



GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA DE MÉXICO

Volumen 72, número 12, diciembre 2004

EDITORIAL

- 591 *Carlos Fernández del Castillo, Jorge Delgado Urdapilleta, Ernesto Castelazo Morales*

Gerardo Barroso Villa, Sergio Villalobos Acosta, Víctor Sánchez Solís, Mauricio Osorio Caballero, Fernando Gaviño Gaviño

ARTÍCULOS ORIGINALES

- 593 **Caracterización del espacio coriodecidual como un microambiente rico en moléculas efectoras que inducen la rotura de las membranas corioamnióticas durante el trabajo de parto**
Rodrigo Vega Sánchez, Guadalupe Estrada Gutiérrez, Arturo Cébulo Vázquez, Jorge Beltrán Montoya, Felipe Vadillo Ortega
- 602 **Efecto *in vivo* de las secreciones del endometrio y del cuello uterino humano en el espermatozoide**
Martha Merino Ruiz, Hilda Magdalena Luna Aranda, Rogelio García Flores, Oscar Vidal Gutiérrez, Felipe Arturo Morales Martínez, Luis Sordia Hernández, Donato Saldívar Rodríguez, Juana Vázquez Méndez
- 611 **La interacción de los linfocitos coriodeciduals con los estreptococos del grupo B degrada el tejido conectivo del corioamnios**
Guadalupe Estrada Gutiérrez, Raquel Reyes Trejo, Rolando Maida Claros, Jorge Beltrán Montoya, Felipe Vadillo Ortega
- 619 **Resultado perinatal de un programa de reproducción asistida institucional**
Senia Suyapa Ochoa Rueda, Juan Carlos Barros Delgadillo, Fernando Cecilio Paredes Chávez, Gerardo Barroso Villa, Sergio Villalobos Acosta, Víctor Sánchez Solís, Mauricio Osorio Caballero, Fernando Gaviño Gaviño
- 628 **Efecto de los ejercicios del piso pélvico durante el embarazo y el puerperio en la prevención de la incontinencia urinaria de esfuerzo**
Viridiana Gorbea Chávez, María del Pilar Velázquez Sánchez, Jorge R. Kunhardt Rasch
- 637 **Valor de las características morfológicas del cuerpo polar como factor de predicción del desarrollo embrionario**
Alberto Kably Ambe, Julián Ruiz Anguas, Esperanza Carballo Mondragón, Leonor Durán Monterosas
- 645 **Papel de los estrógenos en el soporte de la fase lútea en ciclos de fertilización *in vitro* con transferencia de embriones**
Fernando Cecilio Paredes Chávez, Juan Carlos Barros Delgadillo, Senia Suyapa Ochoa Rueda,

HACE 55 AÑOS

- 656 **Frigidez sexual**
Traducción del Dr. Ramón de la Fuente
- 659 CARTA AL EDITOR
- 661 ÍNDICE DE MATERIAS DEL VOLUMEN 72, 2004
- 666 ÍNDICE ONOMÁSTICO DEL VOLUMEN 72, 2004

CONTENT

EDITORIAL

- 591 *Carlos Fernández del Castillo, Jorge Delgado Urdapilleta, Ernesto Castelazo Morales*

ORIGINAL ARTICLES

- 593 **Characterization of choriodecidual space as an effector molecule-rich environment that induces rupture of fetal membranes during labor**
Rodrigo Vega Sánchez, Guadalupe Estrada Gutiérrez, Arturo Cébulo Vázquez, Jorge Beltrán Montoya, Felipe Vadillo Ortega
- 602 ***In vivo* effect of endometria's and human cervix's secretions on the spermatozoid**
Martha Merino Ruiz, Hilda Magdalena Luna Aranda, Rogelio García Flores, Oscar Vidal Gutiérrez, Felipe Arturo Morales Martínez, Luis Sordia Hernández, Donato Saldívar Rodríguez, Juana Vázquez Méndez
- 611 **Connective tissue degradation in human amniochorion after stimulation with choriodecidual lymphocytes infected with group B streptococci**
Guadalupe Estrada Gutiérrez, Raquel Reyes Trejo, Rolando Maida Claros, Jorge Beltrán Montoya, Felipe Vadillo Ortega
- 619 **Perinatal result of an institutional assisted reproduction program**
Senia Suyapa Ochoa Rueda, Juan Carlos Barros Delgadillo, Fernando Cecilio Paredes Chávez, Gerardo Barroso Villa, Sergio Villalobos Acosta,



GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA DE MÉXICO

Volumen 72, number 12, December 2004

- Víctor Sánchez Solís, Mauricio Osorio Caballero, Fernando Gaviño Gaviño*
- 628 **Effect of pelvic floor exercise during pregnancy and puerperium on prevention of urinary stress incontinence**
Viridiana Gorbea Chávez, María del Pilar Velázquez Sánchez, Jorge R. Kunhardt Rasch
- 637 **Value of the morphological characteristics of polar body as a predictive factor of embryo development**
Alberto Kably Ambe, Julián Ruiz Anguas, Esperanza Carballo Mondragón, Leonor Durán Monterrosas
- 645 **Estrogen role in the luteal phase support in *in vitro* fertilization with embryo transfer cycles**
Fernando Cecilio Paredes Chávez, Juan Carlos Barros Delgadillo, Senia Suyapa Ochoa Rueda, Gerardo Barroso Villa, Sergio Villalobos Acosta, Víctor Sánchez Solís, Mauricio Osorio Caballero, Fernando Gaviño Gaviño

55 YEARS AGO

- 656 **Sexual frigidity**
Translation by Dr. Ramón de la Fuente
- 659 LETTER TO THE EDITOR
- 661 SUBJECT INDEX OF VOLUME 72, 2004
- 666 AUTHOR INDEX OF VOLUME 72, 2004

CONTENU

ÉDITORIAL

- 591 *Carlos Fernández del Castillo, Jorge Delgado Urdapilleta, Ernesto Castelazo Morales*

ARTICLES ORIGINAUX

- 593 **Caractérisation de l'espace chorio-décidual comme une micro-ambiance riche en molécules effectrices qui induisent la rupture des membranes chorio-amniotiques pendant le travail d'accouchement**
Rodrigo Vega Sánchez, Guadalupe Estrada Gutiérrez, Arturo Cérbulo Vázquez, Jorge Beltrán Montoya, Felipe Vadillo Ortega
- 602 **Effet *in vivo* des sécrétions de l'endomètre et du col utérin humain dans le spermatozoïde**
Martha Merino Ruiz, Hilda Magdalena Luna

Aranda, Rogelio García Flores, Oscar Vidal Gutiérrez, Felipe Arturo Morales Martínez, Luis Sordia Hernández, Donato Saldívar Rodríguez, Juana Vázquez Méndez

- 611 **L'interaction des lymphocytes chorio-déciduaux avec les streptocoques du groupe B dégrade le tissu connectif du chorio-amnios**
Guadalupe Estrada Gutiérrez, Raquel Reyes Trejo, Rolando Maida Claros, Jorge Beltrán Montoya, Felipe Vadillo Ortega
- 619 **Résultat périnatal d'un programme institutionnel de reproduction assistée**
Senia Suyapa Ochoa Rueda, Juan Carlos Barros Delgadillo, Fernando Cecilio Paredes Chávez, Gerardo Barroso Villa, Sergio Villalobos Acosta, Víctor Sánchez Solís, Mauricio Osorio Caballero, Fernando Gaviño Gaviño
- 628 **Effet des exercices du plancher pelvien pendant la grossesse et l'état puerpéral dans la prévention de l'incontinence urinaire d'effort**
Viridiana Gorbea Chávez, María del Pilar Velázquez Sánchez, Jorge R. Kunhardt Rasch
- 637 **Valeur des caractéristiques morphologiques du globule polaire comme facteur de prédiction du développement embryonnaire**
Alberto Kably Ambe, Julián Ruiz Anguas, Esperanza Carballo Mondragón, Leonor Durán Monterrosas
- 645 **Rôle des oestrogènes dans le support de la phase lutéale dans des cycles de fertilisation *in vitro* avec transfert d'embryons**
Fernando Cecilio Paredes Chávez, Juan Carlos Barros Delgadillo, Senia Suyapa Ochoa Rueda, Gerardo Barroso Villa, Sergio Villalobos Acosta, Víctor Sánchez Solís, Mauricio Osorio Caballero, Fernando Gaviño Gaviño

IL Y A 55 ANS

- 656 **Frigidité sexuelle**
Traduction du docteur Ramón de la Fuente
- 659 LETTRE À L'ÉDITEUR
- 661 INDEX DES MATIÈRES DU VOLUME 72, 2004
- 666 INDEX ONOMASTIQUE DU VOLUME 72, 2004



Editada por la Federación Mexicana de Ginecología y Obstetricia

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*

EDITOR COORDINADOR

Dr. Ernesto Castelazo Morales*

CONSEJO EDITORIAL

Dr. J. Trinidad González Gutiérrez
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. Jesús Puente Tovar

COMITÉ EDITORIAL

Dr. Jesús Leal del Rosal
Chihuahua, Chih.)
Dr. Juan Antonio Bujáidar Bujáidar
Dr. Reynaldo Milla Villeda
(Durango, Dgo.)
Dr. Sergio Fajardo Dueñas
Dr. Oscar Flores Carreras
Dr. Emigdio Torres Fariás
Dr. Luis Carlos Uribe Ramírez
Dr. Armando Vera Torres
(Guadalajara, Jal.)
Dr. Jorge González Durazo
(Hermosillo, Son.)
Dr. Antonio Gutiérrez Gutiérrez
(León, Gto.)
Dr. José de Jesús Montoya Romero
(Mazatlán, Sin.)
Dr. Fernando Gasque López
(Mérida, Yuc.)
Dra. Judith Ablanado Aguirre
Dr. Alberto Alvarado Durán
Dr. Manuel Álvarez Navarro
Dr. Carlos Aranda Flores
Dr. Aquiles R. Ayala Ruíz
Dr. René Bailón Uriza
Dr. Héctor Hugo Bustos López
Dr. Francisco Cabral Castañeda

Dr. Guillermo Díaz Barreiro
Dr. Paolo Di Castro Stringher
Dr. Julio Fernández Alba
Dr. Ángel García Alonso
Dr. Salvador Gaviño Ambríz
Dr. Fco. Javier Gómezpedroso Rea
Dra. Patricia Grether González
Dr. Pablo Gutiérrez Escoto
Dr. Juan Carlos Hinojosa y Ríos
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. Teresita Leis Márquez
Dr. Mario López Llera
Dr. Miguel Ángel Mancera Reséndiz
Dr. José Niz Ramos
Dr. Javier Ortiz Ibarra
Dr. Carlos Quesnel García-Benítez
Dr. Gilberto Ramírez Cueto
Dr. Armando Torres Ramírez
Dr. José Antonio Ruíz Moreno
Dr. Carlos Salazar López Ortíz
Dr. Carlos Sánchez Basurto
Dr. Guillermo Santibáñez Moreno

Dr. Javier Santos González
Dr. Luis Senties Cortina
Dr. Claudio Serviere Zaragoza
Dr. Luis Simón Pereira
Dr. Gilberto Tena Alavez
Dr. Rubén Tlapanco Barba
Dr. César Trejo Ramírez
Dr. Roberto Uribe Elías
Dr. José Edmundo Valdés Macho
Dr. José Efraín Vázquez Martínez de Velasco
Dr. Manuel Villalobos Román
Dr. Carlos Villanueva Díaz
(México, D.F.)
Dr. Carlos Félix Arce
Dr. Samuel Hernández Ayup
Dr. Pedro Tonda Ribo
(Monterrey, N.L.)
Dr. Norberto Plascencia Moncayo
(Querétaro, Qro.)
Dr. Antonio de Jesús Briseño Sainz
(San Luis Potosí)
Dr. David Antonio Nava Muñoz
(Tijuana B.C.)
Dr. Pedro Coronel Brizio
(Xalapa, Ver.)

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



GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA DE MÉXICO

AGRUPACIONES FEDERADAS

Asociación Mexicana de Ginecología y Obstetricia, A.C.
Sociedad de Ginecología y Obstetricia de Monterrey, A.C.
Colegio de Ginecología y Obstetricia de Yucatán, A.C.
Sociedad de Ginecología y Obstetricia de Guadalajara, A.C.
Sociedad de Ginecología y Obstetricia de "La Laguna", A.C.
Sociedad Potosina de Ginecología y Obstetricia, A.C.
Sociedad de Ginecología y Obstetricia de León, A.C.
Sociedad de Ginecología y Obstetricia de Tampico y Ciudad Madero, A.C.
Asociación de Ginecología y Obstetricia de Tijuana, A.C.
Asociación de Ginecología y Obstetricia de Mexicali, A.C.
Asociación Sinaloense de Ginecología y Obstetricia, A.C.
Colegio de Médicos Especialistas en Ginecología y Obstetricia del Estado de Chihuahua, A.C.
Colegio de Ginecólogos y Obstetras de Puebla, A.C.
Asociación Michoacana de Ginecología y Obstetricia, A.C.
Asociación Veracruzana de Ginecología y Obstetricia, A.C.
Sociedad de Ginecología y Obstetricia de Monclova, A.C.
Asociación de Ginecología y Obstetricia de Ciudad Juárez, A.C.
Sociedad de Ginecología y Obstetricia de Nuevo Laredo, A.C.
Asociación de Ginecología y Obstetricia del Estado de México, A.C.
Asociación Tabasqueña de Ginecología y Obstetricia, A.C.
Sociedad Oaxaqueña de Ginecología y Obstetricia, A.C.
Sociedad Xalapeña de Ginecología y Obstetricia, A.C.
Sociedad de Ginecología y Obstetricia de Aguascalientes, A.C.
Asociación de Ginecología y Obstetricia de Córdoba y Orizaba, A.C.
Sociedad de Ginecología y Obstetricia del Estado de Guerrero, A.C.
Asociación de Ginecología y Obstetricia del Noreste de Tamaulipas, A.C.
Sociedad de Ginecología y Obstetricia de Saltillo, A.C.
Colegio de Ginecología y Obstetricia de Celaya, Gto., A.C.
Asociación de Ginecología y Obstetricia de Tuxtla Gutiérrez, A.C.
Asociación de Ginecología y Obstetricia de Toluca, A.C.
Sociedad Irapuatense de Ginecología y Obstetricia, A.C.
Asociación de Ginecología y Obstetricia de Ensenada, A.C.
Asociación de Ginecología y Obstetricia de Durango, A.C.
Sociedad Hidalguense de Ginecología y Obstetricia, A.C.
Asociación Victorense de Ginecología y Obstetricia, A.C.
Asociación de Ginecología y Obstetricia de Querétaro, A.C.
Asociación de Ginecología y Obstetricia de Mazatlán, Sinaloa, A.C.

Asociación de Gineco-Obstetricia de los Mochis, A.C.
Asociación Colimense de Ginecología y Obstetricia, A.C.
Sociedad de Ginecología y Obstetricia del Sureste de Veracruz, A.C.
Asociación de Ginecología y Obstetricia de Piedras Negras, A.C.
Asociación de Ginecología y Obstetricia de Tuxpan, Ver., A.C.
Asociación de Ginecología y Obstetricia de Ciudad Obregón, A.C.
Sociedad de Ginecología y Obstetricia del Mayo, A.C.
Asociación de Ginecología y Obstetricia de Matamoros, Tamaulipas, A.C.
Asociación de Ginecología y Obstetricia de Quintana Roo, A.C.
Asociación de Ginecología y Obstetricia de San Luis Río Colorado, Son., A.C.
Asociación de Ginecología y Obstetricia de Morelos, A.C.
Asociación Vallartense de Ginecología y Obstetricia, A.C.
Asociación de Ginecología y Obstetricia de la Costa de Chiapas, A.C.
Sociedad de Ginecología y Obstetricia de Zacatecas, A.C.
Asociación Sudcaliforniana de Ginecología y Obstetricia, A.C.
Colegio de Ginecología y Obstetricia de Campeche
Colegio de Ginecología y Obstetricia de Tlaxcala, A.C.
Sociedad de Ginecología y Obstetricia de Nayarit, A.C.
Colegio de Ginecología y Obstetricia de Zamora, A.C.
Asociación de Ginecología y Obstetricia del Sur del Estado de Chihuahua, A.C.
Asociación de Ginecoobstetras Guasave-Guamúchil, A.C.
Sociedad Cuauhtemense de Ginecología y Obstetricia, A.C.
Colegio de Ginecología y Obstetricia de Chilpancingo, Gro., A.C.
Colegio de Obstetricia y Ginecología de Salamanca, A.C.
Asociación de Ginecoobstetras del Sur de Jalisco, A.C.
Sociedad de Ginecología y Obstetricia de Cd. Valles y Zona Huasteca, A.C.
Colegio de Ginecología y Obstetricia de Río Verde, S.L.P., A.C.
Sociedad de Ginecología y Obstetricia de Guaymas, A.C.
Colegio de Ginecología y Obstetricia del Norte de Sonora, A.C.
Colegio de Ginecólogos y Obstetras de Hermosillo, A.C.
Asociación de Ginecología y Obstetricia de Ciudad Delicias, A.C.
Colegio de Ginecoobstetras de Uruapan, A.C.
Sociedad de Ginecología y Obstetricia de Matehuala, A.C.
Sociedad de Ginecología y Obstetricia de Coatzacoalcos, A.C.
Colegio Ginecoobstétrico de Tehuacán, A.C.
Colegio Ginecoobstétrico de la Cuenca del Papaloapan, A.C.
Colegio Ginecoobstétrico del Norte del Edo. de Guerrero, A.C.
Asociación de Ginecología y Obstetricia de Poza Rica, Ver., A.C.
Sociedad de Ginecología y Obstetricia de los Altos de Jalisco, A.C.



GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA DE MÉXICO

Federación Mexicana de Ginecología y Obstetricia, A.C.

Fundada en 1960

Comité Ejecutivo
2003-2005

Dr. Javier Santos González
Presidente

Dr. Alberto Kably Ambe
Secretario

Dr. René Bailón Uriza
Tesorero

Vocales

Dr. Manuel Álvarez Navarro
Región I
Dr. Héctor Alejandro González
Región II
Dr. Enrique Soto Canales
Región III

Dr. José Gómez Alarcón
Región IV
Dr. Emigdio Torres Farías
Región V
Dra. C. Martha Acosta Velázquez
Región VI

Dr. Marco A. Fuentes Ocampo
Región VII

Afiliada a:



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



FIGO
The 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.



GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA DE MÉXICO

Tarifas de suscripción anual 2004

Revista mensual

En la República Mexicana

Institucional (multilectores):	\$ 870.00
Personal:	\$ 850.00
Ejemplares ya publicados:	\$ 120.00

En el extranjero:

Institucional (multireaders):	\$ 160.00 dls.
Personal:	\$ 155.00 dls.

*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 No. 38, Col. Nápoles, 03810 México, D.F. Tel. 5682-0156.

Realizada, comercializada y distribuida por Nieto Editores, SA de CV, Av. de las Tzinnias 10, col. Jardines de Coyoacán, México, DF, CP 04890. Tel.: 5678-2811, fax: 5679-6591. Impresa en: MPM, SA de CV, Manuel Sotero Prieto núm. 13, Circuito Científicos, Ciudad Satélite, Naucalpan, Estado de México, CP 53100.

Coordinación editorial: Evangelina Andraca Alcalá y Dr. Enrique Nieto R.

Suscripciones e informes

Sra. Bertha Schoelly de Larrondo
Calle de Nueva York No. 38, Col. Nápoles
Del. Benito Juárez, 03810, México, D.F.
Tels: 5682-0156, 5682-4823,
de 17:00 a 20:00 horas.
Fax: 5682 5601

Publicidad

Georgina González Tovar

Ejecutiva de ventas

Tel. 5678-2811.

Celular: 044-55-1047-16-45

E-mail: ggonzalez@nietoeditores.com.mx

Karla Armenta Tovar

Ejecutiva de ventas

Tel. 5678-2811.

Celular: 044-55-1825-02-24

E-mail: karmenta@nietoeditores.com.mx

Con este número de GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA DE MÉXICO termina el volumen 72. En el transcurso de este año se publicaron 49 artículos originales, 8 de revisión y 7 comunicaciones de casos. Con esta producción se cumplieron de manera puntual los requisitos de los índices y bancos de datos de información biomédica en relación con el mínimo de 60% del contenido de la revista de artículos de investigaciones originales. Los editores agradecemos la respuesta de los colegas preocupados por fomentar el intercambio de experiencias. La revista es una de las opciones de más fácil acceso para conocer qué están haciendo nuestros pares en los distintos estados de la República Mexicana.

Este año se amplió el universo de nuestros lectores y consultantes; el contenido de la revista dejó de ser sólo para quienes reciben los ejemplares impresos en papel y ahora se encuentra en la Internet, con las facilidades que este medio provee para permitir la consulta de todos aquellos que buscan actualizar sus conocimientos en los diversos aspectos de la ginecología y obstetricia. Para facilitar las consultas, los resúmenes de los artículos aparecen en español, inglés, francés y, próximamente, saldrán en portugués.

El trabajo generoso que realizan los miembros del comité editorial que participaron en la revisión de los artículos que se publicaron es muy valioso. Sin duda que sus comentarios y sugerencias contribuyeron a facilitar la comprensión de las comunicaciones y

a cumplir con los requisitos mínimos indispensables de los manuscritos para publicación en revistas biomédicas.

En este número de GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA DE MÉXICO se publican los trabajos que resultaron premiados en el 55 Congreso Mexicano de Ginecología y Obstetricia y que son el reflejo del esfuerzo de los investigadores nacionales por seguir participando en todas las actividades que encabeza la Federación Mexicana de Ginecología y Obstetricia. De estos trabajos resalta el hecho de que la mayor parte sean del ámbito de la reproducción asistida, terreno de la ginecología y obstetricia que hoy ocupa uno de los frentes de la investigación más frecuentados.

En esta misma edición aparece una carta enviada por un médico colombiano quien comenta un artículo sobre reproducción asistida publicado en ediciones previas. Esto es una muestra del interés que prevalece en este campo y de la repercusión que tiene la revista entre nuestros colegas de Latinoamérica.

Una vez más, los editores les reiteramos nuestro agradecimiento por la confianza otorgada y les invitamos a que nos envíen las sugerencias que nos permitan ampliar los horizontes en bien de todos.

Felices fiestas

Dr. Carlos Fernández del Castillo S
Dr. Jorge Delgado Urdapilleta
Dr. Ernesto Castelazo Morales

Asociación Mexicana de Ginecología y Obstetricia A.C.

Región I

2005

Fecha	Curso	Nombre	Profesor titular	Sede	Horario
Febrero 3	Sesión ordinaria	Enfermedades de la vulva	Dra. Ma. de los Ángeles Madrigal de la Campa	Auditorio AMGO	20:30 a 22:00 h
Febrero 2 y 3	Curso de alta especialidad	Uroginecología	Dr. Eduardo S. Neri Ruz	Auditorio AMGO	9:00 a 14:00 h
Febrero 16 y 17	Curso internacional	Patología mamaria	Dr. Francisco Gomez-pedroso Rea	Por confirmar	Por confirmar
Marzo 3	Sesión ordinaria	Ginecología y obstetricia en la adolescente	Dra. Josefina Lira Plascencia	Auditorio AMGO	20:30 a 22:00 h
Marzo 4 y 5	Curso de alta especialidad	Curso teórico práctico de cirugía endoscópica	Dr. Alberto Kably Ambe	Centro de Enseñanza, Investigación en Cirugía, Hospital Ángeles de las Lomas	8:30 a 17:00 h
Marzo 16 y 17	Curso de alta especialidad	Colposcopia	Dra. Ma. de los Ángeles Madrigal de la Campa	Por confirmar	8:00 a 14:00 h
Abril 7	Sesión ordinaria	Avances en vaginosis bacteriana	Dr. Héctor Santana García	Auditorio AMGO	20:30 a 22:00 h
Mayo 12	Sesión ordinaria	Significado clínico de la resistencia hormonal en ginecología y obstetricia	Dr. Aquiles Ayala Ruiz	Auditorio AMGO	20:30 a 22:00 h
Mayo 18 y 19	Curso de alta especialidad	Evidencias científicas en medicina materno-fetal. De la teoría a la práctica	Dr. Ernesto Castelazo Morales	Auditorio AMGO	8:30 a 13:30 h
Junio 9	Sesión ordinaria	Manejo quirúrgico de la incontinencia urinaria de esfuerzo ¿verdadera alternativa?	Dr. Cecilio Rodríguez Ayala	Auditorio AMGO	20:30 a 22:00 h
Junio 21, 22, 23 y 24	XII Reunión Regional	La ginecología y obstetricia. Sesenta años ... día con día	Dr. Estanislao Díaz Barriga Díaz	Centro Banamex	Por confirmar

Informes e inscripciones:

Asociación Mexicana de Ginecología y Obstetricia A.C.
 Baja California 311, col. Hipódromo, México, DF.
 Tel.: 5515-3668, 5272-7209. Fax: 5516-8158.
 E-mail: presidencia@amgo.org.mx, administracion@amgo.org.mx

www.amgo.org.mx

Caracterización del espacio coriodecidual como un microambiente rico en moléculas efectoras que inducen la rotura de las membranas corioamnióticas durante el trabajo de parto[‡]

Rodrigo Vega Sánchez,* Guadalupe Estrada Gutiérrez,* Arturo Cébulo Vázquez,** Jorge Beltrán Montoya,***,**** Felipe Vadillo Ortega*

RESUMEN

Objetivo: identificar un microambiente específico en contacto con las membranas fetales en el que se acumulan moléculas efectoras dirigidas a degradar los componentes de su matriz extracelular durante el trabajo de parto.

Tipo de estudio: experimental, analítico, longitudinal y prospectivo.

Material y métodos: se recolectaron muestras de sangre de los compartimientos materno, de cordón umbilical y coriodecidual y se aislaron las células mononucleares. Algunas células se marcaron con anticuerpos para determinar las subpoblaciones de leucocitos por citometría de flujo; otras se cocultivaron durante 12 h con explantes de membranas corioamnióticas. Después del cocultivo en las células se identificó MMP-9 por inmunofluorescencia y en los sobrenadantes se determinó IL-1 β y TNF- α por ELISA. Se hicieron tres experimentos independientes por duplicado y se analizaron con la prueba U de Mann-Whitney.

Resultados: aunque no se encontraron diferencias significativas en las subpoblaciones de leucocitos entre los tres compartimientos, la producción de MMP-9 por las células mononucleares fue mayor en las coriodeciduals, comparada con la de las células maternas y del cordón umbilical. Del mismo modo, en los cocultivos con células coriodeciduals se encontró mayor cantidad de IL-1 β y TNF- α que en los de los otros compartimientos.

Conclusiones: en el trabajo de parto a término las subpoblaciones de células mononucleares del espacio coriodecidual no son diferentes fenotípicamente de las maternas o del cordón umbilical, pero sí lo son en cuanto a producción de MMP-9, lo que sugiere que el entorno de las membranas corioamnióticas favorece la síntesis de esta enzima y promueve la degradación del tejido conectivo.

Palabras clave: rotura de membranas fetales, coriodecidual, microambiente, MMP-9, IL-1 β , TNF- α .

ABSTRACT

Objective: To identify a specific microenvironment in direct contact with fetal membranes where effector molecules accumulate, aiming to degrade the components of its extracellular matrix during labor.

Type of study: experimental, analytic, longitudinal and prospective.

Materials y methods: blood samples were collected from maternal, fetal and choriodecidual compartments, and mononuclear cells were isolated. Part of these cells was stained with antibodies to determine leukocyte subpopulations by flow cytometry. The other part was cocultured for 12 h with amniochorion explants. After coculture, MMP-9 was identified on the mononuclear cells by immunofluorescence. IL-1 β and TNF- α were determined in the supernatants by ELISA. Three independent experiments were carried out with duplicates and analyzed with Mann-Whitney's U test.

Results: Although there were no significant differences in the mononuclear cell subpopulations from the three compartments, MMP-9 production was higher in choriodecidual cells than in those of the maternal and fetal compartments. Furthermore, IL-1 β and TNF- α were significantly more abundant in cocultures with choriodecidual cells compared with the other two compartments.

Conclusions: During labor, choriodecidual cell subpopulations are not phenotypically different from those of the maternal or fetal compartments, but they are regarding MMP-9 production, which suggests that the environment surrounding chorioamniotic membranes enhances the synthesis of this enzyme, thus promoting degradation of connective tissue.

Key words: rupture of fetal membranes, choriodecidual, microenvironment, MMP-9, IL-1 β , TNF- α .

SOMMAIRE

Objectif : identifier une micro-ambiance spécifique en contact avec les membranes fœtales dans laquelle s'accumulent des molécules effectrices dirigées à dégrader les composants de sa matrice extracellulaire pendant le travail d'accouchement.

Type d'étude : expérimentale, analytique, longitudinale et prospective.



Matériel et méthodes : on a récolté des échantillons de sang des compartiments maternel, de cordon ombilical et chorio-déciduaux et on a isolé les cellules mononucléaires. Quelques cellules ont été marquées avec des anticorps pour déterminer les sous-populations de leucocytes par cytométrie de flux ; d'autres ont été cocultivées pour 12 h avec des explants de membranes chorio-amniotiques. Après la coculture, dans les cellules on a identifié MMP-9 par immunofluorescence et dans les surnageants on a déterminé IL-1 β et TNF- α par ELISA. On a réalisé trois expériences indépendantes par duplicata et on les a analysées avec le test U de Mann-Whitney.

Résultats : même si l'on n'a pas trouvé des différences significatives dans les sous-populations de leucocytes entre les trois compartiments, la production de MMP-9 par les cellules mononucléaires a été majeure dans les chorio-déciduaux, comparée avec celle des cellules maternelles et du cordon ombilical. De la même façon, dans les cocultures avec des cellules chorio-déciduaux on a trouvé une quantité majeure de IL-1 β et TNF- α que dans celles des autres compartiments.

Conclusions : dans le travail d'accouchement à terme, les sous-populations de cellules mononucléaires de l'espace chorio-déciduaux ne sont phénotypiquement pas différentes des maternelles ou du cordon ombilical, mais elles le sont quant à la production de MMP-9, ce qui suggère que l'entourage des membranes chorio-amniotiques favorise la synthèse de cette enzyme et promue la dégradation du tissu connectif.

Mots-clé : rupture de membranes fœtales, chorio-déciduaux, micro-ambiance, MMP-9, IL-1 β , TNF- α .

ABREVIATURAS

DMEM + HLA: medio de cultivo Eagle modificado por Dulbecco, adicionado con hidrolizado de lactoalbúmina.

FITC: isotiocianato de fluoresceína

IL-1 β : interleucina 1- β

MCA: membranas corioamnióticas

MMP-2: metaloproteasa de matriz extracelular-2

MMP-9: metaloproteasa de matriz extracelular-9

PC5: ficoeritrina-cianina 5.1

PE: ficoeritrina

RPM: rotura prematura de membranas

SFB: suero fetal bovino

TNF- α : factor de necrosis tumoral α

En México, el parto pretérmino es un suceso que se manifiesta en alrededor del 10% de los embarazos. Casi 40% de éstos se relacionan con la rotura prematura de las membranas corioamnióticas,¹ enfermedad obstétrica que se distingue por la rotura de las membranas en ausencia de trabajo de parto.

En condiciones normales y patológicas, la rotura se origina por la degradación de los distintos tipos de colágena que constituyen el componente principal de la matriz extracelular que da soporte a las membranas corioamnióticas.²

Dicha degradación la controla una familia de enzimas dependientes de cinc llamadas metaloproteasas de matriz extracelular (MMPs) y sus inhibidores (TIMPs).³

A lo largo de la gestación las membranas corioamnióticas sintetizan MMP-2 y MMP-9, pero durante el trabajo de parto aumenta la síntesis y actividad de esta última y disminuye su inhibidor, lo que se asocia con cambios ultraestructurales en el tejido conectivo y con una baja en la cantidad de colágena de las membranas corioamnióticas, por lo que la MMP-9 se considera un marcador molecular del trabajo de parto.⁴

Los procesos de señalización local que induce la expresión de MMP-9 por las células de las membranas corioamnióticas bajo condiciones fisiológicas y que condicionan su rotura no se conocen, aunque los hallazgos apuntan hacia la participación de citocinas proinflamatorias, como la IL-1 β y el TNF- α , que de manera paracrina y autocrina pueden regular la producción de esta enzima.^{5,6} A nivel local, el amnios, el corion, los trofoblastos y las células deciduales son capaces de producir citocinas proinflamatorias y MMP-9 en condiciones basales.^{7,8,9}

Debido a que la síntesis de estas moléculas no se realiza sólo en los casos en los que hay infección, se sugiere que su producción a este nivel depende del trabajo de parto más que de la presencia de bacterias. Lo anterior postula que este suceso representa un proceso de carácter inflamatorio.^{10,11,12}

‡ Este trabajo obtuvo el primer lugar de investigación básica en el 55 Congreso Mexicano de Ginecología y Obstetricia.

* Dirección de investigación.

