los cónyuges o la necesidad de reglamentar dicha actividad a manera que se ejercite de preferencia durante los períodos de fertilidad, o de encomendar que se normalice la verificación del acto sexual, etc., se pondrán en marcha los diversos métodos de diagnóstico para establecer las condiciones en que se encuentran los factores que concurren para permitir la fecundación.

A. Factor masculino-femenino combinado o cérvico-vagino-espermático: su investigación exige los siguientes estudios:

- a) Espermatobioscopia en contenido vaginal post-coito y prueba de HÜHNER, según la técnica de RODRÍGUEZ VILLA.
- b) Prueba de cristalización del moco cervical.

B. Factor mecánico de tránsito o factor femenino útero-tubarío-peritoneal: su investigación se realiza por medio de:

- a) Insuflación útero-tubaria quimográfica o prueba de RUBIN.
- b) Histerosalpingografía, simple completa (ginecografía).

No son estudios que se sustituyen sino que se complementan; la prueba de RUBIN enseña el grado y la calidad

de la permeabilidad tubaria, en tanto que la histerosalpingografía con prueba de control del COTTE a las 24 horas, muestra el sitio donde existe obstrucción (si la prueba RUBIN fue negativa), la forma y tamaño de la cavidad uterina y hace aparentes pequeños miomas, pólipos intracavitarios y alteraciones congénitas que pueden pasar desapercibidos al examen ginecológico común y además, enseña cuál es el estado del peritoneo en el espacio tubo-ovárico.

C. Factor endócrino-ovárico. Ovulación. Factor endometrial:

Estrictamente, no existen pruebas de uso clínico capaces de determinar con absoluta certeza la ocurrencia de ovulación y todas se basan en las modificaciones del organismo femenino debidas a la acción de la progesterona:

- a) Biopsia de endometrio: La prueba más útil es el estudio histofisiológico de la biopsia del endometrio premenstrual, que nos proporciona los siguientes datos: transformación lútea como signo de ovulación (excepción hecha de los casos de luteinización folicular sin puesta ovular o de falta de receptividad endometrial al estímulo hormonal), estado de la mucosa en cuanto a "nido" del futuro huevo y diagnóstico de tuberculosis endometrial.
- b) La curva de temperatura basal es de gran utilidad y puede señalar con cierta precisión la existencia y la fecha de la ovulación.
- c) La cristalización "negativa" del moco cervical en fecha premenstrual es considerada como demostración de acción progesterónica cuando fue "positiva" en la fecha probable de ovulación; su utilización así como la de otros métodos (citología vaginal, potencial eléctrico, dosificaciones hormonales, etc.) para diagnosticar ovulación, resultan complicados o infieles por lo cual no son considerados como requerimientos indispensables para el estudio de la esterilidad femenina.

3. Algunas pruebas accesorias y su utilización

Hasta aquí se han enumerado las pruebas y los factores principales, pero existen varias causas de esterilidad no incluidas en estos grupos, pudiendo mencionarse por ejemplo: los factores psíquicos o psicosomáticos, la impotencia masculina, el vaginismo, la falta de educación en cuanto a fechas de acoplamiento, la infertilidad periódica

de algunas mujeres, etc.; estos factores serían motivo de estudios especializados.

Asimismo, para completar el estudio de la mujer estéril en sus cinco factores enumerados, pueden emplearse algunas pruebas que titulamos accesorias o complementarias como:

- a) Fluidez y claridad del moco endocervical, muy importante para explicar esterilidades por factor endocervical.
- b) Las dosificaciones hormonales, en casos selectos de trastornos hormonales.
- c) La peritoneoscopia pélvica por vía transvaginal o culdoscopia, que tiende a constituirse en prueba de consultorio.

Todavía podrían describirse muchas otras pruebas que han sido publicadas, pero las cuales son aplicables a casos particulares o bien requieren equipo o técnicas especiales.

RUTINA DIAGNÓSTICA DE LA ESTERILIDAD FEMENINA

Nos resta solamente señalar en forma condensada cómo conducimos la investigación en la práctica profesional de nuestros consultorios en la cual hacemos todo el mínimo de pruebas antes enumeradas.

En resumen, nuestra rutina diagnóstica para casos de esterilidad es como sigue:

Primera consulta:

Se recomienda que esta visita tenga lugar en cuanto concluya una regla (teniendo en cuenta que el primer día de la regla corresponde al primer día del ciclo, la visita se efectúa el octavo día del ciclo aproximadamente).

1. *Historia clínica general, insistiendo en:*

- a) Antecedentes. Infecciones (tifoidea, parotiditis, fiebres ondulantes, tuberculosis, sífilis, parasitosis, etc.), nutricionales, tóxicos (tabaquismo, alcoholismo) y quirúrgicos. Hábitos y costumbres (incluyendo las sexuales). Con relación a los padres y familiares; fertilidad, hábitos, infecciones.
- b) Exploración física-general: que verá principalmente el desarrollo somático y el biotipo (orientación endocrinológica); taras y estigmas; cardiopatías

y tuberculosis (en ocasiones es preferible dejar a una mujer estéril cuando se confirma que es una cardiópata o tuberculosa). Ginecológica: En la primera consulta sólo es posible tener una impresión “gruesa” del estado de los genitales femeninos (desarrollo, no infección aparente, forma, tamaño y situación del útero, no existencia de proceso agudo o crónico pélvico).

2. *Toma de producto para estudio de secreciones genitales:* Se hacen frotis y cultivos, que se remiten al laboratorio, con el objeto de investigar si existe o no un proceso infeccioso genital.

Entre la primera y segunda consulta (del 7o. y 8o. al 10o. y 11o. día del ciclo)

Se solicitan al laboratorio los siguientes exámenes: Metabolismo basal, biometría hemática, dosificación de colesterol, WASSERMAN y KAHN. Si se juzga necesario se ordenarán pruebas adicionales: radiografías de tórax, tuberculina, dosificación de urea, análisis general de orina, curva de glucemia, etc.

Segunda consulta: (del 9o. al 12o. día del ciclo)

La enferma debe traer el resultado de los análisis ordenados; si aquel que se relaciona con la investigación de un proceso séptico en cuello o trompas es negativo, estamos autorizados para iniciar exploraciones intrauterinas:

1. *Histerometría y dilatabilidad del canal cervical*, a la vez que se investiga la dirección del canal (muy útil para las exploraciones subsecuentes).
2. *Índice uterino*, o sea la relación del tamaño del cuerpo, sobre el tamaño del cuello; normalmente será: cuerpo mayor que cuello.
3. *Permeabilidad tubaria*, con insuflación. Se recomienda muy particularmente la salpingo-kimografía (prueba de RUBIN, aparatos diversos).

Tercera consulta: (13o. día del ciclo)

Durante los días transcurridos entre la segunda y tercera consultas, la enferma deberá guardar reposo relativo y observar las molestias a que dio lugar la exploración y pruebas de la 2a. consulta. Así pues se interroga y explora:

1. *Molestias:* sangrado, dolor de hombro, fiebre o aun reacción peritoneal.

2. *Exploración de la enferma*, para ratificar o rectificar los datos del interrogatorio.
3. *Se toma el pH vaginal y endocervical* (es la época apropiada, a mitad del ciclo, fecha supuesta de ovulación); se investiga fluidez del moco endocervical.

Después de la tercera consulta:

Se indica la prueba de HÜHNER modificada por RODRÍGUEZ VILLA para 24 horas después (13o. a 15o. día del ciclo).

Cuarta consulta: (del 26o al 28o. día del ciclo, es decir inmediatamente antes de la regla)

En esta ocasión se toma exclusivamente la biopsia de endometrio. Esta prueba se efectúa inmediatamente antes de la iniciación de la regla, pero puede ocurrir que se le adelante la regla a la enferma en cuyo caso, debe estar advertida de presentarse en el consultorio durante las primeras seis horas de su regla; por el contrario si la regla se atrasa se deberán hacer tomas repetidas de biopsia cada 4 ó 5 días. No es necesaria la anestesia; se recomienda la abstención sexual previa.

A partir de esta cuarta consulta:

A partir de este ciclo la enferma debe iniciar la toma de una gráfica de temperatura basal.

Con todos estos datos, se cuenta con elementos suficientes para poder hacer diagnóstico de la causa de la esterilidad, pronóstico del caso y aun iniciar el tratamiento.

PRUEBAS ADICIONALES

La histerosalpingografía debe hacerse en los casos en que después de tres meses de insuflaciones repetidas el resultado ha sido negativo o bien en aquellos casos de mujer operada previamente en quien sospechamos ausencia de una o ambas trompas; así como para confirmar la existencia de tumores.