** Unidad de citometría de flujo.

*** Departamento de tococirugía y urgencias. Instituto Nacional de Perinatología, SSa.

**** Miembro federado.

Correspondencia: Dr. Felipe Vadillo Ortega. Instituto Nacional de Perinatología, Dirección de Investigación. Montes Urales 800, Lomas Virreyes, México, DF, CP 11000. Tel.: 5202-9381. Fax: 55200034. E-mail: fvadillo@servidor.inper.edu.mx y felipe.vadillo@uia.mx

La versión completa de este artículo también está disponible en internet: www.revistasmedicasmexicanas.com.mx

En los estudios en que se identifica de manera más fina la fuente de citocinas y metaloproteasas en las membranas fetales y otros tejidos gestacionales se ha podido demostrar que la mayor parte proviene del infiltrado leucocitario y no de las células locales, como antes se creía.^{13,14} Los neutrófilos, macrófagos y linfocitos T, atraídos quizá por un aumento en la expresión de moléculas de adhesión, invaden la placenta, el miometrio, el cuello uterino y las membranas fetales, lo que coincide con incremento en la cantidad IL-1 β , TNF- α y MMP-9 en esos tejidos.^{15,16,17}

De esta manera, la caracterización fenotípica de los leucocitos que llegan al microambiente coriodecidual, sus perfiles de secreción de citocinas proinflamatorias, el MMP-9 durante el trabajo de parto y la rotura prematura de membranas resultan indispensables.

OBJETIVO

Identificar y determinar los atributos de la existencia de un microambiente específico en contacto con las membranas fetales en el que se acumulan componentes efectoras celulares dirigidos a degradar los componentes de la matriz extracelular durante el trabajo de parto.

TIPO DE ESTUDIO

Experimental, analítico, longitudinal y prospectivo.

MATERIAL Y MÉTODO

Muestras biológicas

Las muestras utilizadas en este estudio se obtuvieron en la unidad tocoquirúrgica del Instituto Nacional de Perinatología inmediatamente después del alumbramiento, de mujeres con embarazo a término (37 a 40 semanas de gestación) sin datos clínicos ni microbiológicos de infección y sin enfermedades. Las muestras se transportaron al laboratorio en condiciones de esterilidad para ser procesadas durante la primera hora después de su obtención.

Aislamiento de leucocitos

Las muestras de sangre se obtuvieron de mujeres en trabajo de parto. Se extrajeron 10 mL de sangre

coriodecidual por drenado de los cotiledones de la placenta, con lo que se tuvo una muestra representativa de los leucocitos que estaban circulando localmente *in vivo*. Además, se obtuvieron 10 mL de sangre periférica materna y 10 mL de sangre del cordón umbilical por punción venosa. La sangre total se procesó con el reactivo Lymphoprep™ (Axis-Shield, Noruega), que separa las células mononucleares mediante un gradiente de densidad.

Algunas de las células se procesaron de inmediato para la citometría de flujo y otras se pusieron en cocultivo con explantes de membranas corioamnióticas.

Membranas corioamnióticas

Las membranas se obtuvieron de mujeres sin trabajo de parto. Se procesaron siguiendo la metodología ya descrita.⁵ Las membranas se cortaron cerca del sitio de unión a la placenta y se transportaron en medio de Eagle modificado por Dulbecco con 1% de antibiótico-antimicótico. En el laboratorio se lavaron con solución salina fisiológica en condiciones de esterilidad y se hicieron explantes de 1 cm de diámetro cuidando que no se separaran el amnios y el corion. Los explantes se mantuvieron en cultivo durante 24 horas en medio de Eagle modificado por Dulbecco, con 10% de suero fetal bovino, 1% de piruvato de sodio y 1% de antibiótico-antimicótico. Después de ese tiempo se sustituyó el medio de cultivo por otro adicionado con 0.2% de hidrolizado de lactoalbúmina (DMEM + HLA) y se dejaron en las mismas condiciones de cultivo por otras 24 horas antes de iniciar el cocultivo con las células mononucleares.

Tinción para antígenos de superficie

Para la caracterización fenotípica de las células se utilizaron 10 μ L de los siguientes anticuerpos monoclonales, marcados con diferentes fluorocromos (Immunotech, Francia), con el fin de encontrar las distintas subpoblaciones de leucocitos: CD3-PC5 para linfocitos T, CD4-FITC para linfocitos T cooperadores, CD8-PE para linfocitos T citotóxicos, CD14-PE para monocitos, CD56-PE para células NK y CD19-PC5 para linfocitos B.

Las muestras se analizaron por citometría de flujo en un equipo Epics Altra de Coulter y el análisis de los datos se hizo con el programa informático Expo.

Cocultivo de leucocitos coriodeciduals con membranas corioamnióticas

En un pozo de placa de cultivo celular se colocó un explante de membrana corioamniótica en 1 mL de medio de Eagle modificado por Dulbecco adicionado con hidrolizado de lactoalbúmina y se puso encima un inserto (Transwell®, Corning Inc., EUA) con membrana transparente de policarbonato de 12 mm de diámetro y poros de 0.4 µm. En el interior del inserto se pusieron las células mononucleares en 1 mL de medio DMEM más HLA. Este sistema evita el contacto físico de las células y las membranas y permite la comunicación por mediadores solubles.

El cocultivo se dejó en incubación durante 10 horas, a 37°C, con 5% de CO₂. En ese tiempo se agregó brefeldina A (Sigma, EUA), a una concentración final de 10 µg/mL para impedir que las proteínas sintetizadas por los leucocitos se liberaran al medio de cultivo y así poder comprobar la producción de MMP-9. El cultivo se dejó en esas condiciones durante 2 horas más para completar las 12 horas de cocultivo. Al cabo de ese tiempo se colectaron las células mononucleares, que se procesaron para inmunofluorescencia de MMP-9, y los sobrenadantes de dentro y fuera del Transwell, que se juntaron y almacenaron a -20°C para después hacer las determinaciones de IL-1β y TNF-α por ELISA.

Inmunofluorescencia de MMP-9

Se homogenizó el contenido de la parte interna del Transwell y se tomaron 10 µL de la suspensión de células para hacer un extendido sobre un portaobjetos. Después de secar al aire, las células se fijaron cinco minutos con una mezcla v:v de metanol-acetona fría para luego hacer un lavado con PBS-Tritón X-100 al 0.2% para permeabilizarlas. Sin dejar que se secaran por completo se adicionó un anticuerpo monoclonal anti MMP-9 (Oncogene, EUA) diluido, 1:500, y se incubaron durante 30 minutos, a 37°C en una cámara húmeda. Después de repetir el paso del lavado se adicionó un anticuerpo secundario conjugado con FITC (Zymed Laboratories) diluido, 1:1000, y se incubaron en oscuridad durante el mismo lapso bajo las mismas condiciones. Por último, las preparaciones se lavaron con PBS, se tiñeron con azul de Evans, para contrastar las células, y se montaron con bálsamo de Canadá para observarlas al microscopio confocal.

ELISA para IL-1β y TNF-α

La determinación de estas citocinas se hizo con ensayos de ELISA tipo emparejado creados en nuestro laboratorio, se siguió la misma metodología para ambos pero se utilizaron los anticuerpos respectivos para cada citocina. En placas de 96 pozos se puso un anticuerpo monoclonal anti IL-1β o TNF-α y se incubó toda la noche a 37°C. Se lavaron las placas de 3 a 5 veces con PBS-Tween al 0.05%. Se bloquearon durante dos horas a temperatura ambiente con una solución de PBS con 5% de sacarosa, 1% de albúmina sérica bovina y 0.05% de azida de sodio. Se volvieron a lavar y se pusieron por un lado los estándares de proteína recombinante (0.001 - 0.5 ng/mL en el caso de IL-1β y 0.156 - 7.5 ng/mL de TNF-α) y por otro 100 µL de los sobrenadantes de los cocultivos homogeneizados. Se incubaron toda la noche a 4°C. Se lavaron las placas y se puso un anticuerpo policlonal biotinilado que se incubó a temperatura ambiente durante dos horas. Después de lavarse se incubaron con un conjugado de estreptavidina-fosfatasa alcalina durante 90 minutos, a 37°C. Se lavaron y finalmente se les agregó una solución de p-nitrofenilfosfato que se dejó durante 30 minutos, a 37°C. La absorbancia se analizó con un lector de ELISA a 410 nm.

Análisis estadístico

Para el análisis estadístico de los datos se obtuvieron las medias y desviaciones estándar y se buscaron las diferencias usando la prueba U de Mann-Whitney.

RESULTADOS

En el cuadro 1 se muestran los resultados de la citometría de flujo realizada a las células mononucleares inmediatamente después de su obtención.

Los porcentajes de todas las subpoblaciones se encontraron dentro de los rangos de normalidad, de acuerdo con los valores de referencia para células mononucleares por citometría de flujo.¹⁸

La población de linfocitos T (CD3+) fue la más abundante en todas las muestras. Aunque los porcentajes de células CD4+ y CD8+ estuvieron dentro del rango normal, la relación CD4/CD8, que por lo regular es de dos células CD4+ por cada CD8+, sólo se observó en la sangre periférica con trabajo de parto. En

Cuadro 1. Porcentajes de células mononucleares en sangre periférica materna, de cordón umbilical y coriodecidual

	<i>Materna</i>	<i>Cordón</i>	<i>Coriodecidual</i>
Linfocitos T	43.23 ± 18.44	36.80 ± 15.42	39.27 ± 20.20
Linfocitos T CD4	49.23 ± 12.79	40.63 ± 23.84	31.67 ± 10.35
Linfocitos T CD8	23.50 ± 4.17	23.63 ± 3.67	26.30 ± 11.46
Relación CD4/CD8	2.09	1.7	1.2
Monocitos	24.30 ± 11.76	11.27 ± 12.03	10.27 ± 3.25
Células NK	10.75 ± 1.06	10.30 ± 7.91	14.1 ± 2.40
Linfocitos B	5.67 ± 0.92	9.73 ± 3.76	3.60 ± 3.41

Valores expresados como promedio ± desviación estándar.

los demás casos hubo mayor cantidad de linfocitos T citotóxicos (CD8+) de lo esperado.

En los resultados de la citometría no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) al comparar los porcentajes de las subpoblaciones celulares de los distintos compartimientos.

Sin embargo, la inmunofluorescencia para MMP-9 (figura 1) reveló que la producción de esta enzima es mucho más abundante en las células provenientes del espacio coriodecidual, comparada con las muestras del cordón umbilical, donde hubo menor producción, y sobre todo con las células de la sangre materna, donde la existencia de esta enzima es prácticamente nula.

En los cocultivos, los controles demostraron que para la IL-1 β (figura 2) las células mononucleares producen mayor cantidad de esta citocina que el explante de membrana corioamniótica y que dicha producción es mayor en el caso del ambiente coriodecidual, en comparación con el materno y el del cordón umbilical.

Para el TNF- α (figura 3) el explante de membrana demostró que la capacidad de síntesis de esta citocina es muy superior a la de las células mononucleares de cualquiera de los tres compartimientos.

Sin embargo, en los sobrenadantes de los cocultivos se encontró que cuando las células se pusieron en contacto con la membrana hubo incremento en la síntesis de ambas citocinas; éste fue mayor en los cocultivos con células coriodeciduals que en los que tenían células maternas o del cordón umbilical.

DISCUSIÓN

Los hallazgos más recientes en la bibliografía internacional apuntan a que el trabajo de parto es un proceso de tipo inflamatorio que incluye la llegada de

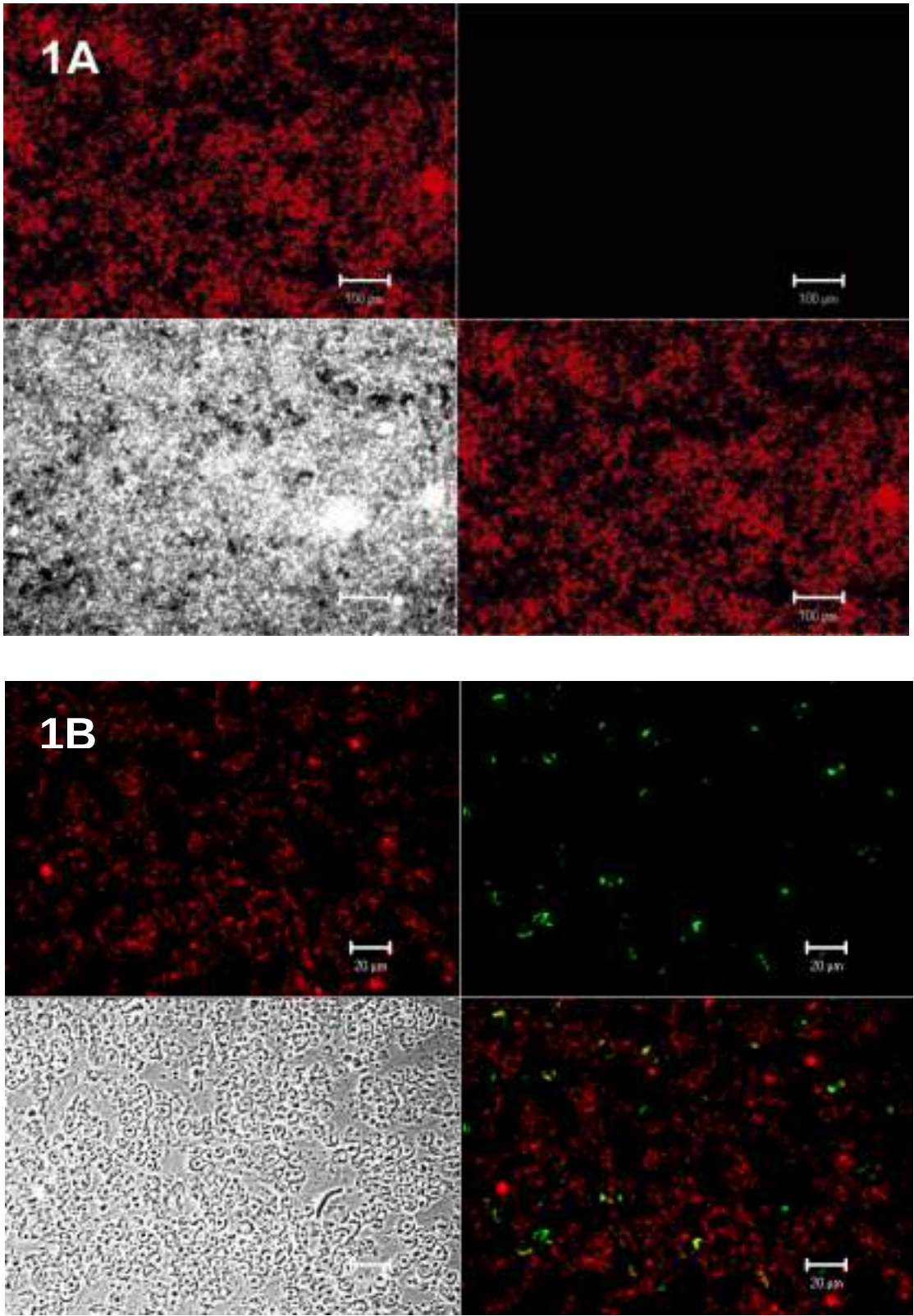
un infiltrado leucocitario al entorno del espacio coriodecidual y la consecuente secreción de citocinas y otras moléculas efectoras propias de una respuesta de este tipo.

La MMP-9 es una enzima que degrada colágena de la matriz extracelular de las membranas y cuya expresión y actividad aumenta de forma selectiva con el trabajo de parto. Al analizar los perfiles de producción de esta enzima pudo observarse que el espacio coriodecidual es el ambiente específico en el que se favorece dicha producción. El hecho de que sólo se observe MMP-9 en las células del espacio coriodecidual y, en menor medida, en las del cordón umbilical, pero no en las del ambiente materno, podría sugerir que las señales de la degradación de las membranas corioamnióticas efectuadas por esta enzima derivan del feto.

Se observó que los leucocitos mononucleares de la sangre del entorno coriodecidual no son distintos fenotípicamente de los que se encuentran en la circulación materna o fetal, esto en cuanto a las proporciones de las subpoblaciones medidas por citometría de flujo.

Sin embargo, el análisis de dos citocinas proinflamatorias, como la IL-1 β y el TNF- α , demostró que el principal aporte del TNF- α está a cargo de la membrana, mientras que el de la IL-1 β depende, en mayor medida, de las células mononucleares.

El hecho de que las cantidades de citocinas en el sistema de cocultivo no sean iguales a la suma de lo producido por las células y por el explante de manera aislada sugiere que el contacto de las distintas poblaciones celulares ejerce un efecto modulador en la síntesis de moléculas efectoras. Además, al restar los valores de los controles de las células y del explante a



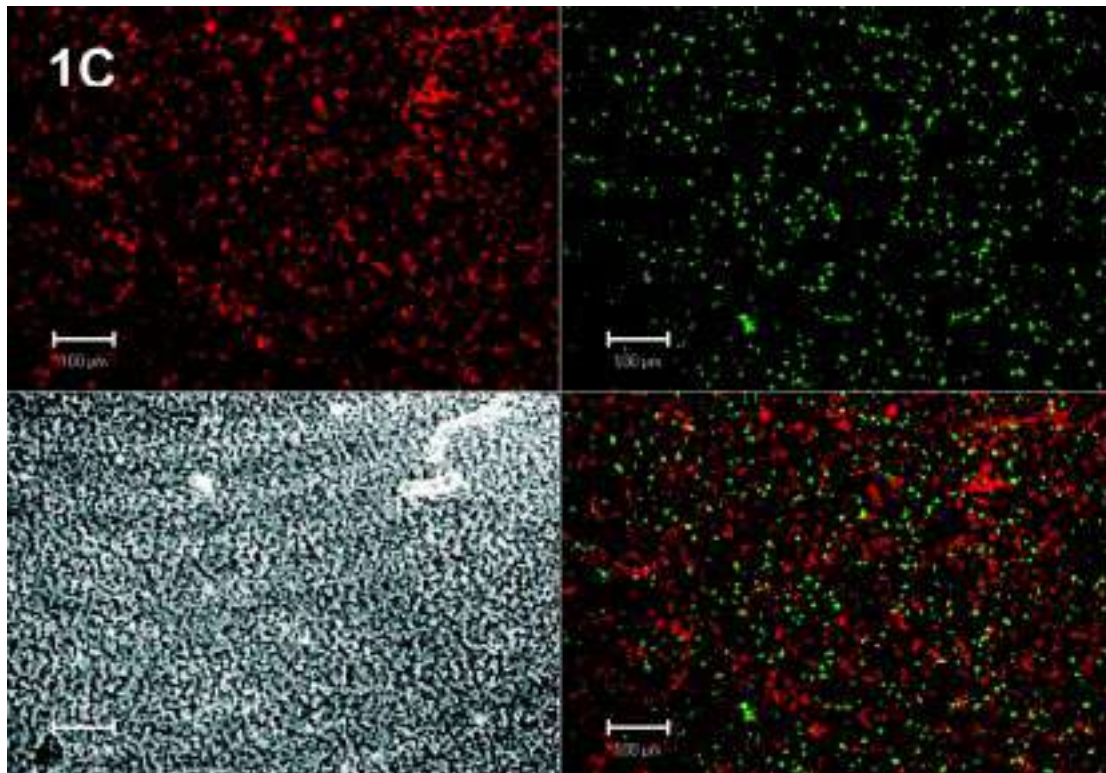


Figura 1. Inmunofluorescencia para MMP-9. La MMP-9 se muestra teñida en color verde. A) Compartimiento materno. B) Compartimiento fetal. C) Compartimiento coriodecidual.

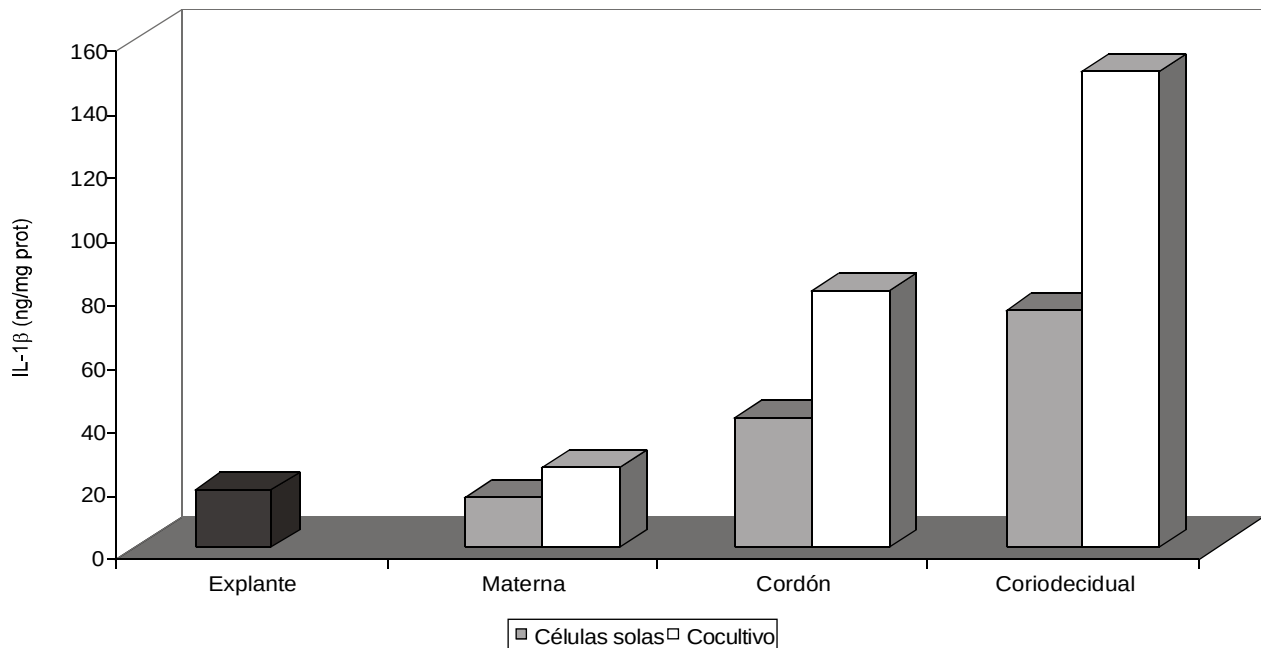


Figura 2. IL-1 β secretada al medio en los distintos cocultivos de células mononucleares con membranas corioamnióticas. Los datos representan el promedio.

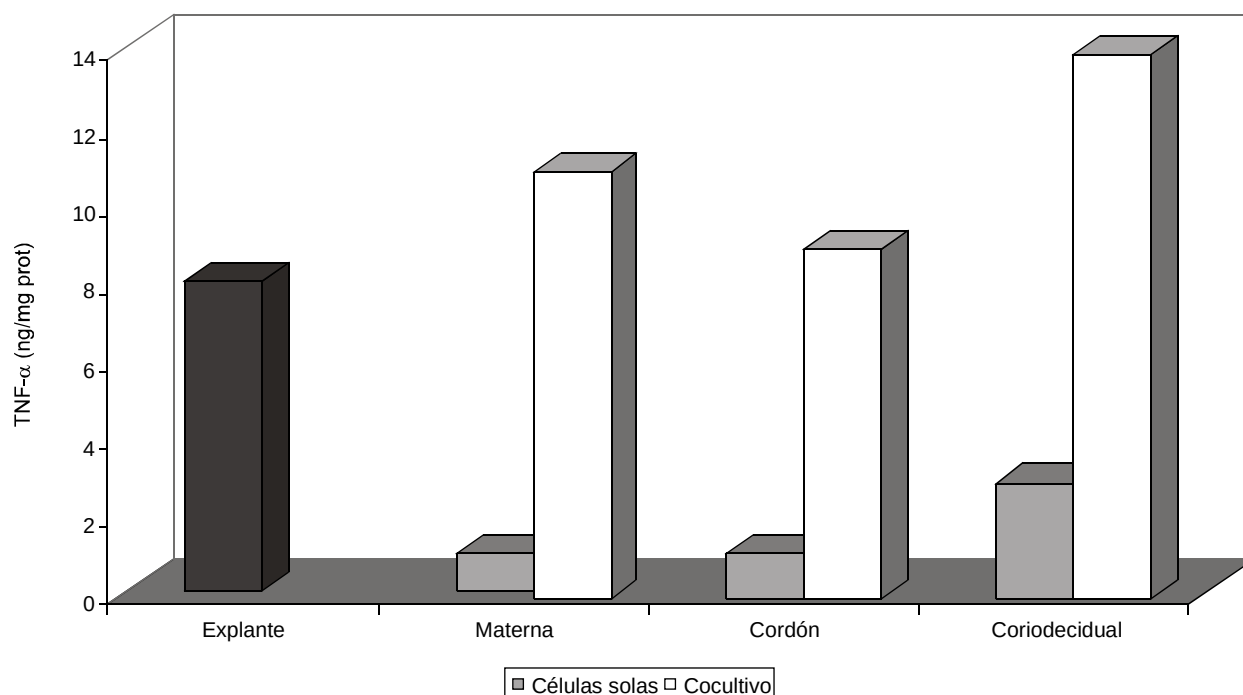


Figura 3. TNF- α secretado al medio en los distintos cocultivos de células mononucleares con membranas corioamnióticas. Los datos representan el promedio.

los datos del cocultivo se observó que en el caso del ambiente materno las cantidades de IL-1 β y TNF- α secretadas al medio no difieren de los valores basales. No así en el caso del espacio coriodecidual y del cordón umbilical donde el incremento fue evidente.

Todo lo anterior sugiere que el entorno de contacto con las membranas corioamnióticas es un microambiente específico en el que se entabla un diálogo molecular entre las células de dicho tejido y las que arriban al espacio coriodecidual, lo que da lugar a la acumulación de grandes cantidades de estas citocinas, que inducen la síntesis de MMP-9 y promueven la degradación del tejido conectivo de las membranas fetales cuando el embarazo llega a término.

Ante estas pruebas es indispensable que los estudios futuros se orienten a caracterizar el aporte de citocinas proinflamatorias al microambiente coriodecidual por parte de las subpoblaciones leucocitarias específicas, así como la producción diferencial de MMP-9 para identificar su papel en la rotura de las membranas corioamnióticas.

REFERENCIAS

1. Kunhardt Rasch J, Río de la Loza Cava MF. Ruptura prematura de membranas. *Gac Med Mex* 1998;134(4):440-1.
2. Parry S, Strauss JF. Premature rupture of the fetal membranes. *N Engl J Med* 1998;338:663-70.
3. Matrisian L. Metalloproteinases and their inhibitors in matrix remodeling. *Trends Genet* 1990;6:131-5.
4. Vadillo-Ortega F, Hernández A, González-Ávila G, Bermejo L, Iwata K, Strauss JF. Increased matrix metalloproteinase activity and reduced tissue inhibitor of metalloproteinases-1 levels in amniotic fluids from pregnancies complicated by premature rupture of membranes. *Am J Obstet Gynecol* 1996;174:1371-6.
5. Estrada-Gutiérrez G, Vadillo-Ortega F, Jiménez MA, Beltrán J, Giono S. Caracterización bioquímica y ultraestructural del efecto de la interleucina 1- β como mediador de degradación de tejido conectivo en membranas corioamnióticas humanas en cultivo. *Ginecol Obstet Mex* 2002;70:190-5.
6. Arechavaleta-Velasco F, Ogando D, Parry S, Vadillo-Ortega F. Production of matrix metalloproteinase-9 in lipopolysaccharide-stimulated human amnion occurs through an autocrine and paracrine proinflammatory cytokine-dependent system. *Biol Reprod* 2002;67:1952-8.
7. Menon R, Swan KF, Lyden TW, Rote NS, Fortunato SJ. Expression of inflammatory cytokines (interleukin-1 beta and interleukin-6) in amniochorionic membranes. *Am J Obstet Gynecol* 1995;172:493-500.

8. Keelan JA, Marvin KW, Sato TA, Cloeman M, McCowan LM, Mitchell MD. Cytokine abundance in placental tissues: evidence of inflammatory activation in gestational membranes with term and preterm parturition. *Am J Obstet Gynecol* 1999;181(6): 1530-6.
9. Vadillo-Ortega F, González-Ávila G, Furth EE, et al. 92 kD type IV collagenase (matrix metalloproteinase-9) activity in human amniochorion increases with labor. *Am J Pathol* 1995;146(1):148-56.
10. Osman I, Young A, Ledingham MA, 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.
11. Thomson AJ, Telfer JF, Young A, et al. Leukocytes infiltrate the myometrium during human parturition: further evidence that labour is an inflammatory process. *Hum Reprod* 1999;14(1):229-36.
12. Winkler M, Fischer DC, Ruck P, Marx T, et al. Parturition at term: parallel increases in interleukin-8 and proteinase concentrations and neutrophil count in the lower uterine segment. *Hum Reprod* 1999;14(4):1096-100.
13. Mitchell MD, Trautman MS, Dudley DJ. Cytokine networking in the placenta. *Placenta* 1993;14:249-75.
14. Peltier MR. Immunology of term and preterm labor. *Reprod Biol Endocrinol* 2003;1(1):122.
15. Bulmer JN, Sunderland CA. Immunohistological characterization of lymphoid cell populations in the early human placental bed. *Immunology* 1984;52(2):349-57.
16. Bockstrom H, Brannstrom M, Alexandersson M, Norstrom A. Leukocyte subpopulations in the human uterine cervical stroma at early and term pregnancy. *Hum Reprod* 1997;12(3):586-90.
17. Young A, Thomson AJ, Ledingham M, Jordan F, Greer IA, Norman JE. Immunolocalization of proinflammatory cytokines in myometrium, cervix, and fetal membranes during human parturition at term. *Biol Reprod* 2002;66(2):445-9.
18. Reference range for lymphocyte subsets of healthy adults. Beckton Dickinson, 2003.

El *opio* y sus *derivados*, el laudano en enemas, la morfina en inyecciones subcutáneas a la dosis de un centigramo por centímetro cúbico hacen desaparecer la contracción y al mismo tiempo el dolor. He obtenido resultados muy manifiestos de detención del parto, en casos de amenazas de parto prematuro, por la asociación de la morfina y atropina: un miligramo de sulfato neutro de atropina y dos centigramos de morfina, en inyección subcutánea, renovada diariamente.

Reproducido de: Fabre. Manual de obstetricia. Barcelona: Salvat Editores, 1941; p:124.

Efecto *in vivo* de las secreciones del endometrio y del cuello uterino humano en el espermatozoide[‡]

Martha Merino Ruiz,* Hilda Magdalena Luna Aranda,* Rogelio García Flores,* Oscar Vidal Gutiérrez,* Felipe Arturo Morales Martínez,* Luis Sordia Hernández,* Donato Saldívar Rodríguez,* Juana Vázquez Méndez**

RESUMEN

Objetivo: demostrar el estadio de capacitación alcanzado por el espermatozoide después del contacto *in vivo* con el endometrio y el canal cervical.

Tipo de estudio: experimental, prospectivo y longitudinal.

Materiales y métodos: se procesaron los espermatozoides obtenidos del cuello uterino y del endometrio, así como del semen postcapitación, a 1 y 4 horas, de parejas con fertilidad comprobada a fin de evaluar su motilidad, morfología y vitalidad. Asimismo, se identificaron los patrones morfológicos con clorotetraciclina y bajo la reacción acrosomal inducida con ionóforo A23187.

Resultados: se describió una técnica segura, rápida e inocua para obtener secreción del endometrio. Los espermatozoides capacitados *in vitro* e *in vivo* tuvieron estadios de capacitación específicos al aplicar los patrones descritos por Perry con la prueba de la clorotetraciclina. Los espermatozoides capacitados *in vitro* y recuperados del cérvix respondieron de manera favorable a la inducción de la reacción acrosomal con ionóforo de calcio A23187, a diferencia de los obtenidos del lavado endometrial.

Conclusiones: los espermatozoides recuperados del endometrio tienen un estado de capacitación más avanzado que los obtenidos del cuello uterino y postcapitación, lo cual se demuestra al inducir la reacción acrosomal y al aplicar la prueba de la clorotetraciclina. Estos hallazgos sugieren que los tejidos endometrial y cervical humanos promueven la capacitación de espermatozoides, los cuales son diferentes en cada uno de ellos y progresivos en su ruta biológica.

Palabras clave: espermatozoide humano, cuello uterino, endometrio, reacción acrosomal, clorotetraciclina, ionóforo A23187.

ABSTRACT

Objective: To demonstrate the capacitance stages acquired by the spermatozoa after the *in vivo* contact with the endometrium and the human cervical canal.

Study type: Experimental, prospective, and longitudinal.

Materials and methods: Spermatozoa obtained from the cervix and endometrium, plus post-capacitated semen in a 1 and 4 hours process, from couples that have proved fertility, were processed to evaluate motility, morphology, vitality and identification of morphological patterns with chlortetracycline and then inducted to acrosomal reaction with ionophore A23187.

Results: A safe, fast and harmless technique to obtain endometrial secretions is described. The spermatozoa capacitated *in vitro* and *in vivo* developed specific capacitance stages, applying Perry's patterns with the CTC test. Spermatozoa capacitated *in vitro* and then recovered in the cervix responded favorably to the induction of the acrosomal reaction with calcium ionophore A23187, differing from the obtained with endometrium wash.

Conclusions: The spermatozoa recovered from the endometrium presented a more advanced capacitance stage than that obtained from the cervix, this is demonstrated with the induction of the acrosomal reaction and the CTC test. These findings suggest that endometrial and cervical tissues promote capacitance, different in each one of them and progressive in their biological route.

Key words: human spermatozoa, cervix, endometrium, acrosomal reaction, chlortetracycline, ionophore A23187.

SOMMAIRE

Objectif : démontrer le stade de capacitation atteint par le spermatozoïde après le contact *in vivo* avec l'endomètre et le canal cervical humains.

Type d'étude : expérimentale, prospective et longitudinale.

Matériel et méthodes : on a traité les spermatozoïdes obtenus du col utérin et de l'endomètre, ainsi que du sperme post-capacitation, à 1 et 4 heures, de couples de fertilité prouvée afin d'évaluer leur motilité, morphologie et vitalité. De même, on a identifié les patrons morphologiques avec chlorotétracycline et sous la réaction acrosomale induite avec ionophore A23187.