La prueba de KURZROK, como complementaria de la de HÜHNER (se coloca una gota de moco endocervical en un portaobjetos y una gota de semen inmediatamente contigua; al taparlas con un mismo cubreobjetos ambas gotas se juntan y se estudian al microscopio con el objeto de investigar si el moco endocervical es o no penetrado por el espermatozoide).

Las dosificaciones hormonales, en algunos casos endocrinos.

La Douglascopia para confirmar algunos diagnósticos.

Si en la *espermatobioscopia* se encuentra la más mínima anormalidad, se refiere el marido al urólogo especializado en esterilidad masculina.



Índice de materias del volumen 78, 2010

Accidentes e incidentes en cirugía ginecológica

Carlos Quesnel-García Benítez, Ricardo Nicolás Avilés-Cabrera, 238

Ácido láctico y lactoserum en infecciones vulvovaginales
María de la Luz Bravo, Luis A Hernández-López y colaboradores, 540

Alfa fetoproteína como predictor temprano de desenlace perinatal adverso

Ricardo García-Cavazos, Alinne Colín-Valenzuela, Salvador Espino y Sosa, 268

Anticoncepción con hormonales combinados en ciclos extendidos artificialmente

Edgardo Bustillos-Alamilla, J Zepeda-Zaragoza, MA Hernández-Ruiz, Carlos Humberto Briones-Landa, 37

Apego al ibandronato mensual en mujeres mexicanas y chilenas con osteoporosis, con o sin una estrategia de bio-retroalimentación

Pedro García-Hernández, Sebastián Carranza-Lira, Eduardo Motta-Martínez, 322

Aspectos ultraestructurales de la infección por VIH-1 en vellosidades placentarias humanas tratadas con zidovudina

Olivar Clemente Castejón-Sandoval, Ángela Josmar López-González, Oliver Clemente Castejón-Morett, 335

Atención de la resistencia a la insulina en el síndrome de ovarios poliquísticos

Marcelino Hernández-Valencia, Marion Hernández-Rosas, Arturo Zárate, 612

Cáncer de mama y embarazo subsiguiente. Infertilidad, riesgo de muerte y supervivencia

Nicolás Ramírez-Torres, Agustín Germán Robles-Robles, Víctor Hugo Villafañá-Vázquez, Marcelino Hernández-Valencia, 85

Cáncer de ovario: diagnóstico y tratamiento

Carlos Aranda-Flores, Ana Cristina Arteaga-Gómez, David Muñoz-González, S415

Citología cervical anormal en mujeres con artritis reumatoide

Ulises Mercado, 94

Comparación de dinoprostona (óvulos y gel) en la maduración cervical en embarazo de término con rotura prematura de membranas

José Ángel López-Farfán, Catalina Gámez-Guevara, 110

Comparación de la utilidad diagnóstica entre la inspección visual con ácido acético y la citología cervical

Nadia Velázquez-Hernández, Luis Francisco Sánchez-Anguiano, Edgar Felipe Lares-Bayona, Vicente Cisneros-Pérez, Reinaldo Humberto Milla-Villeda, Francisco de Asís Arreola-Herrera, José Antonio Navarrete-Flores, Maricela Aguilar-Durán, Teresita Núñez-Márquez, Dora Alicia Rueda-Cisneros, 261

Comparación de los síntomas del climaterio entre mujeres perimenopáusicas de la Ciudad de México y las de una comunidad zapoteca del estado de Oaxaca

Sebastián Carranza-Lira, Marco Antonio Flores-Miranda, Irán Gómez-Brigada, 116

Comparación del tratamiento laparoscópico vs laparotomía en teratomas ováricos

Carlos Humberto Briones-Landa, Rodrigo Ayala-Yáñez, Lionel Leroy-López, Héctor Anaya-Coeto, Miguel Ángel Santarosa-Pérez, Enrique Reyes-Muñoz, 527

Complicaciones perinatales en pacientes con insuficiencia renal crónica en hemodiálisis

Juan Gustavo Vázquez-Rodríguez, Guadalupe del Ángel-García, 486

Conducta del cuello uterino durante el embarazo, parto y puerperio

César A González, Abelardo Salas-Guerra, Rodolfo Arroyo-Llano, 132

Contribución de la biopsia vesical al estudio de la paciente uroginecológica

Óscar Flores-Carreras, Claudia J Martínez-Espinoza, María Isabel González-Ruiz, Yadhira E Montes-Casillas, 187

Defectos congénitos asociados con translucencia nucal aumentada

Elvia Cristina Mendoza-Caamal, Patricia Grether-González, Mariana Hernández-Gómez, Mario Guzmán-Huerta, Mónica Aguinaga-Ríos, 533

Detección del virus del papiloma humano tipos 16 y 18 en muestras de semen de pacientes de un programa de reproducción asistida

Ignacio Flores-Sánchez, José Gutiérrez-Salinas, Evangelina Enriquez-Alvarado, Sergio Hernández Rodríguez, Claudia Ramos-Barragán, Alejandra Salamanca-Ceciliano, Leticia Cruz Tovar, Sigrit Suástegui-Domínguez, 645

Diagnóstico prenatal de neuroblastoma retroperitoneal. Reporte de un caso

Raquel Crespo-Esteras, Álvaro Alvir-Álvaro, José Manuel Campillos-Maza, José Javier Tobajas-Homs, 245

Diagnóstico prenatal de paladar hendido mediante ultrasonografía 3D

Maynor Alfonso García-López, Ma. de la Luz Bermúdez-Rojas, Carlos Oaxaca-Escobar, 626

Diagnóstico prenatal por amniocentesis. Experiencia clínica y citogenética en 1,500 casos

Patricia Grether González, Virginia Cámara-Polanco, Verónica Ulloa-Avilés, Consuelo Salas-Labadía, Roberto Almanza-Márquez, Samuel Kogan-Frenk, Annie Kuttothara, 493

Diagnóstico y tratamiento de la preeclampsia-eclampsia

María Teresa Leis-Márquez, Mario Roberto Rodríguez-Bosch, Maynor Alfonso García-López, S461

Diferencia de respuesta a los antagonistas de GnRH en ciclos de hiperestimulación ovárica más inseminación intrauterina

Juan Carlos Barros-Delgadillo, Heidi Trejo-Castañeda, Christopher E Ormsby, Fernando Gaviño-Gaviño, 15

Diferencia entre la mortalidad perinatal de los embarazos múltiples obtenidos de forma espontánea versus por reproducción asistida

Yazmín del Rayo Rivas-Ortiz, Ricardo Jorge Hernández-Herrera, 316

Disfunciones sexuales femeninas: intervención y tratamiento

Silverio Rodolfo Islas-Cortés, Angélica Mancilla-Amador, Paloma de la Torre y Fernández, S391

Disfunciones sexuales femeninas: trastornos dolorosos sexuales

Silverio Rodolfo Islas-Cortés, Miriam C Negrín-Pérez, S527

Eclampsia, hemorragia obstétrica y cardiopatía como causa de mortalidad materna en 15 años de análisis

María Guadalupe Veloz-Martínez, Óscar Arturo Martínez-Rodríguez, Elías Ahumada-Ramírez, Edgardo Rafael Puello-Tamara, Francisco Javier Amezcua-Galindo, Marcelino Hernández-Valencia, 215

Efecto de la merocianina-540 en la capacidad fertilizante del espermatozoide correlacionada con la expresión de fragmentos 3-OH terminales

Gerardo Barroso-Villa, Alinne Colin-Valenzuela, Nardhy Gómez-López, Mauricio Velázquez-Magaña, 685

Efecto del intervalo intergenésico postaborto en los resultados obstétricos y perinatales

Fred Morgan-Ortiz, Jairo Muñoz-Acosta, Roberto Valdez-Quevedo, Everardo Quevedo-Castro, Josefina Báez-Barraza, 46

Efecto genético y hormonal sobre la diferenciación sexual. Paradójicamente la mujer requiere andrógenos y el hombre estrógenos

Marcelino Hernández-Valencia, Arturo Zárate, 365

Embarazo y actividad laboral: ¿realmente existe riesgo?