Résultats : on a décrit une technique sûre, rapide et inoffensive pour obtenir sécrétion de l'endomètre. Les spermatozoïdes capacités



in vitro et *in vivo* ont eu des stades de capacitation spécifiques au moment d'appliquer les patrons décrits par Perry avec le test de la chlorotétracycline. Les spermatozoïdes capacités *in vitro* et récupérés du col utérin ont répondu favorablement à l'induction de la réaction acrosomale avec ionophore de calcium A23187, à la différence des obtenus du lavage endométrial.

Conclusions : les spermatozoïdes récupérés de l'endomètre possèdent un stade de capacitation plus avancé que ceux obtenus du col utérin et post-capacitation, ce qui se démontre lors de l'induction de la réaction acrosomale et de l'application du test de la chlorotétracycline. Ces découvertes suggèrent que les tissus endométrial et cervical humains promeuvent la capacitation de spermatozoïdes, lesquels sont différents dans chacun d'eux et progressifs dans leur route biologique.

Mots-clé : spermatozoïde humain, col utérin, endomètre, réaction acrosomale, chlorotétracycline, ionophore A23187.

El estudio de los procesos fisiológicos implicados en la reproducción se ve favorecido por el desarrollo científico y tecnológico, lo que amplía el entendimiento de la fertilidad humana. La fertilización es un complejo proceso de comunicación intercelular que requiere la activación de mecanismos morfofisiológicos en los gametos masculino y femenino, mediados por interacciones celulares y del microambiente.

Después de abandonar los túbulos seminíferos, el espermatozoide debe alcanzar la madurez requerida para lograr la fertilización¹ y experimentar una serie de fenómenos descritos como capacitación espermática.²⁻⁷

El concepto actual de capacitación se describe como un proceso de activación que propicia el desarrollo del potencial de fertilización, el cual se desencadena por la interacción de espermatozoides móviles con el aparato reproductor femenino o, bien, con medios de cultivo apropiados que inducen cambios en la membrana plasmática y que se relacionan, sobre todo, con la hiperactivación de la motilidad y la capacidad de inducir la reacción acrosomal requerida para lograr la fertilización.⁸⁻¹²

Después de la capacitación, el espermatozoide está preparado bioquímica y morfológicamente para sufrir un fenómeno de exocitosis denominado reacción acrosomal, el cual se inicia cuando el espermatozoide

tiene contacto con la zona pelúcida del ovocito.¹³⁻¹⁵ Este proceso puede inducirse *in vitro* por fluido folicular y por sustancias, como el ionóforo de calcio A23187, que se utilizan en pruebas que evalúan la función espermática y en las que su efecto en la célula refleja la capacidad de inducir la reacción acrosomal.¹⁶⁻²⁴ Esta última genera liberación enzimática y cambios en la membrana acrosomal interna que permiten la penetración y fusión con el oolema.

La función espermática puede evaluarse mediante una variedad de pruebas basadas en los cambios morfológicos que sufre el espermatozoide durante la capacitación *in vitro*²⁵⁻²⁷ e *in vivo*.²⁸⁻²⁹ La mayor parte de esas pruebas, además de no representar los sucesos fisiológicos de manera adecuada, son poco prácticas para su aplicación en el laboratorio, ya que consumen mucho tiempo.

La prueba de la clorotetraciclina es una técnica simple y rápida que algunos investigadores han adoptado para detectar la capacitación y la reacción acrosomal de los espermatozoides en algunas especies animales y en el hombre.^{30,31} Para su evaluación, se describieron diferentes patrones de fluorescencia según el estado de capacitación espermática en que se encuentren.³²⁻³³

La mayor parte de los estudios que demuestran la activación del proceso de capacitación se han realizado *in vitro* y en animales de experimentación; muy pocos refieren experimentos en humanos, como el de Yao y colaboradores. Al estudiar los efectos del cocultivo de espermatozoides-células de oviducto humano y los del medio resultante del cultivo de estas últimas en la función espermática, se sugiere que el oviducto puede actuar como un reservorio para el espermatozoide humano.³⁴

En la bibliografía no existen referencias que confirmen los efectos que el aparato reproductor femenino humano ejerce *in vivo* en las modificaciones de la membrana plasmática del espermatozoide para su activación.

‡ Este trabajo obtuvo el segundo lugar de investigación básica en el 55 Congreso Mexicano de Ginecología y Obstetricia.

* Médicos adscritos al Departamento de ginecología y obstetricia.

** Centro Universitario de Medicina Reproductiva, Departamento de ginecología y obstetricia.

Hospital Universitario, Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, NL.

Correspondencia: MC Martha Merino Ruiz. Jardines de Babilonia 3745, col. Jardín de las Mitras, Monterrey, NL, CP 64300. E-mail: merino_ruiz@yahoo.com.mx

La versión completa de este artículo también está disponible en internet: www.revistasmedicasmexicanas.com.mx

OBJETIVO

Demostrar el estadio de capacitación alcanzado por el espermatozoide después del contacto *in vivo* con el endometrio y el canal cervical.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se estudiaron once parejas que acudieron a la clínica de infertilidad a solicitar reversión de la salpingoclasia; las mujeres tenían entre 25 y 35 años de edad y maternidad probada. La capacidad fértil actual se comprobó con la evaluación de la normalidad del factor ovárico, corroborada mediante la medición de la progesterona sérica normal en la fase lútea del ciclo; el factor endometrial se demostró mediante un patrón menstrual adecuado y una cavidad endometrial normal por ultrasonografía vaginal; el factor cervical se corroboró con la evaluación macro y microscópica del moco cervical y con una prueba postcoito adecuada. Asimismo, tenían que estar exentas de cualquier enfermedad ginecológica, sistémica o viral por lo menos seis meses antes de la investigación.

Se instruyó a las pacientes para que, en etapa preovulatoria, acudieran al consultorio después de cuatro horas de haber tenido relaciones sexuales. Se les colocó en posición ginecológica y se les puso un espejo vaginal, con lo que se visualizó el cuello uterino. Posteriormente, se introdujo una cánula de inseminación con una jeringa adaptada para aspirar la mayor cantidad posible de moco cervical. Después se procedió de inmediato a la obtención de la muestra de secreción endometrial. Ésta se realizó al introducir, por el canal cervical, otra cánula conectada a una jeringa que contenía solución salina amortiguadora de fosfatos, con la que se irrigó el útero, procediendo posteriormente a su recuperación.

Las muestras de moco cervical se evaluaron según los criterios de la OMS,³⁵ lo que permitió clasificar como moco favorable (MF) al que obtuviera 11 puntos o más y como desfavorable (MD) al cual su puntaje no sobrepasara los 10 puntos. El resto de la muestra se depositó en un tubo de ensayo que contenía solución salina amortiguadora de fosfatos, se agitó suavemente por inversión y se incubó entre 15 y 30 minutos, a 37°C. Después de ese tiempo se separaron las fases, se tomó

una alícuota de la fase superior y se revisó para identificar los espermatozoides mediante una preparación en fresco observada a 400 x.

El volumen del medio de cultivo que se obtuvo de la recuperación del endometrio se depositó en un tubo que contenía solución salina amortiguadora de fosfatos y se incubó durante 15 minutos, a 37°C. Más tarde se revisó al microscopio, a 400 x, para la identificación de espermatozoides.

También se incluyó a las parejas de las pacientes que tenían parámetros seminales normales y en dos ocasiones se colectaron muestras de semen, con diferencia de dos semanas. Estas últimas se colectaron y evaluaron de acuerdo con los criterios de la OMS.³⁵

A la par del espermograma, las muestras de semen se procesaron para capacitación *in vitro*, seguida de una modificación de la técnica de *swim-up* descrita por Yanagimachi.²⁰

Para este procedimiento, el semen licuado se dividió en dos fracciones que se depositaron en el fondo de dos tubos estériles de poliestireno, de fondo redondo; cada uno contenía 2.0 mL de medio de cultivo (solución balanceada de Earle y suplementada con 0.3% de albúmina de suero humano). Los tubos se incubaron durante 1 hora, a 37°C. Después de la incubación, el sobrenadante de ambos tubos se retiró con cuidado y se reunieron en un tercer tubo. La muestra continuó en incubación durante tres horas más.

Se tomaron tres alícuotas de cada suspensión (cuello uterino, endometrio y capacitación de 1 y 4 horas), una para evaluar motilidad, vitalidad, morfología y concentración espermática; la otra se procesó para la prueba con clorotetraciclina y la tercera se usó para inducir la reacción acrosomal con ionóforo A23187.

La segunda muestra de semen, colectada dos semanas después, se procesó de igual manera sólo para confirmar la fertilidad masculina.

La técnica de CTC, la evaluación morfológica de la membrana plasmática del espermatozoide y la inducción de reacción acrosomal con ionóforo de calcio A23187 se ha descrito previamente.³⁶

La prueba de inducción de la reacción acrosomal estímulo-inducida se consideró como control interno, con el fin de tener una referencia morfológica para comparar las reacciones *in vivo* de los espermatozoides.

Cuadro 1. Características del semen y moco cervical

	Volumen mL	Cuenta espermática x 10 ⁵ /mL	Motilidad %	Vitalidad %	Morfología %
Semen N = 8	3.16 (1.9-4.8)	129.8 (65-217)	31.6 (9-54)	83.4 (75-88)	60.4 (43-73)
Moco cervical N = 8	Tipo de moco Favorable	Cuenta espermática x 10 ⁶ /vol. de moco 1.3 (0.1-4.48)		Cuenta espermática x 10 ⁶ /vol. <i>swim-up</i> 0.36 (0.0008-0.6)	

Cuadro 2. Motilidad, vitalidad y morfología espermáticas

	% de espermatozoides capacitados <i>in vitro</i>		% de espermatozoides capacitados <i>in vivo</i>	
	1 hora	4 horas	Cuello uterino	Endometrio
Motilidad	72.8 (51-97)	57.8 (11-90)	3 (14-47)	55.5 (30-82)
Vitalidad	92.4 (82-98)	90.4 (75-100)	85.4 (75.95)	86.6 (62.96)
Morfología	77.0 (71-82)	80.2 (68-93)	81.7 (73-92)	95 (94-96)

Los valores corresponden a las medias para cada variable con los rangos entre paréntesis.

Análisis estadístico

El análisis de variancias se aplicó entre las diversas variables estudiadas (patrón morfológico con clorotetraciclina, respuesta a la reacción acrosomal con A23187, así como motilidad, morfología y vitalidad espermática) y en cada una de las distintas fuentes de espermatozoides.

RESULTADOS

De las once parejas examinadas con fertilidad comprobada, se incluyeron ocho por tener características que permitieron obtener la recuperación espermática adecuada para su evaluación posterior.

Las variables de volumen, cuenta, vitalidad y morfología espermática en las muestras de semen se encontraron entre los rangos de normalidad que describe la OMS³⁵ (cuadro 1).

El 100% de las muestras de moco cervical tuvo características favorables. Aunado a la buena calidad del semen, se obtuvieron cuentas espermáticas adecuadas para aplicar las pruebas posteriores. La cuenta espermática en *swim-up* se refiere a las cuentas obtenidas después de exponer las muestras de moco al proceso de recuperación con solución salina amortiguadora de fosfatos (cuadro 1).

Del lavado endometrial se recuperó un volumen promedio de 0.38 mL, con rango de 0.3 - 0.5 y cuenta de

900 - 2,000 espermatozoides (media = 1,200). Debido al reducido número de espermatozoides observados en la muestra directa, se aplicó la concentración como método de recuperación, hasta dejar un volumen de 0.2 mL, el cual fue suficiente para obtener cuentas espermáticas que permitieron realizar el resto de los procedimientos.

En el cuadro 2 se observan las características de las muestras de semen en las parejas de fertilidad comprobada, así como su reacción al proceso de capacitación *in vitro*. De acuerdo con los resultados, todas las muestras reaccionaron al tratamiento al incrementar la motilidad, vitalidad y morfología espermática, en relación con los valores observados 30 minutos después de que éstas se colectaron.

Después de aplicar las técnicas de capacitación espermática en semen y las de recuperación de espermatozoides en el cuello uterino y el endometrio, se prosiguió a evaluar la membrana plasmática de los espermatozoides. Para ello, las células recuperadas se trataron con la prueba de la clorotetraciclina y se aplicaron los patrones de Perry, quien describió al espermatozoide no capacitado con los patrones EF, EDP, DP, ECP y LDP; el patrón CP se usó como marcador de capacitación y los patrones LCP y RA para identificar al acrosoma reactivo. En la figura 1 se muestran los resultados.

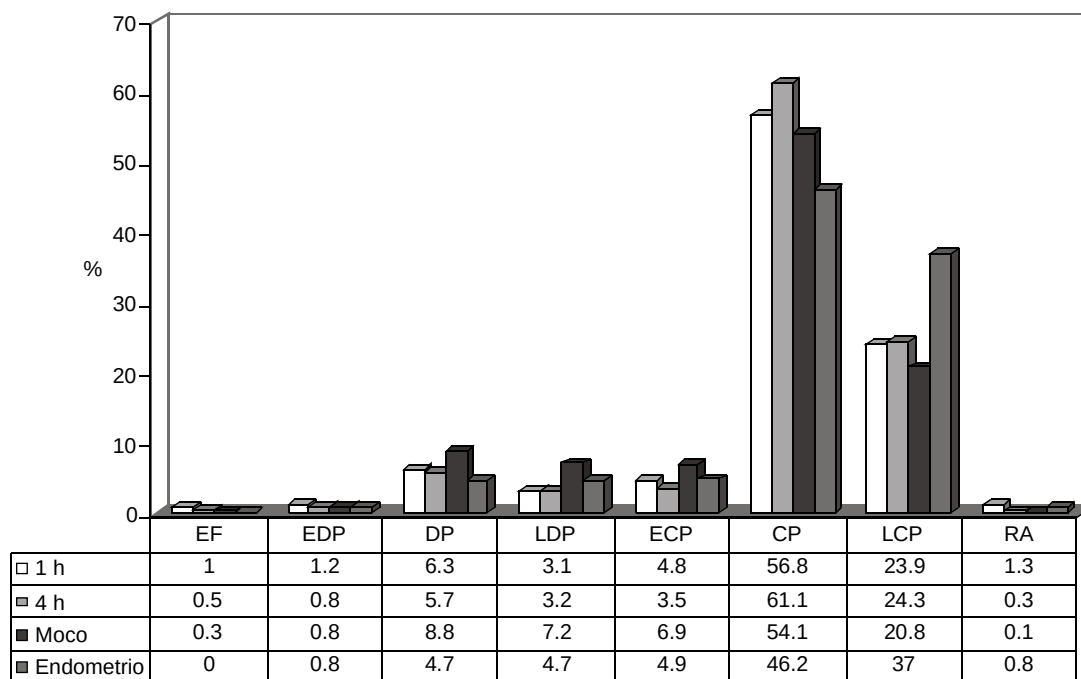
Los resultados en semen indicaron una disminución para los patrones de no capacitación EF, EDP, DP y

Cuadro 3. Reacción acrosomal espontánea (RAE) e inducida (RAI) en semen capacitado a 1 y 4 horas y en cérvix y endometrio

	1 h*	4 h*	Cérvix*	Endometrio
RAE	25.2 ± 4.1	24.7 ± 2.8	20.9 ± 0.8**	37.8 ± 5.7**
RAI	30.6 ± 2.1	29.3 ± 1.6	27.7 ± 4.4**	38.2 ± 1.6**

* p < 0.05.

** p < 0.001.

**Figura 1.** Patrones de la clorotetraciclina en espermatozoides capacitados *in vitro* e *in vivo* de parejas con fertilidad comprobada. Los valores corresponden a la media en porcentaje de cada patrón en semen capacitado y en secreciones de moco y endometrio de ocho varones y sus parejas.

ECP a las cuatro horas de incubación y el patrón LDP prácticamente no cambió. En ese mismo tiempo pudo apreciarse el aumento significativo en el patrón de capacitación CP, de 56.8 a 61.1% ($p < 0.01$). El patrón LCP se mantuvo casi igual en los dos tiempos de incubación (23.9 y 24.3% a 1 y 4 horas, respectivamente); mientras que la reacción acrosomal mostró disminución, aunque no significativa (de 1.3 a 0.3%).

Por lo que se refiere a los especímenes recuperados del aparato reproductor femenino, lo más relevante fue la menor frecuencia en el patrón CP que se observó en las muestras del endometrio, con respecto a la obtenida en el cuello uterino (46.2 y 54.1%, respectivamente, $p < 0.02$); así como la frecuencia significativamente alta para el patrón LCP en el endometrio, indicativo de

reacción acrosomal (20.8 vs 37.0%, $p < 0.002$). En las muestras del endometrio, los patrones de no capacitación (EF, EDP, DP, LDP y ECP) tuvieron bajos porcentajes, en comparación con los del cuello uterino, aunque la única disminución significativa fue para el patrón DP.