Enrique Rosales-Aujang, 590

Embarazo y tetralogía de Fallot con y sin corrección quirúrgica

Luis Guillermo Torres-Gómez, Carmen Armida Íñigo-Riesgo, María Angélica Espinoza-Ortegón, Ana María Barba-Bustos, Bertha Marín-Solís, Juan Rafael Gómez-Vargas, 309

Estudio fenomenológico de mujeres estériles con obesidad

Lilia Arranz-Lara, Hugo Martínez-Lemus, Jaime Ruíz-Ornelas, Luciano Saucedo-González, Elizabeth Pimentel, Norma Anguiano, Zoé Sondón, Javier Cedillo, Álvaro Chávez, Miguel Ángel Regalado, Daniel Moreno, 547

Estudio y tratamiento de mujeres en el climaterio y la posmenopausia. Punto de vista de la Asociación Mexicana para el Estudio del Climaterio en el año 2010, 423

Evaluación clínica y diagnóstica en pacientes con cistitis intersticial

Óscar Flores-Carreras, María Isabel González-Ruiz, Claudia J Martínez-Espinoza, Sergio Alberto Calderón-Lara, 275

Evidencias científicas en torno a la legalización del aborto en la Ciudad de México

Eduardo Gayón-Vera, 168

Exenteraciones pélvicas por cáncer cervicouterino (factores pronósticos)

Alfonso Torres-Lobatón, Carlos Lara-Gutiérrez, Alfonso Torres-Rojo, Edgar Román-Bassaure, Juan Carlos Oliva Posada, Miguel Ángel Morales-Palomares, Dimas Hernández-Aten, Fred Morgan-Ortiz, 598

Expresión de moléculas de adhesión celular en la interfase materno fetal al término de la gestación humana

Rodrigo Vega-Sánchez, Elizabeth de Jesús-Torres, Marcia Arenas-Hernández, Jorge Beltrán-Montoya, Rolando Maida-Claros, Guadalupe Estrada-Gutiérrez, Felipe Vadillo-Ortega, 677

Factores de riesgo asociados con mortalidad materna en el estado de Morelos, México

Karla Yemile Ordaz-Martínez, Raúl Rangel, Carlos Hernández-Girón, 357

Factores de riesgo asociados con preeclampsia: estudio de casos y controles

Fred Morgan-Ortiz, Sergio Alberto Calderón-Lara, Jesús Israel Martínez-Félix, Aurelio González-Beltrán, Everardo Quevedo-Castro, 153

Factores sociodemográficos y obstétricos asociados con nacimiento pretérmino

Fred Morgan-Ortiz, Ariana Cinco-Sánchez, Francisco A Douriet-Marín, Josefina Báez-Barraza, Jairo Muñoz-Acosta, Ignacio Osuna-Ramírez, 103

Frecuencia de los síntomas del síndrome climatérico

Marcelino Hernández-Valencia, Nydia Córdova-Pérez, Lourdes Basurto, Renata Saucedo, Carlos Vargas, Antonio Vargas, Miriam Ruiz, Leticia Manuel, Arturo Zárate, 232

Frecuencia y curso clínico de la litiasis biliar en pacientes con preeclampsia severa

Juan Gustavo Vázquez-Rodríguez, Maritza Janet Pérez-Rodríguez, 583

Ginandroblastoma de ovario como hallazgo transcesárea. Reporte de un caso y revisión de la bibliografía

Gabriela Sofía Gómez-Macías, Raquel Garza-Guajardo, Juan Pablo Flores-Gutiérrez, Óscar Vidal-Gutiérrez, Oralia Barboza-Quintana, 571

Gonadotropinas en la Esterilidad Masculina

JJ Contreras, 195

Hipócrates está enfermo de incompreensión y fatiga ante la sociedad. ¿Cómo curarlo?

Efraín Vázquez-Benítez, 559

Histerectomía radical laparoscópica con mapeo linfático y biopsia del ganglio centinela en cáncer cervicouterino temprano

Antonio Maffuz, Félix Quijano, Daniel López, Daniel Hernández-Ramírez, 345

Histerectomía total laparoscópica: estudio descriptivo de la experiencia institucional con 198 casos

Rodrigo Ayala-Yáñez, Carlos Briones-Landa, Héctor Anaya-Coeto, Lionel Leroy-López, Roxana Zavaleta-Salazar, 605

Impacto de la histeroscopia de consultorio en pacientes con antecedentes de dos o más ciclos de FIV-TE-ICSI previos fallidos en un centro de reproducción asistida

Fernando Gaviño-Gaviño, Eduardo Guzmán-González, Enrique Reyes-Muñoz, José de Jesús Villalpando-Bravo, Rosa Alicia Jáuregui-Meléndez, 9

Impacto del envejecimiento masculino en la capacidad funcional del espermatozoide a través de la expresión de fosfatidil serina y oligonucleomas

Alinne Colin-Valenzuela, Nardhy Gómez-López, Rosaura Ávila-Lombardo, Gerardo Barroso Villa, 669

Infección recurrente en las vías urinarias de la mujer

María del Pilar Velázquez, Luis Eduardo Romero-Nava, Denia Ruth López de Ávalos, Gerardo Quiroz-Garza, S437

Influencia de las concentraciones séricas de estradiol en el resultado de ciclos de reproducción asistida *in vitro*

Israel Obed Carmona-Ruiz, Pedro Galache-Vega, Roberto Santos-Haliscak, Pablo Díaz-Spindola, Víctor Alfonso Batiza-Reséndiz, Samuel Hernández-Ayup, 553

Inyección intracitoplásmica de espermatozoides morfológicamente seleccionados (IMSI) vs inyección intracitoplásmica de espermatozoides (ICSI) en pacientes con falla repetida a ICSI

Claudia González-Ortega, Patricia Cancino-Villarreal, Alicia Pérez-Torres, Marcos Ambrosio Vargas-Maciel, Sandra Guadalupe Martínez-Garza, Efraín Pérez-Peña, Antonio Martín Gutiérrez-Gutiérrez, 652

Juicio crítico sobre la terapéutica actual de la amenaza de aborto

Fernando Narváez-Aguilar, Enrique Pérez-Roca, Carlos Urzais-Jiménez, Antonio Reyes-Pérez, 65

La influenza pandémica A(H1N1) en mujeres embarazadas
Armando Torres-Ramírez, 121

La queja médica derivada de la atención en Ginecoobstetricia

Marcelo Fidas Noguera-Sánchez, Rosalilia García-Kavanagh, Roberto Efraín Cruz-Rojas, 281

Modificación a la técnica quirúrgica de cesárea-histerectomía

Emigdio Torres-Farías, Luis Guillermo Torres-Gómez, Ana María Barba-Bustos, Gabriela Vidal-Silva, Adriana Patricia Vázquez-Vargas, 478

Morbilidad materna extrema en el Hospital General Dr. Aurelio Valdivieso, Servicios de Salud de Oaxaca

Omar Calvo-Aguilar, Víctor Edilberto Morales-García, Jaime Fabián-Fabián, 660

Mortalidad materna en el Hospital General de Matamoros Dr. Alfredo Pumarejo Lafaurie durante un periodo de 10 años

Ricardo González-Rosales, Isabel Ayala-Leal, Jorge Alejandro Cerda-López, Miguel Ángel Cerón-Saldaña, 219

Nódulo fibroso solitario pélvico, hallazgo incidental y resección laparoscópica. Reporte de un caso

Denzil Garteiz-Martínez, Penélope Romero-Lagarza, Dan Maya-Goldsmit, Alejandro Weber-Sánchez, Carlos Bravo-Torreblanca, Rafael Carbo-Romano, Felipe Vega-Rivera, 504

Nuevas orientaciones sobre la analgesia en el parto

Carlos Colmeiro-Laforet, 577

Oxitocina y síndrome de secreción inapropiada de hormona antidiurética neonatal. Reporte de un caso de hiponatremia severa temprana y revisión de la bibliografía

Carlos Aldana-Valenzuela, José Alfredo Prieto-Pantoja, Angélica Hernández-Acevedo, 692

Papel del Doppler en la arteria cerebral media en la atención de pacientes con isoimmunización Rhesus

Nayara López-Carpintero, Roberto Rodríguez-González, Antonio González-González, Jesús Díez-Sánchez, 410

Parto fortuito. Experiencia de diez años en Jalisco, México

Luis Manuel Ávalos-Huizar, Martha de la Torre-Gutiérrez, Laura López-Gallo, Héctor García-Hernández, David

Rodríguez-Medina, Ricardo Martínez-Verónica, Gloria Herrera-García, José Alfonso Gutiérrez-Padilla, 418

Peróxido de hidrógeno en el tratamiento de la trichomoniasis vaginal

Mario González-Ramos, 329

Prevalencia de condiloma acuminado en mujeres que acuden a detección oportuna de cáncer cérvico uterino en un primer nivel de atención