La reacción acrosomal espontánea e inducida con A23187 se evaluó en los espermatozoides capacitados *in vitro* y en los recuperados del aparato reproductor femenino (cuadro 3).

Los resultados señalan la reacción favorable al inductor A23187 en el semen capacitado (1 y 4 horas) y en las células recuperadas del cuello uterino, misma que no logró demostrarse en el endometrio. Cuando se compararon sólo las reacciones acrosomales espon-

táneas en las células obtenidas del cuello uterino y del endometrio, así como las reacciones acrosomales inducidas, se demostraron diferencias significativas ($p < 0.05$), lo cual no sucedió al comparar de la misma forma los dos tiempos de incubación. Dichas diferencias pueden explicarse con base en la distinta acción del aparato reproductor femenino en el metabolismo del espermatozoide.

Los valores de motilidad, vitalidad y morfología espermática en semen capacitado *in vitro*, en moco cervical y en endometrio se resumen en el cuadro 2. De acuerdo con los resultados, la motilidad y morfología espermática tuvieron diferencias significativas al comparar sus valores en el semen capacitado de 1 a 4 horas; se observó disminución en la motilidad e incremento en la morfología. La motilidad aumentó en las muestras del endometrio, respecto a las del cuello uterino ($p < 0.05$). El resto de los parámetros no sufrió modificación significativa.

DISCUSIÓN

En este estudio se realizaron pruebas que lograron evaluar el estado morfofisiológico del espermatozoide bajo el proceso de capacitación *in vitro* e *in vivo*, con la finalidad de demostrar y comparar la capacitación de los tejidos cervical y endometrial en el humano.

Al revisar la bibliografía, se encontró poca información acerca de la recuperación de los espermatozoides del aparato reproductor femenino, como es el caso de Gould y colaboradores (1984). Ellos describen una técnica de recuperación que no se da en condiciones naturales, ya que después de obtenido el moco, éste se incubaba hasta por una hora en atmósfera de 5% de CO_2 y después se hidrata en medio BWW, además de sufrir el efecto mecánico por centrifugación.³⁷ Algunos autores, como Lamber, utilizan solución salina amortiguadora de fosfatos como medio de recuperación, pero no mencionan el número de muestras estudiadas. Sin embargo, sugieren que el moco permite un estado avanzado de capacitación y que los efectos difieren *in vivo* e *in vitro*.²⁸

En este estudio las cuentas espermáticas recuperadas en el moco cervical oscilaron entre 8×10^4 y $0.6 \times 10^6 / 1.5 \text{ mL}$ de medio de recuperación. Aunque dichas cuentas parecen ser bajas, son comparables con

las reportadas por otros autores^{28,37} y pueden tomarse como referencia para considerar una muestra susceptible de evaluación morfofisiológica de la capacitación espermática, al aplicar pruebas como la de la clorotetraciclina. El porcentaje de muestras de moco cervical con recuperación espermática adecuada que se logró incluir fue del 100%, lo cual sobrepasó, por mucho, el 10% reportado por Overstreet y Gould. Sin embargo, ellos obtuvieron las muestras de dicho moco después de la inseminación artificial y las aplicaron para pruebas de penetración.^{22,37}

La recuperación espermática de la secreción del endometrio no se ha documentado para aplicar pruebas específicas de función espermática, sólo existe la referencia de una prueba de aspiración uterina como complemento de la prueba postcoito, donde el aspirado sólo se revisa sobre un portaobjetos para observar el número y movilidad de los espermatozoides.³⁸ La técnica de recuperación de espermatozoides del endometrio que se realizó en este estudio demostró su eficacia al lograr recuperar estas células con un tiempo postirrigación menor a un minuto y sin aplicar vacío para su captura. Por ende, fue posible obtener cuentas espermáticas adecuadas que permitieron demostrar en las células el estadio de capacitación y de reacción acrosomal alcanzado.

En este trabajo fue relevante la ejecución de una técnica para obtener fluido del endometrio, que fuera rápida, causara mínima molestia a la paciente y permitiera recuperar espermatozoides en condiciones adecuadas a fin de realizarles pruebas específicas. Se han publicado informes del efecto del fluido folicular³⁹ en la motilidad, de la fusión de prostasomas para estimular la reacción acrosomal⁴⁰ y de una nueva forma de evaluar el estado acrosomal.⁴¹ La bibliografía no describe métodos de recuperación espermática por aspirado de secreción endometrial que refieran su aplicación en pruebas funcionales. Sin embargo, los resultados de este estudio señalan la posibilidad de usar una técnica segura y útil que permita evaluar la función espermática en células obtenidas del endometrio. El éxito de la recuperación depende, además de una buena técnica, de un factor seminal (cuenta y motilidad), cervical y endometrial normales, lo que distingue a esta población de estudio.

El método de capacitación espermática que se utilizó logró mejorar la calidad del semen en todas las

muestras estudiadas y demostró *in vitro* el estado de fertilidad de los pacientes incluidos en esta parte del trabajo. La decisión de evaluar el semen a 1 y 4 horas de tratamiento de capacitación tuvo como propósito igualar el tiempo de contacto del esperma en el aparato femenino durante la prueba postcoito. También se buscó comparar los patrones de la prueba de la clorotetraciclina en espermatozoides capacitados *in vitro* en esos tiempos de incubación con los obtenidos *in vivo* (de cuello uterino y endometrio) y, de esa forma, determinar el estadio de capacitación desarrollado en las distintas condiciones.

La prueba de la clorotetraciclina se utiliza desde hace años para evaluar y demostrar el estado de capacitación espermática.³²⁻³³ Su aplicación, para evaluar los cambios en la membrana plasmática de los espermatozoides capacitados *in vitro* e *in vivo* en las parejas fértiles, arroja resultados interesantes. En el semen se detectó disminución de los patrones de no capacitación, cuyo comportamiento puede compararse con los reportes de Perry.³³ Los valores de estos mismos patrones, observados en el aparato femenino, también indican una tendencia a la disminución en el endometrio y no en el cuello uterino.

Al evaluar el marcador de capacitación en semen se encontró incremento significativo para el patrón CP a las cuatro horas (de 56.8 a 61.1%), mientras que el LCP no se modificó y la reacción acrosomal disminuyó, aunque sin significado estadístico. Perry³³ reporta la elevación de estos tres patrones a través del tiempo, lo que, de cierta forma, permite considerar que hay concordancia con los resultados de este estudio.

Al analizar los porcentajes obtenidos de este marcador en el aparato femenino, se encontró que el patrón CP, al contrario que en el semen, disminuyó significativamente en el endometrio, mientras que el LCP incrementó de manera considerable. Este comportamiento puede explicarse al deducir que el tejido endometrial induce la desaparición del estadio de capacitación CP e incrementa, a su vez, el LCP del acrosoma reactivo. Es probable que dichas diferencias las promuevan las distintas condiciones del microambiente con el que se encuentra en contacto el espermatozoide *in vitro* e *in vivo*, como pueden ser las diferentes concentraciones de nutrientes, moléculas y iones, lo que demuestra los diferentes efectos que

los dos tipos de tratamientos tienen en el espermatozoide.

En la evaluación de la respuesta al ionóforo A23187, los resultados de este estudio señalan detección de la respuesta al inductor en las muestras de semen en ambos tiempos de incubación y en el cuello uterino, reacción que no logró detectarse en las células obtenidas del endometrio. Kholkute³¹ y Lee³² describieron valores para la reacción acrosomal inducida en semen de 30 ± 7.2 y de 31.3 ± 4.5 , respectivamente. A pesar de que las condiciones de incubación no fueron las mismas, sus valores fueron comparables con los de este estudio.

No se han reportado trabajos donde se evalúe la reacción acrosomal en células obtenidas del aparato reproductor femenino, por lo que los hallazgos aquí obtenidos resultan una aportación importante que puede ampliar el conocimiento acerca de la fisiología de este tejido. Las diferencias encontradas entre las reacciones acrosomales espontáneas del cuello uterino y del endometrio, así como de las reacciones acrosomales inducidas sugieren que lo anterior se debe a los posibles cambios bioquímicos que promueven los distintos microambientes del aparato femenino en las células espermáticas. La falta aparente de respuesta de las muestras del lavado endometrial hacia el inductor artificial podría tener una explicación al considerar que este tejido puede inducir de manera espontánea una acción importante en el acrosoma del espermatozoide. Por tal motivo, los valores de la reacción acrosomal espontánea detectados mediante la prueba de la clorotetraciclina son más elevados que los observados en el semen capacitado *in vitro* y en el cuello uterino y no es posible incrementarlos más, a pesar de la presencia del ionóforo A23187. Es posible que el endometrio logre tener un estado tan avanzado de capacitación que alcance a desarrollar los valores de la reacción acrosomal que nunca antes se habían demostrado.

Las diferencias estadísticas encontradas para la motilidad, vitalidad y morfología espermáticas entre el semen capacitado a 1 y 4 horas aparentemente no se relacionan de manera directa con los cambios en los patrones de la clorotetraciclina en esos mismos tiempos de incubación, pues mientras los patrones de no capacitación disminuyen, el de capacitación (CP) aumenta sustancialmente. Sin embargo, las tres

variables se ven incrementadas en las muestras del endometrio, en relación con las del cuello uterino, lo cual sí se vincula con la desaparición del patrón de capacitación, la elevación del LCP y los valores altos de la reacción acrosomal inducida en el endometrio. Esto puede representar un posible estado más avanzado de capacitación inducido por ese tejido.

CONCLUSIONES

Puede concluirse que: a) la técnica descrita para obtener secreción del endometrio es segura, rápida e inocua, b) los espermatozoides capacitados *in vitro* e *in vivo* tienen estadios de capacitación específicos, c) los espermatozoides recuperados del endometrio tienen un estado de capacitación más avanzado que los obtenidos del cuello uterino, d) los estadios pueden demostrarse al aplicar la identificación morfológica con clorotetraciclina y la inducción de la reacción acrosomal con A23187.

Los hallazgos sugieren que los tejidos endometrial y cervical humanos promueven la capacitación de espermatozoides, los cuales son diferentes en cada uno de ellos y progresivos en su ruta biológica.

REFERENCIAS

- Sullivan R. Interaction between sperm and epididymal secretory proteins. In: Gagnon C, editor. The male gamete. Illinois: Cache River Press, 1999;pp:93.
- Yanagimachi R. Fertilization. In: *In vitro* fertilization and embryo transfer. London: Academic Press, 1983;pp:65.
- Austin CR. The capacitation of the mammalian sperm. Nature 1952;170:326-32.
- Chang MC. Fertilizing capacity of spermatozoa deposited in the fallopian tube. Nature 1981;168:697-8.
- Austin CR. Observations on the penetration of sperm into the mammalian egg. Aust J Sci Res 1951;B4:581-96.
- Zaneveld LJ, De Jonge CJ, Anderson RA, Mack SR. Human sperm capacitation and the acrosome reaction. Hum Reprod 1991;6(9):1265-74.
- Oliphant G, Eng LA. Collection of gametes laboratory animals and preparation of sperm for *in vitro* fertilization. In: Fertilization and embryonic development *in vitro*. New York: Plenum Press, 1981;pp:11.
- Speroff L, Glass RH, Kase N. Sperm and transport, fertilization and implantation. In: Clinical gynecologic endocrinology and infertility. 6th ed. Baltimore: Lippincott William & Wilkins, 1999;pp:247.
- Kopf G, Ping Ning X, Visconti P, Galantino Homer H. Signaling mechanisms controlling mammalian sperm fertilization competence and activation. In: The male gamete from basic science to clinical applications. Illinois: Cache River Press, 1999;pp:105.
- Chang MC. A detrimental effect of rabbit seminal plasma on the fertilizing capacity of sperm. Nature 1957;179:258-63.
- O'Rand MG. Changes in sperm surface properties correlated with capacitation. In: The spermatozoon. Baltimore-Munich: Urban & Scharzenberg, 1979;pp:195.
- De Lamirande E, Leclerc P, Gagnon C. Capacitation as regulatory event that primes spermatozoa for the acrosome reaction and fertilization. Mol Hum Reprod 1997;3(3):175-94.
- Yanagimachi R, Mahi CA. J Reprod Fertil 1976;46:49-53.
- Bedford JM. Sperm capacitation and fertilization in mammals. Biol Reprod 1970;2:128-58.
- Nagae T, Yanagimachi R, Srivastava P, Yanagimachi H. Acrosome reaction in human spermatozoa. Fertil Steril 1986;45:701-7.
- Edwards RG, Bavister BD, Steptoe PC. Early stages of fertilization *in vitro* of human oocytes matured *in vitro*. Nature 1969;221:632.
- Jamil K, White IG. Induction of acrosomal reaction in sperm with ionophore A23187 and calcium. Arch Androl 1981;7(4):283-92.
- Kopf GS, Visconti PE, Galantino-Homer H. Capacitation of the mammalian spermatozoon. Adv Develop Biochem 1998;5:83-107.
- Pawson T, Scott JD. Signaling through scaffold, anchoring, and adaptor proteins. Science 1997;278:1280-7.
- Yanagimachi R. *In vitro* capacitation of hamster spermatozoa by follicular fluid. J Reprod Fertil 1969;18:275-86.
- Cummins JM, Yanagimachi R. Gamete Res 1982;5:239.
- Overstreet JW, Cooper GW. J Reprod Fertil 1979;55:53.
- Fraser LR, Quinn PJ. J Reprod Fertil 1981;61:25.
- Arnoult C, Lemos JR, Florman HM. Voltage-dependent modulation of T-type calcium channels by protein tyrosine phosphorylation. EMBO J 1997;16:1593-9.
- Rogers BJ. Hamster egg: evaluation of human sperm using *in vitro* fertilization. In: *In vitro* fertilization and embryo transfer. London: Academic Press Inc. Ltd, 1983;pp:101.
- Talbot P, Chacon RS. A triple technique for evaluating normal reactions of human sperm. J Exp Zool 1981;215:201-8.
- Wolf DP, Boldt J, Byrd W, Bechtol KB. Acrosomal status evaluation in human ejaculated sperm with monoclonal antibodies. Biol Reprod 1985;32:1157-62.
- Lambert H, Overstreet JW, Morales P, Hanson FW, Yanagimachi R. Sperm capacitation in the human reproductive tract. Fertil Steril 1985;43(2):325-7.
- Fusi FM, Vigano P, Daverio R, Bausacca M, Vignali M. Effects of the coculture with human endometrial cells on the function of spermatozoa from subfertile men. Fertil Steril 1994;61(1):160-7.
- Saling PM, Storey BT. Mouse gamete interactions during fertilization *in vitro*. Chlortetracycline as a fluorescent probe for the mouse sperm acrosome reaction. J Cell Biol 1979;83(3):544-55.
- Kholkute SD, Meherji P, Puri CP. Capacitation and the reaction acrosome in sperm from men with various semen profiles monitored by a chlortetracycline fluorescence assay. Int J Androl 1992;15(1):45-53.
- Lee MA, Trucco GS, Bechtol KB, Kopf GS, Blasco L. Capacitation and acrosome reactions in human spermatozoa monitored by a chlortetracycline fluorescence assay. Fertil

- Steril 1987;48(4):649-58.
33. Perry RL, Naeeni M, Barratt ChLR, Warre MA, Cooke ID. A time course study of capacitation and the acrosome reaction in human spermatozoa using a revised chlortetracycline pattern classification. Fertil Steril 1995;64(1):150-9.
 34. Yao Y, Ho P, Yeung WS. Effects of human cell coculture on various functional parameters of human spermatozoa. Fertil Steril 1999;71(2):232-9.
 35. Organización Mundial de la Salud. Recolección y examen del semen humano. En: Manual de Laboratorio de la OMS para el examen del semen humano y de la interacción entre el semen y el moco cervical. 3ª ed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana, 1993;p:3.
 36. Merino M, Luna H, Morales A, Saldívar D, Vidal O. Respuesta acrosomal de espermatozoides humanos subfértiles demostrada con clorotetraciclina. Ginec Obstet Mex 2004;72:239-46.
 37. Gould JE, Overstreet JW. Assessment of human sperm function after recovery from the female reproductive tract. Biol Reprod 1984;31:888-94.
 38. Moghissi KS. Importancia del cuello uterino en la infecundidad. En: Clínicas Obstétricas Ginecológicas. Ed. Español Interamericana, 1979;1:27.
 39. Yao Y, Yeung WS. Effects of human follicular fluid on the capacitation and motility of human spermatozoa. Fertil Steril 2000;73(4):680-6.
 40. Palmerini CA, Saccardi C, Carlini E, Fabiani A, Arienti G. Fusion of prostasomes to human spermatozoa stimulates the acrosome reaction. Fertil Steril 2003;80:1181-4.
 41. Silvestroni L, Mantovani A, Palleschi S. The partial head descondensation test is a new, quick method to assess acrosome status in human spermatozoa. Fertil Steril 2004;81:1007-12.