Carlos Ramón Jiménez-Vieyra, 99

Prevalencia de tristeza materna y sus factores asociados
Gustavo Romero-Gutiérrez, Erika Marcela Dueñas-de la Rosa, Claudia Araceli Regalado-Cedillo, Ana Lilia Ponce-Ponce de León, 53

Prevalencia y complicaciones del embarazo gemelar monocorial biamniótico

Cutberto Torres-Torres, Guadalupe Pérez-Borbón, Jesús Andrés Benavides-Serralde, Mario E Guzmán-Huerta, Edgar Hernández-Andrade, 181

Primer embarazo logrado por ciclo natural modificado en una paciente baja respondedora en el Centro Médico Nacional 20 de Noviembre, ISSSTE

Cecilia Berenice Mejía-Medina, J Daniel Moreno-García, Miguel A Regalado, 617

Repercusión de la mortalidad perinatal de los embarazos múltiples en la mortalidad perinatal total en un hospital de Monterrey, Nuevo León

Ricardo Jorge Hernández-Herrera, Luis Fernando Ramírez-Sánchez, 352

Resumen del informe de trabajo del presidente de la Federación Mexicana de Ginecología y Obstetricia 2007-2009

René Bailón-Uriza, 5

Rotura espontánea de variz uterina durante la gestación. Descripción de dos casos y revisión bibliográfica

María Pilar Andrés-Orós, Laura Server-de Castro, Virginia Roy-Ramos, Ana Vela-Lete, 128

Rotura uterina

Esteban Castro-Anaya, Augusto Díaz-Infante, 254

Rotura uterina por acretismo placentario

Óscar Felipe Aguilar-Hernández, Carlos Renan-Rivero y Coronado, José Fausto Sánchez-García, Miguel Ángel Bolio-Bolio, 250

Rutina Diagnóstica de la Esterilidad Femenina

Carlos D Guerrero, Jorge Royalo-Jiménez, Luis Viramontes, 703

Síndrome de Ballantyne o síndrome en espejo

Luis Guillermo Torres-Gómez, María Eugenia Silva-González, Rigoberto González-Hernández, 621

Síndrome de Klippel-Trenaunay y embarazo. Comunicación de un caso

Emigdio Torres-Farías, Luis Guillermo Torres-Gómez, Alejandra Solyenitzin Burciaga-Sepúlveda, 287

Terapia con estrógenos en la menopausia. Estudio clínico en evolución (KEEPS) para explicar la controversia del riesgo-beneficio de su administración

Arturo Zárate, Marcelino Hernández-Valencia, 191

Tercera revisión del Consenso Nacional sobre Diagnóstico y Tratamiento del Cáncer Mamario (Primera de tres partes), 72**Tercera revisión del Consenso Nacional sobre Diagnóstico y Tratamiento del Cáncer Mamario (Segunda de tres partes), 138****Tercera revisión del Consenso Nacional sobre Diagnóstico y Tratamiento del Cáncer Mamario (Tercera de tres partes), 199****Transfusión intrauterina en aloinmunización RhD en México 1987-2008**

Luis Javier Ramírez-Robles, Guillermo Gómez-Partida, Guillermo Guevara-Rubio, Leonora Velázquez-Gómez, 469

Tratamiento potencial de la infertilidad con segundo eyaculado

Armando Juárez-Bengoa, Laura Guadarrama-García, María de los Ángeles Díaz-Pérez, 29

Tres drogas auxiliares en obstetricia

Luis Andrés Lagarde, Raúl Ortiz-de la Peña, Óscar Bravo-Serradell, 633

Trombofilia genética y marcadores de activación endotelial en pacientes con preeclampsia

Julio C Rojas, Martha Luna, Hugo Rangel-Nava, Dolores Baños, María T Collados, 401

Tumor anexial y embarazo: diagnóstico y tratamiento

Ana Cristina Arteaga-Gómez, Carlos Aranda-Flores, Gonzalo Márquez-Acosta, Alinne Colín-Valenzuela, 160

Tumor del estroma gastrointestinal en el embarazo y control posterior. Caso clínico

Marcos Javier Cuerva-González, Sara Iacoponi, María de la Calle-Fernández, Juan Pozo-Krieling, 697

Uso terapéutico de las asociaciones hormonales en Ginecología

Alfonso Álvarez-Bravo, Luis Castelazo-Ayala, Martín Giménez-Miranda, 291

Valoración de los Métodos de Diagnóstico Radiológico en Obstetricia y Ginecología

Luis Castelazo-Ayala, Arturo Perdomo, 509

Valoración de los procedimientos actuales en el tratamiento de la toxemia gravídica

Guillermo Alfaro de la Vega, Luis Castelazo Ayala, Raúl Fernández Doblado, 371

Valorización de los procedimientos actuales de exploración ginecológica

Alfonso Álvarez-Bravo, Carlos D Guerrero, Alfredo López-de Nava, Donato Ramírez, Manuel Urrutia-Ruiz, 441

Vascularización y volumen ovárico ecográfico en mujeres con síndrome de ovario poliquístico tratadas con citrato de clomifeno y metformina

Jesús de la Fuente-Valero, Ignacio Zapardiel-Gutiérrez, Inmaculada Orensanz-Fernández, Pilar Álvarez-Álvarez, Virginia Engels-Calvo, José Manuel Bajo-Arenas, 58

Vasectomía sin bisturí. Perfil del usuario y resultados

Roger Lara-Ricalde, Norma Velázquez-Ramírez, Enrique Reyes-Muñoz, 226



Índice de autores del volumen 78, 2010

- Aguilar-Durán Maricela, 261
Aguilar-Hernández Óscar Felipe, 250
Aguinaga-Ríos Mónica, 533
Ahumada-Ramírez Elías, 215
Alatraste-Martínez Sara, 72, 138, 199
Aldana-Valenzuela Carlos, 692
Alejandro-Silva Juan, 72, 138, 199
Alfaro-de la Vega Guillermo, 371
Almanza-Márquez Roberto, 493
Alvarado-Cabrero Isabel, 72, 138, 199
Alvarado-García Alberto, 423
Álvarez-Álvarez Pilar, 58
Álvarez-Bravo Alfonso, 291, 441
Alvir-Álvaro Álvaro, 245
Amezcu-Galindo Francisco Javier, 215
Anaya-Coeto Héctor, 527, 605
Andrés-Orós María Pilar, 128
Anguiano Norma, 547
Aranda-Flores Carlos, 160, S415
Arenas-Hernández Marcia, 677
Arranz-Lara Lilia, 547
Arreola-Herrera Francisco de Asís, 261
Arroyo-Llano Rodolfo, 132
Arteaga-Gómez Ana Cristina, 160, S415
Ávalos-Huizar Luis Manuel, 418
Ávila-Lombardo Rosaura, 669
Avilés-Cabrera Ricardo Nicolás, 238
Ayala-Leal Isabel, 219
Ayala-Yáñez Rodrigo, 527, 605
- Báez-Barraza Josefina, 46, 103
Bailón-Uriza René, 5
Bajo-Arenas José Manuel, 58
Baños Dolores, 401
Barba-Bustos Ana María, 309, 478
Barboza-Quintana Oralia, 571
Bargallo-Rocha Juan Enrique, 72, 138, 199
Barros-Delgadillo Juan Carlos, 15
Barroso-Bravo Sinuhe, 72, 138, 199
- Barroso-Villa Gerardo, 669, 685
Basurto Lourdes, 232
Batiza-Reséndiz Víctor Alfonso, 553
Beltrán-Montoya Jorge, 677
Benavides-Serralde Jesús Andrés, 181
Bermúdez-Rojas Ma. de la Luz, 626
Bolio-Bolio Miguel Ángel, 250
Bornstein-Quevedo Leticia, 72, 138, 199
Bravo María de la Luz, 540
Bravo-Marín Luz María, 423
Bravo-Serradell Óscar, 633
Bravo-Torreblanca Carlos, 504
Briones-Landa Carlos Humberto, 37, 527, 605
Burciaga-Sepúlveda Alejandra Solynitzin, 287
Bustillos-Alamilla Edgardo, 37
- Calderón-Lara Sergio Alberto, 153, 275
Calvo-Aguilar Omar, 660
Cámara-Polanco Virginia, 493
Campillos-Maza José Manuel, 245
Cancino-Villarreal Patricia, 652
Carbo-Romano Rafael, 504
Cárdenas-Sánchez Jesús, 72, 138, 199
Carmona-Ruiz Israel Obed, 553
Carranza-Lira Sebastián, 116, 322
Castejón-Morett Oliver Clemente, 335
Castejón-Sandoval Olivar Clemente, 335
Castelazo-Ayala Luis, 291, 371, 509
Castro-Anaya Esteban, 254
Cedillo Javier, 547
Celis-González Cuauhtémoc, 423
Cerde-López Jorge Alejandro, 219
Cerón-Saldaña Miguel Ángel, 219
Cervantes-Sánchez Guadalupe, 72, 138, 199
Chávez Álvaro, 547
Cinco-Sánchez Ariana, 103
Cisneros-Pérez Vicente, 261
Colin-Valenzuela Alinne, 160, 268, 669, 685
Collados María T, 401

- Colmeiro-Laforet Carlos, 577
 Contreras J J, 195
 Córdova-Pérez Nydia, 232
 Cortés-Esteban Patricia, 72, 138, 199
 Crespo-Esteras Raquel, 245
 Cruz-Rojas Roberto Efraín, 281
 Cruz-Tovar Leticia, 645
 Cuerva-González Marcos Javier, 697
- De Jesús-Torres Elizabeth, 677
 De la Calle-Fernández María, 697
 De la Fuente-Valero Jesús, 58
 De la Garza-Salazar Jaime G, 72, 138, 199
 De la Torre y Fernández Paloma, S391
 De la Torre-Gutiérrez Martha, 418
 Del Ángel-García Guadalupe, 486
 Delgado-Urdapilleta Jorge, 213, 307, 643
 Díaz-Infante Augusto, 254
 Díaz-Pérez María de los Ángeles, 29
 Díaz-Spíndola Pablo, 553
 Díez-Sánchez Jesús, 410
 Domínguez-González Raúl, 423
 Douriet-Marín Francisco A, 103
 Dueñas-de la Rosa Erika Marcela, 53
- Engels-Calvo Virginia, 58
 Enriquez-Alvarado Evangelina, 645
 Erazo Valle-Solís Aura A, 72, 138, 199
 Espino y Sosa Salvador, 268
 Espinoza-Ortegón María Angélica, 309
 Estrada-Gutiérrez Guadalupe, 677
- Fabián-Fabián Jaime, 660
 Félix-Arce Carlos, 423
 Fernández del Castillo-S Carlos, 83, 151, 259, 333, 399, 467, 525, 581
 Fernández-Doblado Raúl, 371
 Fernández-Orozco Armando, 72, 138, 199
 Flores-Carreras Óscar, 187, 275
 Flores-Gutiérrez Juan Pablo, 571
 Flores-Miranda Marco Antonio, 116
 Flores-Sánchez Ignacio, 645
- Galache-Vega Pedro, 553
 Gallo-Olvera Gabriel, 423
 Gámez-Guevara Catalina, 110
- García-Cavazos Ricardo, 268
 García-Hernández Héctor, 418
 García-Hernández Pedro, 322
 García-Kavanagh Rosalilia, 281
 García-López Maynor Alfonso, 626, S461
 Garteiz-Martínez Denzil, 504
 Garza-Guajardo Raquel, 571
 Gaviño-Gaviño Fernando, 9, 15
 Gayón-Vera Eduardo, 168
 Gerson-Cwilich Raquel, 72, 138, 199
 Giménez-Miranda Martín, 291
 Gómez-Brigada Irán, 116
 Gómez-López Nardhy, 669, 685
 Gómez-Macías Gabriela Sofía, 571
 Gómez-Partida Guillermo, 469
 Gómez-Vargas Juan Rafael, 309
 González César A, 132
 González-Beltrán Aurelio, 153
 González-González Antonio, 410
 González-Guerrero Juan Francisco, 72, 138, 199
 González-Hernández Rigoberto, 621
 González-Ortega Claudia, 652
 González-Ramos Mario, 329
 González-Rosales Ricardo, 219
 González-Ruiz María Isabel, 187, 275
 Grether-González Patricia, 493, 533
 Guadarrama-García Laura, 29
 Guerrero Carlos D, 441, 703
 Guevara-Rubio Guillermo, 469
 Gutiérrez-Gutiérrez Antonio Martín, 652
 Gutiérrez-Padilla José Alfonso, 418
 Gutiérrez-Salinas José, 645
 Guzmán-González Eduardo, 9
 Guzmán-Huerta Mario E, 181, 533
- Haddad-Tame José Luis, 72, 138, 199
 Hernández-Acevedo Angélica, 692
 Hernández-Andrade Edgar, 181
 Hernández-Aten Dimas, 598
 Hernández-Ayup Samuel, 553
 Hernández-Bueno José Alberto, 423
 Hernández-Chávez Allan, 72, 138, 199
 Hernández-Girón Carlos, 357
 Hernández-Gómez Mariana, 533
 Hernández-González Mercedes, 72, 138, 199
 Hernández-Herrera Ricardo Jorge, 316, 352

- Hernández-López Luis A, 423, 540
Hernández-Marín Imelda, 423
Hernández-Ramírez Daniel, 345
Hernández-Rodríguez Sergio, 645
Hernández-Rosas Marion, 612
Hernández-Ruiz M A, 37
Hernández-Valencia Marcelino, 85, 191, 215, 232, 365, 612
Herrera-García Gloria, 418
- Iacoponi Sara, 697
Íñigo-Riesgo Carmen Armida, 309
Islas-Cortés Silverio Rodolfo, S391, S527
- Jáuregui-Meléndez Rosa Alicia, 9
Jiménez-Vieyra Carlos Ramón, 99
Juárez-Bengoa Armando, 29
- Kably-A Alberto, 1
Kogan-Frenk Samuel, 493
Kuttothara Annie, 493
- Lagarde Luis Andrés, 633
Lara-Gutiérrez Carlos, 598
Lara-Medina Fernando U, 72, 138, 199
Lara-Ricalde Roger, 226
Lara-Tamburrino Maria del Carmen, 72, 138, 199
Lares-Bayona Edgar Felipe, 261
Lázaro-León Jesús Miguel, 72, 138, 199
Legorreta-Peyton Deborah, 423
Leis-Márquez María Teresa, S461
León-Rodríguez Eucaño, 72, 138, 199
Leroy-López Lionel, 527, 605
Lio-Mondragón Lorena, 72, 138, 199
Lira-Puerto Víctor Manuel, 72, 138, 199
López Daniel, 345
López de Ávalos Denia Ruth, S437
López de Nava Alfredo, 441
López-Carpintero Nayara, 410
López-Farfán José Ángel, 110
López-Gallo Laura, 418
López-González Ángela Josmar, 335
Lujan-Castilla Pomponio José, 72, 138, 199
Luna Martha, 401
- Maafs-Molina Eduardo, 72, 138, 199
- Maffuz Antonio, 345
Maida-Claros Rolando, 677
Mainero-Rachelous Fernando, 72, 138, 199
Maldonado-Hernández Héctor Raúl, 72, 138, 199
Mancilla-Amador Angélica, S391
Manuel Leticia, 232
Marín-Solís Bertha, 309
Márquez-Acosta Gonzalo, 160
Martínez-Espinoza Claudia J, 187, 275
Martínez-Félix Jesús Israel, 153
Martínez-Garza Sandra Guadalupe, 652
Martínez-Lemus Hugo, 547
Martínez-Montariez Georgina, 72, 138, 199
Martínez-Rodríguez Óscar Arturo, 215
Martínez-Verónica Ricardo, 418
Maya-Goldsmit Dan, 504
Medina-Franco Heriberto, 72, 138, 199
Mejía-Medina Cecilia Berenice, 617
Mendoza-Caamal Elvia Cristina, 533
Mercado Ulises, 94
Milla-Villeda Reinaldo Humberto, 261
Mohar-Betancourt Alejandro, 72, 138, 199
Montaño-Uzcanga Armando, 423
Montes-Casillas Yadhira E, 187
Montoya-Romero José de Jesús, 423
Morales-García Víctor Edilberto, 660
Morales-Palomares Miguel Ángel, 598
Morato-Hernández Lourdes, 423
Moreno Daniel, 547
Moreno-García J Daniel, 617
Morfin-Martín Julio, 423
Morgan-Ortiz Fred, 46, 103, 153, 598
Morgan-Villela Gilberto, 72, 138, 199
Motta-Martínez Eduardo, 322, 423
Muñoz-Acosta Jairo, 46, 103
Muñoz-González David, S415
Murillo-Uribe Alfonso, 423
- Narváez-Aguilar Fernando, 65
Navarrete-Flores José Antonio, 261
Negrín-Pérez Miriam C, S527
Noguera-Sánchez Marcelo Fidias, 281
Núñez-Márquez Teresita, 261
- Oaxaca-Escobar Carlos, 626
Oliva-Posada Juan Carlos, 598