El segmento, visto por dentro, está limitado *superiormente* por un reborde muscular que le separa del cuerpo; es el *anillo de Bandl*, llamado también *anillo de contracción* (Schroeder), *límite de la onda muscular* (Pinard).

Inferiormente está limitado por el orificio interno del cuello, que nosotros llamamos orificio obstétrico o mecánico.

¿Hasta dónde llega la mucosa cervical? El límite entre la mucosa cervical y la uterina es irregular y se encuentra un poco por encima del orificio obstétrico del cuello, lo que prueba que una porción del cuello entra a formar parte del segmento inferior.

Exteriormente, el **peritoneo** que recubre el segmento inferior tiene distintos caracteres que el que recubre el cuerpo uterino. En todo el cuerpo el peritoneo es adherente; en el segmento no lo es, pudiéndose desprender fácilmente; el límite superior de la zona desprendible representa el límite superior del segmento.

El segmento inferior se forma únicamente a expensas del cuerpo uterino, según se observa en la mayor parte de los casos; pero en algunas mujeres, una parte del segmento se forma a expensas del cuello; esto lo demuestra el hecho de que la mucosa cervical, en ellas, remonta 3 ó 4 centímetros por encima del orificio obstétrico del cuello, es decir, en el segmento.

Reproducido de: Fabre. Manual de obstetricia. Barcelona: Salvat Editores, 1941;p:129.

La interacción de los linfocitos coriodeciduals con los estreptococos del grupo B degrada el tejido conectivo del corioamnios[‡]

Guadalupe Estrada Gutiérrez,* Raquel Reyes Trejo,* Rolando Maida Claros,** Jorge Beltrán Montoya,***.****
Felipe Vadillo Ortega*

RESUMEN

Objetivo: identificar si los productos solubles de las células inmunológicas coriodeciduals inducen la degradación del tejido conectivo de las membranas corioamnióticas en respuesta a la infección por estreptococo del grupo B (EGB).

Tipo de estudio: experimental, analítico, longitudinal y prospectivo.

Material y métodos: se colectó sangre coriodecidual por drenado de los cotiledones de la placenta y se dividió en dos alícuotas: una se estimuló con 1×10^6 UFC/mL de EGB y la otra se mantuvo libre de bacterias. Después de incubar los plasmas durante 12 horas a 37°C, se separaron, filtraron y agregaron a cultivos de explantes de membranas corioamnióticas durante 12 horas, a 37°C, en 5% de CO₂. En los sobrenadantes se cuantificó MMP-9 por zimografía e IL-1 β y TNF- α por ELISA. En los explantes se observó la distribución de las fibras de colágena por microscopía electrónica. Se hicieron tres experimentos por triplicado y se analizaron con la prueba ANOVA.

Resultados: la producción de MMP-9, IL-1 β y TNF- α fue significativamente más alta en los sobrenadantes de los cocultivos con plasma coriodecidual cuando la sangre se incubó de manera previa con EGB, que en los plasmas control. Los explantes cocultivados con los plasmas infectados mostraron mayor degradación del tejido conectivo que los incubados con los plasmas control.

Conclusiones: el plasma coriodecidual que proviene de la sangre estimulada con EGB contiene señales bioquímicas que inducen la producción de MMP-9, IL-1 β y TNF- α por las membranas corioamnióticas. Los resultados sugieren que las células inmunológicas coriodeciduals son capaces de responder a la infección local por estreptococo del grupo B, lo que ocasiona la degradación de la matriz extracelular de las membranas corioamnióticas y favorece su rotura.

Palabras clave: explantes de membranas corioamnióticas, plasma, microambiente coriodecidual, estreptococo del grupo B, degradación de tejido conectivo.

ABSTRACT

Objective: To identify whether soluble products from choriodecidual blood cells stimulated with group B streptococci (GBS) induce connective tissue degradation in human amniochorion.

Material and methods: Blood samples from choriodecidual compartment were collected by direct aspiration from placental cotyledons draining blood and represent local circulating cells. Samples were divided into two aliquots: one was stimulated with GBS (1×10^6 CFU/mL) and the other was kept free of bacteria as negative control. After overnight incubation, plasmas were separated. Chorioamnion explants were stimulated with 10% plasma for 12h at 37°C in 5% CO₂. MMP-9 proteolytic activity was measured in the supernatants by gelatin-zymography and IL-1 β and TNF- α were quantified by ELISA. Distribution of the collagenous fibrils in explants was examined by electron microscopy. Statistical analysis: three independent experiments on duplicate were carried out and the statistical significance of experimental differences between groups was assessed with ANOVA test.

Results: MMP-9, IL-1 β and TNF- α production was significantly higher in supernatants from explants co-cultured with choriodecidual plasma from blood previously infected with GBS, compared with control plasma. Accompanying extensive changes of connective tissue arrangement confirm induction of extracellular matrix degradation.

Conclusions: Choriodecidual plasma from blood stimulated with GBS is enriched with biochemical signals that enhance the MMP-9, IL-1 β and TNF- α production by amniochorion. These findings suggest that local circulating cells are capable to act in response to GBS choriodecidual infection through extracellular matrix degradation and the consequent rupture of membranes.

Key words: amniochorion, plasma, choriodecidual compartment, group B streptococci, connective tissue degradation.

SOMMAIRE

Objectif : identifier si les produits solubles des cellules immunologiques chorio-déciduaux induisent la dégradation du tissu connectif des membranes chorio-amniotiques en réponse à l'infection par streptocoque du groupe B (EGB).

Type d'étude : expérimentale, analytique, longitudinale et prospective.



Matériel et méthodes : on a récolté du sang chorio-décidual par drainage des cotylédons du placenta et on l'a divisé en deux aliquotes : une s'est fait stimuler avec 1×10^6 UFC/mL de EGB et l'autre s'est gardée libre de bactéries. Après l'incubation des plasmas pendant 12 heures à 37°C, on les a séparés et filtrés et on les a ajoutés aux cultures d'explants de membranes chorio-amniotiques par 12 heures, à 37°C, en 5% de CO₂. On a quantifié dans les surnageants MMP-9 par zymographie et IL-1 β et TNF- α par ELISA. Dans les explants on a observé la distribution des fibres de collagène par microscopie électronique. On a réalisé trois expériences par triplicata et on les a analysées avec le test ANOVA.

Résultats : la production de MMP-9, IL-1 β et TNF- α a été significativement plus haute dans les surnageants des cocultures avec plasma chorio-décidual quand le sang s'est incubé préalablement avec EGB, que dans les plasmas contrôle. Les explants cocultivés avec les plasmas infectés ont montré une dégradation majeure du tissu connectif que ceux incubés avec les plasmas contrôle.

Conclusions : le plasma chorio-décidual qui vient du sang stimulé avec EGB contient des signaux biochimiques qui induisent la production de MMP-9, IL-1 β et TNF- α par les membranes chorio-amniotiques. Les résultats suggèrent que les cellules immunologiques chorio-déciduaux sont capables de répondre à l'infection locale par EGB, ce qui mène à la dégradation de la matrice extracellulaire des membranes chorio-amniotiques et favorise sa rupture.

Mots-clé : explants de membranes chorio-amniotiques, plasma, micro-ambiance chorio-déciduale, streptocoque du groupe B, dégradation du tissu connectif.

Del 10 al 12% de todos los partos que suceden en México son de pretérmino, responsables de al menos 70% de los casos de muerte neonatal y su tasa de mortalidad global oscila entre 25 y 50%, según los recursos con que se cuente para su atención.¹ Al no conocer a fondo las causas que lo desencadenan, las acciones se enfocan a la identificación de los factores de predisposición para intervenir de manera oportuna.

La enfermedad con que se le relaciona más a menudo es la rotura prematura de membranas, puesto que es la responsable del 30% de los partos pretérmino.¹ Uno de los factores de riesgo implicados en la aparición de la rotura prematura de membranas es la infección local por diferentes microorganismos, como *U. urealyticum* y estreptococo del grupo B, entre otros.^{2,3}

Es muy frecuente que en la mujer embarazada haya incremento del flujo transvaginal y secreción cervical como consecuencia de los cambios hormonales normales de la gestación, por lo que en ocasiones no se

sospecha la existencia de infección focal, lo que es común cuando no hay síntomas o no se explora a la paciente. Esto eleva el riesgo de complicaciones en la etapa perinatal, ya que la infección cervical puede progresar hasta convertirse en infección intraamniótica. El ascenso a través del canal del parto parece ser la vía más común de las bacterias para ingresar a la cavidad amniótica, pues los gérmenes encontrados en el líquido amniótico son los mismos que se encuentran en el conducto vaginal.^{3,4} Se considera que la llegada de los microorganismos o productos bacterianos al entorno de las membranas desencadena una respuesta primaria, la cual consiste en secreción de IL-1 β y TNF- α por neutrófilos y macrófagos. Éstos no sólo secretan otras células inmunológicas, sino que promueven a las células nativas del tejido al secretar otros compuestos que constituyen la segunda oleada de señales y efectores moleculares. Entre los compuestos que aparecen como parte de esta segunda oleada están las prostaglandinas, citocinas, como IL-6, IL-8, IL-10, cantidades adicionales de IL-1 β y TNF- α y metaloproteasas de matriz extracelular, en especial MMP-9.^{5,6}

La MMP-9 actúa en la colágena de tipo IV y V, así como en la elastina y fibronectina de las membranas corioamnióticas. Se le ha encontrado en el amnios, el corion y la decidua, por lo que se cree que es importante en los procesos de remodelación de la matriz extracelular de dichas estructuras.⁷ La elevación de la MMP-9 reduce la fuerza tensil de las membranas y se sabe que interviene en el fenómeno natural de rotura durante el trabajo de parto y en la rotura prematura de membranas.^{8,9} La MMP-9 también se encuentra

‡ Este trabajo obtuvo el tercer lugar de investigación básica en el 55 Congreso Mexicano de Ginecología y Obstetricia.

* Dirección de investigación.

** Unidad de cuidados inmediatos al recién nacido.

*** Departamento de tococirugía y urgencias.

Instituto Nacional de Perinatología, SSA.

**** Miembro federado.

Correspondencia: Dr. Felipe Vadillo Ortega. Instituto Nacional de Perinatología. Dirección de investigación. Montes Urales 800, Lomas Virreyes, México, DF, CP 11000. Tel.: 5202-9381. Fax: 55200034

E-mail: fvadillo@servidor.inper.edu.mx y felipe.vadillo@uia.mx

La versión completa de este artículo también está disponible en internet: www.revistasmedicasmexicanas.com.mx

aumentada en el líquido amniótico de pacientes con infección cervicovaginal, lo que la convierte, además de mediadora del proceso, en un marcador bioquímico con utilidad clínica para distinguir la presencia de infección intraamniótica y finalmente en un elemento de predicción de parto pretérmino o de rotura prematura de membranas.¹⁰

Los modelos de infección coriodecidual con primates muestran que el estreptococo del grupo B es capaz de inducir la síntesis local de IL-1 β , TNF- α y MMP-9,^{6,11} lo que se complementa con los experimentos de membranas corioamnióticas en cultivo que se estimulan con la misma bacteria y que responden al incrementar la síntesis, secreción y actividad de MMP-9.¹²

Se sugiere que la activación de las células de la respuesta inmunológica local, por efecto del estreptococo del grupo B, inicia un episodio de tipo inflamatorio que se distingue por la secreción de diversas citocinas, entre ellas IL-1 β y TNF- α . Estas citocinas, a su vez, son capaces de inducir la expresión de la MMP-9 en el corioamnios,^{13,14} cuya producción y activación se considera un episodio central para que ocurra la degradación de la matriz extracelular de las membranas corioamnióticas y, por ende, su rotura en condiciones fisiológicas o patológicas. Por lo anterior, este estudio se diseñó para identificar si las células inmunológicas circulantes en el microambiente que rodea a las membranas fetales son capaces de responder al estímulo infeccioso e inducir una respuesta que provoque la rotura de las mismas.

OBJETIVO

Identificar si los productos solubles de las células inmunológicas circulantes en el microambiente coriodecidual son capaces de inducir la degradación del tejido conectivo de las membranas corioamnióticas humanas, en respuesta a la infección por estreptococo del grupo B.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se diseñó un modelo *in vitro* para cocultivar explantes de membranas corioamnióticas con plasmas provenientes de sangre coriodecidual, estimulada o no con estreptococo del grupo B.

Procesamiento y cultivo de las membranas corioamnióticas

Se escogieron membranas corioamnióticas de mujeres con embarazo normal a término, sin ninguna enfermedad y sin infección, que se resolvió por cesárea en ausencia de trabajo de parto.

Los cultivos del tejido se hicieron de acuerdo con el procedimiento antes reportado.¹³ En el quirófano, y después de tomar muestras para su análisis microbiológico, se procedió a cortar las membranas fetales y transportarlas al laboratorio en medio DMEM con antibiótico-antimicótico al 1% (GIBCO-BRL). Las membranas se lavaron con solución salina fisiológica para eliminar los restos de sangre y, con ayuda de un sacabocados, se cortaron explantes de 1 cm de diámetro que se colocaron en placas de 24 pozos con 1 mL de DMEM suplementado con suero fetal bovino (10%), piruvato de sodio (1%) y antibiótico-antimicótico (1%) (GIBCO-BRL). Los cultivos se incubaron a 37°C, en 5% de CO₂, durante 48 horas. En ese tiempo se cambió el medio por 1 mL de DMEM, en el cual el suero fetal bovino se sustituyó por hidrolizado de lactoalbúmina (166.5 g/L). Después de la incubación de 24 horas, el sobrenadante se sustituyó por 900 mL de medio fresco y se procedió a la estimulación con plasmas.

Obtención de los productos solubles de las células inmunológicas coriodeciduals estimuladas con estreptococo del grupo B

Se tomaron muestras de sangre coriodecidual de mujeres con trabajo de parto espontáneo a término, sin ninguna enfermedad y sin infección. Se colectaron 15 mL de la sangre que drena de los cotiledones de la placenta, con lo que se obtuvo una población representativa de células circulantes en el microambiente coriodecidual. Las muestras se dividieron en tres alícuotas de 5 mL: una se utilizó para hacer un hemocultivo y asegurarse que la sangre no estuviera previamente infectada, se estimularon 5 mL con 1×10^6 UFC de EGB/mL de sangre y los otros 5 mL no se infectaron para utilizarse como control. Los tubos de sangre con y sin bacterias se incubaron durante 24 horas, a 37°C. Después de ese tiempo, se separaron los plasmas por centrifugación a 1,500 rpm durante 10 minutos; se filtraron a través de una membrana de 0.22

μ para eliminar las bacterias y se congelaron a -70°C hasta el momento de su uso.

Cocultivo explantes-plasma

Los explantes se estimularon al 10% con los diferentes plasmas. El cocultivo se hizo con 900 μL de medio más 100 μL del plasma correspondiente, en placas de 24 pozos y se incubaron durante 12 horas, a 37°C , en 5% de CO_2 . La concentración se eligió después de haber probado con 5, 10, 15 y 20% de plasma (datos no mostrados).

Una vez transcurrido el tiempo de incubación, se aspiraron los sobrenadantes para determinar la concentración de proteínas por el método de Bradford y cuantificar la actividad de la MMP-9 y la producción de IL-1 β y TNF- α por los explantes ante el estímulo con los plasmas. Los explantes se fijaron en 1 mL de glutaraldehído y se procesaron de acuerdo con la técnica estándar para observación de tejido animal por microscopía electrónica.

Actividad de MMP-9

La actividad de la MMP-9 se determinó mediante zimografía y se utilizaron geles de poliacrilamida al 8%, con gelatina porcina como sustrato de la enzima de acuerdo con la técnica ya descrita.⁸ Se usaron como controles los valores del sobrenadante de los explantes sin estimular y el de los plasmas de sangre infectada y sin infectar para determinar la cantidad real de la enzima producida por la estimulación plasma-explante.

Cuantificación de IL-1 β y TNF- α

La producción de ambas citocinas se determinó con ensayos de ELISA tipo emparejado, se usó un anticuerpo monoclonal de captura y otro policlonal biotinilado (R&D systems) y se siguieron las recomendaciones del fabricante. Se utilizaron los mismos controles que para la MMP-9.

Análisis estadístico

Se hicieron tres experimentos independientes por duplicado (tres membranas diferentes con tres plasmas diferentes). Los resultados obtenidos se expresaron como promedio $\pm$ desviación estándar y se compararon con la prueba de ANOVA. Se aceptó la $p = 0.05$ para establecer diferencias significativas entre grupos.

RESULTADOS

La zimografía para MMP-9 (figura 1) reveló que los explantes solos tuvieron una producción basal de ésta mucho menor en comparación con los controles de los plasmas, en los cuales se encontró aumento significativo de MMP-9 cuando la sangre se infectó con estreptococo del grupo B, en comparación con los controles sin infectar ($p = 0.01$). Asimismo, los explantes estimulados con el plasma de la sangre que fue previamente infectada con estreptococo del grupo B produjeron más enzimas que los que se estimularon con plasmas sin contacto previo con la bacteria ($p = 0.008$).