- Olivares-Beltrán Guillermo, 72, 138, 199
Ordaz-Martínez Karla Yemile, 375
Orensanz-Fernández Inmaculada, 58
Ormsby Christopher E, 15
Orozco-Quiyono Martha, 72, 138, 199
Ortiz-de la Peña Raúl, 633
Osuna-Ramírez Ignacio, 103
- Perdomo Arturo, 509
Pérez-Borbón Guadalupe, 181
Pérez-Peña Efraín, 652
Pérez-Roca Enrique, 65
Pérez-Rodríguez Maritza Janet, 583
Pérez-Sánchez Víctor Manuel, 72, 138, 199
Pérez-Torres Alicia, 652
Pimentel Elizabeth, 547
Poitevin-Cachón Adela, 72, 138, 199
Ponce-Ponce de León Ana Lilia, 53
Pozo-Krielinger Juan, 697
Prieto-Pantoja José Alfredo, 692
Puello-Tamara Edgardo Rafael, 215
- Quesnel-García Benítez Carlos, 238
Quevedo-Castro Everardo, 46, 153
Quijano Félix, 345
Quiroz-Garza Gerardo, S437
- Ramírez Donato, 441
Ramírez-Robles Luis Javier, 469
Ramírez-Sánchez Luis Fernando, 352
Ramírez-Torres Nicolás, 85
Ramos-Barragán Claudia, 645
Rangel Raúl, 375
Rangel-Nava Hugo, 401
Regalado Miguel A, 617
Regalado Miguel Ángel, 547
Regalado-Cedillo Claudia Araceli, 53
Renan-Rivero y Coronado Carlos, 250
Reyes-Muñoz Enrique, 9, 226, 527
Reyes-Pérez Antonio, 65
Río de la Loza-Cava Fernanda, 423
Rivas-Ortiz Yasmín del Rayo, 316
Robles-Robles Agustín Germán, 85
Robles-Vidal Carlos D, 72, 138, 199
Rodríguez-Bosch Mario Roberto, S461
Rodríguez-Cuevas Sergio, 72, 138, 199
- Rodríguez-González Roberto, 410
Rodríguez-Medina David, 418
Rodríguez-Peral Jorge Jesús, 72, 138, 199
Rodríguez-Rodríguez Segismundo, 423
Rojas Julio C, 401
Román-Bassaure Edgar, 598
Romero-Gutiérrez Gustavo, 53
Romero-Lagarza Penélope, 504
Romero-Nava Luis Eduardo, S437
Rosales-Aujang Enrique, 590
Roy-Ramos Virginia, 128
Royalo-Jiménez Jorge, 703
Rueda-Cisneros Dora Alicia, 261
Ruiz Miriam, 232
Ruíz-Ornelas Jaime, 547
- Saenz-Frías Julia Angelina, 72, 138, 199
Salamanca-Ceciliano Alejandra, 645
Salas-González Efraín, 72, 138, 199
Salas-Guerra Abelardo, 132
Salas-Labadía Consuelo, 493
Salazar y Sánchez Alejandro, 423
Salazar-Macias Francisco, 72, 138, 199
Salinas-Dorantes Carlos, 423
Sánchez-Anguiano Luis Francisco, 261
Sánchez-Basurto Carlos, 72, 138, 199
Sánchez-Gálvez José, 72, 138, 199
Sánchez-García José Fausto, 250
Sandoval-Guerrero Francisco, 72, 138, 199
Santamaría-Linares Erik, 72, 138, 199
Santarosa-Pérez Miguel Ángel, 527
Santiago-Payan Héctor, 72, 138, 199
Santibáñez-Moreno Guillermo, 423
Santos-González Javier, 423
Santos-Haliscak Roberto, 553
Sauceda-González Luciano, 547
Saucedo Renata, 232
Server-de Castro Laura, 128
Silva-González María Eugenia, 621
Sondón Zoé, 547
Suástegui-Domínguez Sigrit, 645
- Tena-Alavez Gilberto, 423
Tobajas-Homs José Javier, 245
Torrecillas-Torres Laura, 72, 138, 199
Torres-Farías Emigdio, 287, 478

- Torres-Gómez Luis Guillermo, 287, 309, 478, 621
Torres-Lobatón Alfonso, 598
Torres-Ramírez Armando, 3, 121
Torres-Rojo Alfonso, 598
Torres-Torres Cutberto, 181
Trejo-Castañeda Heidi, 15
- Ulloa-Avilés Verónica, 493
Urrutia-Ruiz Manuel, 441
Urzaiz-Jiménez Carlos, 65
Uscanga-Sánchez Santos Regino, 72, 138, 199
- Vadillo-Ortega Felipe, 677
Valdez-Quevedo Roberto, 46
Valero Vicente, 72, 138, 199
Vargas Antonio, 232
Vargas Carlos, 232
Vargas-Maciel Marcos Ambrosio, 652
Vázquez-Alanís Alejandro, 423
Vázquez-Benítez Efraín, 423, 559
Vázquez-Castillo Gumersindo, 423
Vázquez-Martínez de Velasco Efraín, 423
Vázquez-Rodríguez Juan Gustavo, 486, 583
Vázquez-Vargas Adriana Patricia, 478
- Vega-Rivera Felipe, 504
Vega-Saldaña Arturo, 72, 138, 199
Vega-Sánchez Rodrigo, 677
Vela-Lete Ana, 128
Velázquez María del Pilar, S437
Velázquez-Gómez Leonora, 469
Velázquez-Hernández Nadia, 261
Velázquez-Magaña Mauricio, 685
Velázquez-Ramírez Norma, 226
Veloz-Martínez María Guadalupe, 215
Vidal-Gutiérrez Óscar, 571
Vidal-Millán Silvia, 72, 138, 199
Vidal-Silva Gabriela, 478
Villafaña-Vázquez Víctor Hugo, 85
Villalpando-Bravo José de Jesús, 9
Villaseñor-Navarro Yolanda, 72, 138, 199
Viramontes Luis, 703
- Weber-Sánchez Alejandro, 504
- Zapardiel-Gutiérrez Ignacio, 58
Zárate Arturo, 191, 232, 365, 612
Zavaleta-Salazar Roxana, 605
Zepeda-Zaragoza J, 37



Instrucciones para los autores

GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA DE MÉXICO (Ginecol Obstet Mex) es el órgano oficial de la Federación Mexicana de Ginecología y Obstetricia, aparecen 12 números al año y un suplemento. Se publica en español, con resúmenes en español, inglés, portugués y francés. **Ginecología y Obstetricia de México** publica trabajos originales, casos clínicos, cartas al editor, editoriales, comentarios de libros publicados e información sobre actividades académicas relacionados con temas relevantes de la Ginecología y Obstetricia.

Los manuscritos deben prepararse según los Requisitos Uniformes para los Manuscritos Enviados a Revistas Biomédicas, cuyas versiones más recientes se publicaron (en español) en GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA DE MÉXICO (febrero y septiembre de 2003).

Los manuscritos enviados para publicación deberán ser inéditos, excepto como resumen, y no podrán enviarse simultáneamente a otra revista. Los manuscritos deberán enviarse junto con la cesión de derechos de autor firmada (formato anexo). Cuando sean aceptados para su publicación serán propiedad de GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA DE MÉXICO y no podrán ser publicados (ni completos ni parcialmente) en ninguna otra parte sin consentimiento escrito del editor.

Todos los artículos que se reciben en GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA DE MÉXICO son objeto de revisión por pares abierta al menos por dos árbitros experimentados.

GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA DE MÉXICO se reserva el derecho de adaptar el manuscrito a su estilo editorial y de enmendar los errores de sintaxis y de ortografía.

Antes de enviar el manuscrito convendrá cerciorarse que se hayan cumplido los siguientes requisitos:

GUÍA DE COTEJO

Preparación general del manuscrito

- **Original y dos copias** escritas a doble espacio, en papel blanco, tamaño carta, escritas por una sola cara, con márgenes de 2.5 cm, letra Arial tamaño 11. Todas las hojas irán numeradas. La extensión final del manuscrito no deberá sobrepasar las 20 hojas.

- Las fotografías deberán ser originales y enviarse impresas en papel al tamaño de 7 x 11 cm. Cuando se envíen en archivo electrónico deberán estar en **formato tif, a 300 dpi**. Cuando no reúnan esta característica no se publicarán porque su calidad de reproducción es inferior a los requerimientos mínimos.

Tipo de publicaciones

GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA DE MÉXICO publica cuatro categorías de trabajo:

1. Investigación básica
2. Investigación clínica
3. Revisión temática
4. Caso clínico

SECCIONES

Título

- Completo, limitado a un renglón sin abreviaturas de ninguna índole.
- Corto, limitado a la tercera parte de un renglón (o 45 caracteres).
- Autores: nombre y apellidos de todos. Adscripción correspondiente al lugar donde se efectuó la investigación.

Resúmenes

- Resumen en español con 250 palabras máximo. El resumen de los trabajos originales será estructurado (en las demás secciones no): antecedentes, objetivo, material y método, resultados, conclusión y palabras clave. El resumen es la parte del artículo más leída; por lo tanto, será la más cuidada. Los datos del resumen deberán ser los mismos que se consignen en el cuerpo del artículo.

Texto

- Estructurado de acuerdo con las características del trabajo: introducción, objetivo, material y método, resultados, comentario (discusión), conclusiones, referencias bibliográficas.
- Describir los métodos estadísticos utilizados.
- Los fármacos y químicos deberán citarse por su nombre genérico.
- No se admiten abreviaturas, sólo símbolos (por ejemplo: mmHg, kg, dL, mL, cm, Na, K o HDL, LDL, VLDL, etc.)
- El lenguaje deberá ser directo, con apego a la sintaxis del español, sin redundancias, con oraciones cortas con la debida secuencia y correlación entre una y otra.

Referencias

- Máximo 10 y sólo las que estrictamente respalden la información mencionada en el texto y que efectivamente se hayan consultado. Entre éstas se procurará incluir algunas de GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA DE MÉXICO.
- La secuencia será la misma en que aparecen en el texto, con números en superíndice colocados después del signo ortográfico que corresponda (es decir, después de coma, punto y coma o punto). Las comunicaciones personales y los datos que aún no se han publicado se mencionarán en el cuerpo del texto, pero no se incluirán como referencias.
- Las abreviaturas de las publicaciones deberán corresponder a las del Index Medicus.

Ejemplos

Artículos en revistas

Hernández M, Cuéllar Estrada J, Levario Carrillo M. Corioangio-

Instrucciones para los autores

ma gigante de la placenta: Informe de un caso. Ginecol Obstet Mex 2001;69:439-42.

Libros

Delgado UJ, Fernández del Castillo C. Ginecología y reproducción humana. Temas selectos. Tomo II. México: Colegio Mexicano de Especialistas en Ginecología y Obstetricia, 2006.

Capítulos en libros

Villalobos Román M. Riesgo quirúrgico y condiciones especiales en la anciana. En: Delgado UJ, Fernández del Castillo C. Ginecología y reproducción humana. Temas selectos. Tomo II. Cap. 14. México: Colegio Mexicano de Especialistas en Ginecología y Obstetricia, 2006;pp:117-128.

Cuadros y figuras

Deben incluirse en el cuerpo del texto, enseguida del lugar donde se citan por primera vez.

Responsabilidades de los autores, criterio y contribuciones

- A. ☐ El trabajo es inédito y no lo he enviado a ninguna otra publicación.
- B. ☐ Estoy dispuesto a aportar a los editores y sus asistentes la información adicional que se me solicite.
- C. ☐ Autorizo al autor principal para que en mi nombre y representación revise la copia editada y para que tome las decisiones que considere pertinentes antes de que el artículo se publique.
- D. ☐ Apruebo la versión final del documento.
- E. ☐ Soy responsable de:

Parte del contenido.

Todo el contenido.

F. Soy autor puesto que he contribuido sustancialmente al contenido intelectual de este artículo con:

- a. ☐ Idea y diseño.

- b. ☐ Recopilación de datos.
- c. ☐ Análisis e interpretación de los datos
- d. ☐ Redacción del artículo.
- e. ☐ Revisión crítica del documento contribuyendo en forma importante a su contenido intelectual con:

I. ☐ Análisis estadístico.

II. ☐ Obtención de fondos.

III. ☐ Ayuda técnica, administrativa o material.

IV. ☐ Supervisión

Otro (especifique) _____

Origen de los fondos y ayuda financiera

Marque la casilla apropiada (es válida para los pasados cinco años y futuro previsible).

☐ No tengo conflicto de intereses de tipo financiero, laboral, de relaciones personales o afiliaciones vinculado con el tema de discusión del artículo.

☐ Certifico que todos mis posibles conflictos de intereses, incluidos los financieros, de asociación, afiliaciones relevantes para el asunto discutido (ejemplo: pago de honorarios, becas, consultorías, inscripciones a congresos, patentes en trámite, etc.) están consignados en la sección de agradecimientos del artículo.

☐ Certifico que todos los fondos y ayuda financiera y material para esta investigación o trabajo están claramente descritos en el artículo.

Reconocimientos

☐ Certifico que todas las personas que participaron en la investigación pero no reúnen los criterios de autoría se mencionan en el apartado de agradecimientos.

Instrucciones para los autores

CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR

Los abajo firmantes estamos conformes con lo mencionado en los incisos previos, como en el tipo de crédito asignado en este artículo:

- TÍTULO DEL ARTÍCULO: _____

- NOMBRE COMPLETO DEL AUTOR O AUTORES: _____

- LOS AUTORES CERTIFICAN QUE SE TRATA DE UN TRABAJO ORIGINAL, QUE NO HA SIDO PREVIAMENTE PUBLICADO NI ENVIADO PARA SU PUBLICACIÓN A OTRA REVISTA. MANIFIESTAN QUE NO EXISTE CONFLICTO DE INTERESES CON OTRAS INSTANCIAS.
- TAMBIÉN ACEPTAN QUE, EN CASO DE SER ACEPTADO PARA PUBLICACIÓN EN GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA DE MÉXICO, LOS DERECHOS DE AUTOR SERÁN TRANSFERIDOS A LA REVISTA.

- NOMBRE Y FIRMA DE TODOS LOS AUTORES:

NOMBRE	FIRMA
_____	_____
_____	_____
_____	_____
_____	_____
_____	_____

- VISTO BUENO (NOMBRE Y FIRMA) DE AUTORIZACIÓN DE LA INSTITUCIÓN DONDE SE REALIZÓ EL TRABAJO:

NOMBRE	FIRMA
_____	_____
_____	_____
_____	_____

LUGAR: _____ FECHA: _____

Examen de certificación para especialistas en Biología de la Reproducción Humana y Medicina Materno Fetal



Sede única: México, DF

EXAMEN ESCRITO - Julio

Requisitos

1. Llenar la solicitud del Consejo
2. Entregar fotocopia en tamaño carta de los siguientes documentos (legibles y sin manchas; los documentos que contengan anverso y reverso, como los títulos y cédulas, deberán entregarse en hojas separadas):
 - Constancia de Certificación de la especialidad de Ginecología y Obstetricia vigente.*
 - Aspirantes con estudios de especialidad en el país:
Constancia de especialista de la institución donde realizó la especialidad y diploma de especialista de la institución de educación superior que avaló el curso (si está cursando el segundo año de la residencia, las constancias respectivas expedidas por la sede hospitalaria y por la institución de educación superior que avala el curso).*
 - Aspirantes con estudios de especialidad fuera del país:
Constancia autenticada de especialista de la institución donde realizó la especialidad en un curso equiparable a los aceptados en México.*

*** El día del examen deberá presentar el documento original.**

3. Una fotografía reciente, tamaño infantil, a color
4. **Entregar el comprobante original** del depósito en la cuenta Maestra número 0443110648 de BBVA Bancomer a nombre del Consejo Mexicano de Ginecología y Obstetricia, AC, por la cantidad de 2,800.00 pesos.

EXAMEN ORAL - Noviembre

Requisitos

1. Llenar la solicitud del Consejo
2. Entregar una fotocopia, en tamaño carta, de los siguientes documentos (legibles y sin manchas; los documentos que contengan anverso y reverso, como los títulos y cédulas, deberán entregarse en hojas separadas):
 - Constancia de aprobación del examen escrito del Consejo (tres años de vigencia)*
 - Constancia de especialista otorgada por la institución donde realizó la residencia y diploma de especialista de la institución de educación superior que avaló el curso (del 1 de enero de 2010 al 31 de diciembre de 2010, este requisito no es indispensable).

*** El día del examen deberá presentar el documento original.**

3. Una fotografía reciente, tamaño infantil, a color
4. Una fotografía reciente, tamaño diploma, en blanco y negro sin retoque (vestimenta formal)
5. **Entregar el comprobante original** del depósito en la cuenta Maestra número 0443110648 de BBVA Bancomer a nombre del Consejo Mexicano de Ginecología y Obstetricia, AC, por la cantidad de 3,500.00 pesos.

AVISO IMPORTANTE

Por un periodo de UN año (1 de enero de 2010 al 31 de diciembre de 2010) se podrá aceptar como candidato al examen, al aspirante que no habiendo obtenido el grado de especialista en Biología de la Reproducción Humana o Medicina Materno Fetal con reconocimiento universitario reúna los siguientes requisitos (adjuntar fotocopias):

- Constancia de Certificación en la Especialidad de Ginecología y Obstetricia vigente
- Ser o haber sido Profesor Titular o Adjunto de un Curso Universitario o Institucional de la Especialidad en Biología de la Reproducción Humana y/o Medicina Materno Fetal o haber cursado por lo menos un curso formativo de un mínimo de cuatro meses de duración o varios cursos de educación continua que sumen 50 horas en el área respectiva.
- Demostrar dedicación al área de la especialidad por un mínimo de cinco años, tanto en el aspecto asistencial, como en el docente y en el de la investigación.
- Pertenecer a agrupaciones científicas nacionales o extranjeras dedicadas al estudio del área de la especialidad.
- Haber participado en foros académicos periódicos abocados a la especialidad.

Inscripciones abiertas todo el año
Lunes a viernes de 9:00 a 17:00 horas
Comité Ejecutivo 2009 - 2011

DR. ERNESTO CASTELAZO MORALES
Presidente

DR. CARLOS QUESNEL GARCÍA BENÍTEZ
Director de Exámenes

DR. JUAN CARLOS HINOJOSA CRUZ
Coordinador de Biología de la Reproducción Humana

DR. ÁNGEL GARCÍA ALONSO LÓPEZ
Coordinador de Medicina Materno Fetal

A partir del 1 de junio de 2010 la oficina del Consejo Mexicano de Ginecología y Obstetricia cambiará su domicilio a: Torre del World Trade Center, Montecito 38 piso 8-oficina 36, colonia Nápoles, Deleg. Benito Juárez, C.P. 03810. Teléfonos: 5682-0156 / 5669-3743 / 5682-3895 informes@cmgo.org.mx www.cmgo.org.mx

Examen de certificación para especialistas en Urología Ginecológica



Sede única: México, DF

EXAMEN ESCRITO - Julio

Requisitos

1. Llenar la solicitud del Consejo
2. Entregar fotocopia en tamaño carta de los siguientes documentos (legibles y sin manchas; los que contengan anverso y reverso, como los títulos y cédulas, deberán entregarse en hojas separadas):
 - Constancia de Certificación en la especialidad de Ginecología y Obstetricia vigente.*
 - Aspirantes con estudios de especialidad en el país:
 - ° Constancia de especialista de la institución donde realizó la especialidad y diploma de especialista de la institución de educación superior que avaló el curso (si está cursando el segundo año de la residencia, constancias respectivas expedidas por la sede hospitalaria y la institución de educación superior que avala el curso).*
 - Aspirantes con estudios de especialidad fuera del país:
 - ° Constancia autenticada de especialista de la institución donde realizó la especialidad en un curso equiparable a los aceptados en México.*

*** El día del examen deberá presentar el documento original.**

3. Entregar una fotografía reciente, tamaño infantil, a color.
4. **Entregar el comprobante original** del depósito efectuado en la cuenta Maestra número 0443110648 de BBVA Bancomer a nombre del Consejo Mexicano de Ginecología y Obstetricia, AC, por la cantidad de 2,800.00 pesos.

EXAMEN ORAL - Noviembre

Requisitos

1. Llenar la solicitud del Consejo
2. Entregar una fotocopia, en tamaño carta, de los siguientes documentos (legibles y sin manchas; los que contengan anverso y reverso, como los títulos y cédulas, deberán entregarse en hojas separadas):
 - Constancia de aprobación del examen escrito del Consejo (tres años de vigencia).*
 - Constancia de especialista otorgada por la institución donde realizó la especialidad y diploma de especialista de la institución de educación superior que avaló el curso.*
3. Entregar una fotografía reciente, tamaño infantil a color.
4. Entregar una fotografía reciente, tamaño diploma, en blanco y negro sin retoque (vestimenta formal).
5. Entregar el comprobante original del depósito en la cuenta Maestra número 0443110648 de BBVA Bancomer a nombre del Consejo Mexicano de Ginecología y Obstetricia, AC, por la cantidad de 3,500.00 pesos.

*** El día del examen deberá presentar el documento original.**

**Inscripciones abiertas todo el año
Lunes a viernes de 9:00 a 17:00 horas**

Comité Ejecutivo 2009 - 2011

DR. ERNESTO CASTELAZO MORALES
Presidente

DR. CARLOS QUESNEL GARCÍA BENÍTEZ
Director de Exámenes

DR. SEBASTIÁN IRIS DE LA CRUZ
Coordinador de Urología Ginecológica

2010

CONVOCATORIA

Examen de certificación para especialistas en Ginecología y Obstetricia



SEDES: México, DF, Monterrey, Guadalajara, Mérida y Tijuana

EXAMEN ESCRITO - Enero y julio de cada año

Requisitos

1. Llenar la solicitud del Consejo
 - Anotar la sede en donde se desea presentar el examen.
2. Entregar fotocopia en tamaño carta de los siguientes documentos (legibles y sin manchas; los que contengan anverso y reverso, como los títulos y cédulas, deberán entregarse en hojas separadas):
 - Título de Médico Cirujano*
 - Cédula Profesional*
 - Aspirantes con estudios de especialidad en el país:
 - Constancia de Aprobación del Examen Nacional de Aspirantes a Residencias Médicas.
 - Constancia de especialista de la institución donde realizó la especialidad y diploma de especialista de la institución de educación superior que avaló el curso (si está cursando el cuarto año de la residencia, constancias respectivas por la sede hospitalaria y por la institución de educación superior que avala el curso).*
 - Aspirantes con estudios de especialidad fuera del país:
 - Constancia autenticada de especialista de la institución donde realizó la especialidad en un curso equiparable a los aceptados en México.

* El día del examen deberá presentar el documento original.

3. Entregar una fotografía reciente, tamaño infantil, a color.
4. Entregar el comprobante original del depósito en la cuenta Maestra número 0443110648 de BBVA Bancomer a nombre del Consejo Mexicano de Ginecología y Obstetricia, AC, por la cantidad de 2,800.00 pesos.

EXAMEN ORAL - de marzo a junio y de agosto a noviembre de cada año

Requisitos

1. Llenar la solicitud del Consejo
 - Anotar la sede donde se desea presentar el examen.
2. Entregar una fotocopia en tamaño carta de los siguientes documentos (legibles y sin manchas; los que contengan anverso y reverso, como los títulos y cédulas, deberán estar en hojas separadas):
 - Constancia de aprobación del Examen Escrito del Consejo (tres años de vigencia)
 - Constancia de especialista otorgada por la institución donde realizó la especialidad y diploma de especialista de la institución de educación superior que avaló el curso.*
3. Entregar una fotografía reciente, tamaño infantil, a color.
4. Entregar una fotografía reciente, tamaño diploma, en blanco y negro sin retoque (vestimenta formal).
5. Entregar el comprobante original del depósito en la cuenta Maestra número 0443110648 de BBVA Bancomer a nombre del Consejo Mexicano de Ginecología y Obstetricia, AC, por la cantidad de 3,500.00 pesos.

* El día del examen deberá presentar el documento original.

AVISO IMPORTANTE

Durante la realización del 61° Congreso Mexicano de Ginecología y Obstetricia en la ciudad de Chihuahua (27 al 30 de septiembre de 2010) se podrá presentar el examen en sus dos fases, escrita y oral.

Inscripciones abiertas todo el año
Lunes a viernes de 9:00 a 17:00 horas

Comité Ejecutivo 2009 - 2011

DR. ERNESTO CASTELAZO MORALES
Presidente

DR. CARLOS QUESNEL GARCÍA BENÍTEZ
Director de Exámenes

DR. FRANCISCO BERNARDEZ ZAPATA
Coordinador de Ginecología y Obstetricia