Los ensayos de ELISA para IL-1 β (figura 2) demostraron que los explantes solos producen trazas de esta citocina, mientras que en los controles de plasma se notó que a pesar de que no existe diferencia con significado estadístico en las cantidades de IL-1 β ($p = 0.11$) hay una tendencia a aumentar en los plasmas de la sangre infectada con estreptococo del grupo B, en comparación con los de la sangre sin infectar. Al comparar la concentración de IL-1 β en el sobrenadante de los explantes estimulados con los plasmas de las muestras de sangre que estuvieron o no en contacto con la bacteria, los resultados demostraron un incremento significativo en la producción de esta citocina cuando hubo infección por estreptococo del grupo B ($p = 0.009$).

El perfil de producción de TNF- α (figura 3) fue similar al de IL-1 β , aunque en este caso la diferencia entre los plasmas con y sin infectar sí fue significativa ($p = 0.034$), al igual que la de los cocultivos ($p = 0.029$). Tanto los plasmas solos como los cocultivos plasma-explante con y sin estreptococo del grupo B tuvieron dos veces más TNF- α que IL-1 β .

En la microscopía electrónica se observó que la distribución de las fibras de colágena en la capa compacta del amnios de los explantes incubados durante 24 horas sin estímulo es homogénea y que no tienen material amorfo entre ellas, por lo que se aprecian compactadas y con orientación definida (figura 4a). La red de bandas fibrosas se tornó laxa y los haces de colágena empezaron a separarse cuando la membrana se incubó con plasma de sangre sin infectar (figura 4b). Sin embargo, el mayor efecto se apreció cuando los

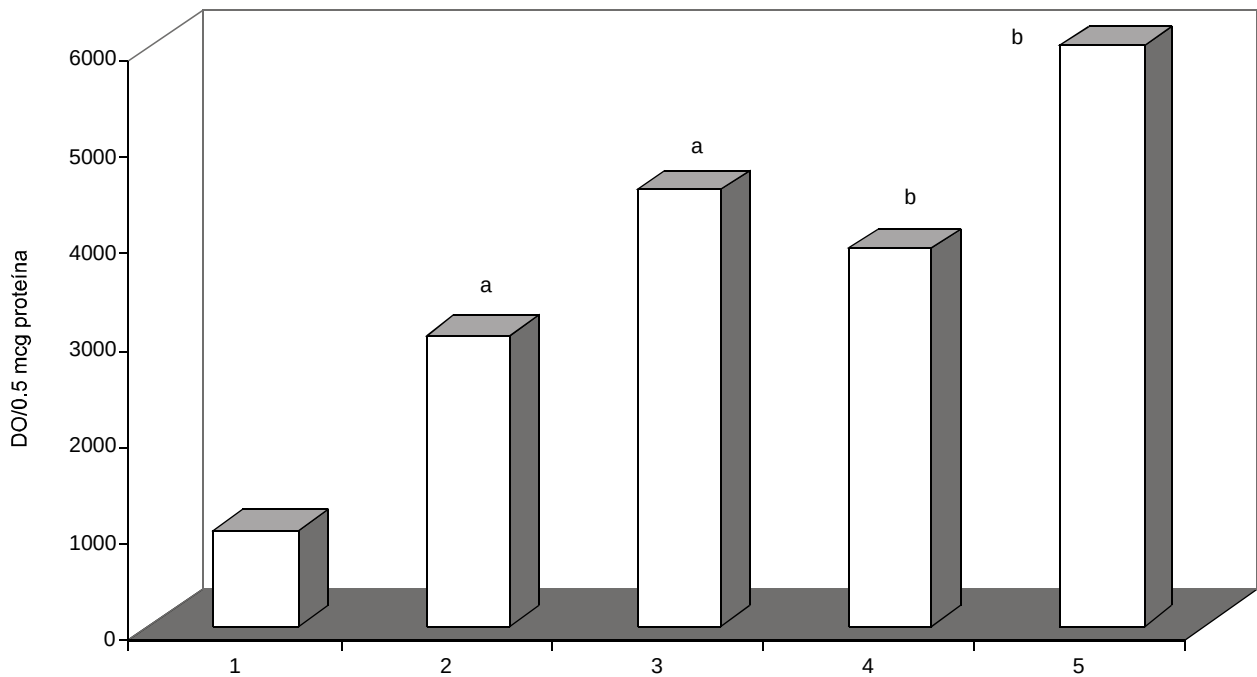


Figura 1. Actividad de MMP-9 por zimografía. La MMP-9 se visualiza como una banda clara de degradación de 92 kDa. Las barras expresan el valor de tres experimentos independientes por duplicado y se muestra un gel representativo: 1) explante solo, 2) plasma sin EGB, 3) plasma con EGB, 4) explante más plasma sin EGB y 5) explante más plasma con EGB. Las barras 4 y 5 tienen restados los valores de sus respectivos controles. Las diferencias significativas se muestran con las letras correspondientes: a) $p = 0.01$ y b) $p = 0.008$.

explantes se estimularon con el plasma coriodecidual que contenía productos de la infección por estreptococo del grupo B, en los que se encontró pérdida de las fibras de colágena con formación de material amorfo entre ellas (figura 4c).

DISCUSIÓN

En este trabajo se diseñó un modelo experimental *in vitro* para observar si se induce la degradación del tejido conectivo de las membranas corioamnióticas al estimularla con los productos solubles de las células inmunitarias que hay en la sangre coriodecidual infectada con estreptococo del grupo B. Las membranas utilizadas en este modelo fueron de mujeres sin trabajo de parto, lo que permitió trabajar con membranas en condiciones basales; es decir, que todavía no empezaran los mecanismos normales de degradación del tejido conectivo que se llevan a cabo durante el mismo, puesto que éste era el efecto final que se iba a medir. Por el contrario, las muestras de sangre que se

utilizaron para obtener los plasmas provenían de mujeres con trabajo de parto, debido a que se esperaba que las células circulantes en el ambiente coriodecidual ya estuvieran programadas para inducir la degradación normal del tejido del corioamnios y que ésta se viera incrementada ante el estímulo infeccioso.

Los resultados indican que el plasma de la sangre coriodecidual de mujeres con trabajo de parto contiene señales bioquímicas que inducen la producción de MMP-9 y de IL-1 β y TNF- α por el corioamnios. Sin embargo, la existencia de un agente infeccioso, como el estreptococo del grupo B, fue capaz de estimular una mayor producción de los tres marcadores por las células inmunitarias coriodeciduals, ya que sus concentraciones se encontraron aumentadas significativamente en los plasmas que se infectaron, en comparación con los controles sin infectar. Del mismo modo, la producción de los tres marcadores por los explantes se encontró incrementada cuando se incubaron con los plasmas que habían tenido contacto con el estreptococo del grupo B.

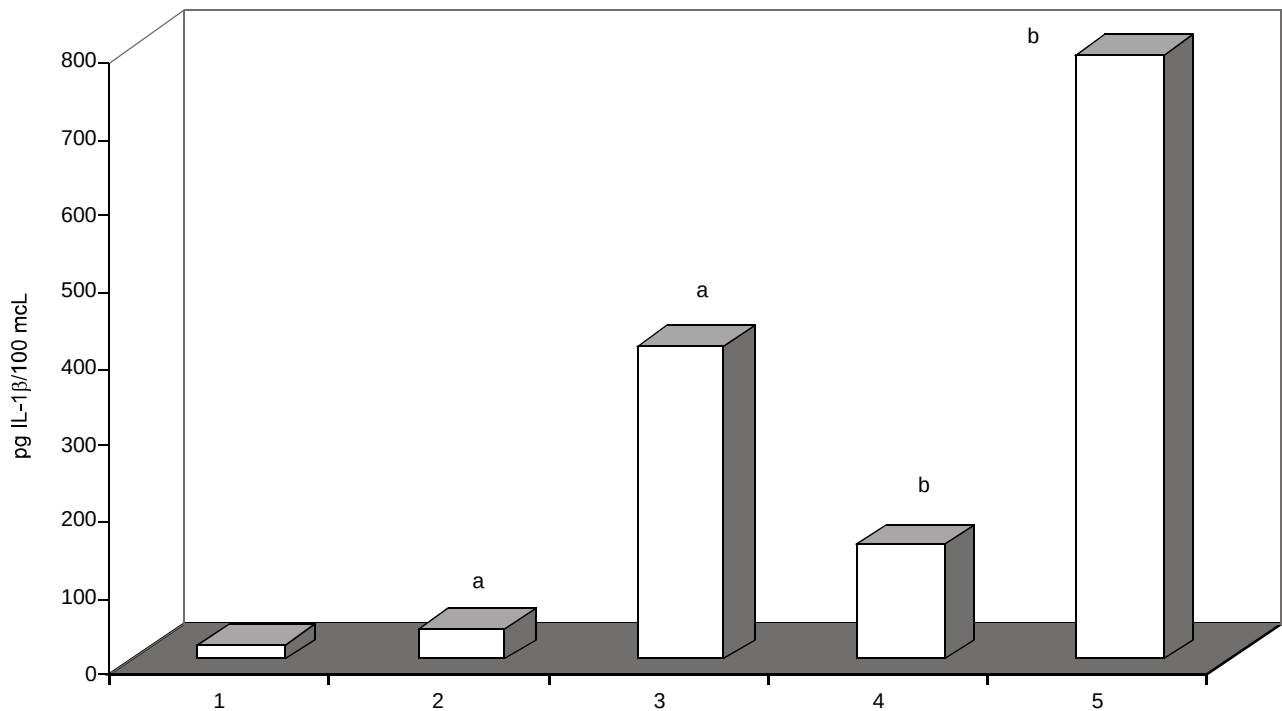


Figura 2. Cuantificación de IL-1 por ELISA. Las barras expresan el valor de tres experimentos independientes por duplicado: 1) explante solo, 2) plasma sin EGB, 3) plasma con EGB, 4) explante más plasma sin EGB y 5) explante más plasma con EGB. Las barras 4 y 5 tienen restados los valores de sus respectivos controles. Los valores de p se muestran con las letras correspondientes: a) $p = 0.11$ y b) $p = 0.009$.

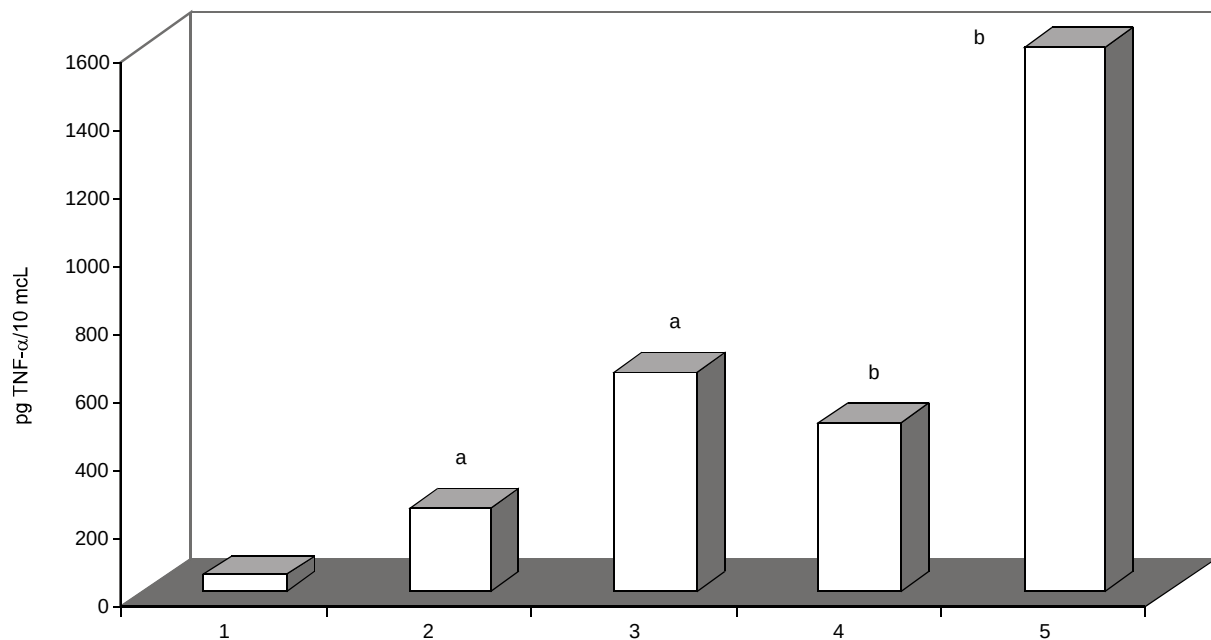


Figura 3. Cuantificación de TNF-α por ELISA. Las barras expresan el valor de tres experimentos independientes por duplicado: 1) explante solo, 2) plasma sin EGB, 3) plasma con EGB, 4) explante más plasma sin EGB y 5) explante más plasma con EGB. Las barras 4 y 5 tienen restados los valores de sus respectivos controles. Las diferencias significativas se muestran con las letras correspondientes: a) $p = 0.034$ y b) $p = 0.029$.

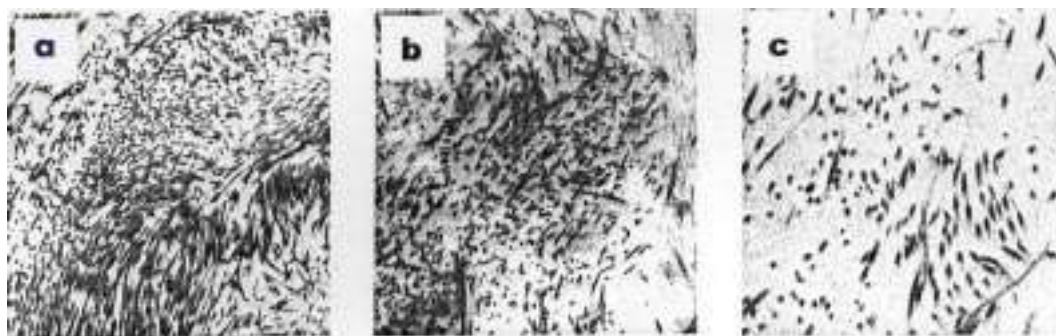


Figura 4. Microscopía electrónica de la capa compacta del amnios (12,000X). a) Control sin plasma, b) explante más plasma sin EGB y c) explante más plasma con EGB, todos después de 24 horas de incubación. Puede observarse cómo el plasma que proviene de la sangre coriodecidual infectada con EGB provocó pérdida de las fibras de colágena que dan la fuerza tensil a las membranas corioamnióticas.

La microscopía electrónica de la capa compacta del amnios demostró que al aumentar la producción de MMP-9, IL-1 β y TNF- α se incrementó la actividad colagenolítica, ya que al estar en contacto la membrana corioamniótica con el plasma de la sangre coriodecidual infectada con estreptococo del grupo B se evidenció mayor degradación del tejido conectivo del corioamnios, que se manifestó sobre todo por la pérdida de las fibras de colágena.

Los modelos utilizados en otros trabajos para estudiar la degradación del corioamnios bajo condiciones de infección estimulan de forma directa a los explantes con la bacteria o su medio, lo que sólo muestra la respuesta del tejido a la infección.^{2,15} La importancia del modelo expuesto en este trabajo es que demuestra que las células inmunológicas circulantes en la coriodecidual son capaces de mostrar una respuesta de degradación ante el estímulo infeccioso, lo que incrementa la destrucción del corioamnios. *In vivo*, lo anterior podría significar que la respuesta inmunológica a la infección es capaz de desencadenar en forma secundaria la rotura de las membranas fetales, por lo que es posible aceptar que los microorganismos en el entorno de las membranas fetales pueden inducir mecanismos que desembocan en rotura prematura de membranas.

La mejor comprensión de los procesos de señalización entre las células locales y las que llegan al entorno de la placenta y sus anexos, así como de los mediadores utilizados para comunicarse y coordinarse, permitirá proponer tratamientos de intervención que permitan controlar el progreso hacia el nacimiento prematuro o hacia la rotura prematura de membranas.

REFERENCIAS

1. Anuario estadístico 2001. Instituto Nacional de Perinatología.
2. Lamont RF, Anthony F, Myatt L, Booth L, Furr PM, Taylor Robinson D. Production of prostaglandin E2 by human amnion *in vitro* in response to addition of media conditioned by microorganisms associated with chorioamnionitis and preterm labor. *Am J Obstet Gynecol* 1990;162:819-25.
3. Romero R, Mazor M, Wu YK, et al. Infection in the pathogenesis of preterm labor. *Semin Perinatol* 1998;12:262-79.
4. Romero R, Mazor M. Infection and preterm labor. *Clin Obstet Gynecol* 1998;31:553-84.
5. Mitchell MD, Edwin S, Romero RJ. Prostaglandin biosynthesis by human decidual cells: effects of inflammatory mediators. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 1990;41:35-38.
6. Vadillo-Ortega F, Sadowsky DW, Haluska GJ, et al. Identification of matrix metalloproteinase-9 in amniotic fluid and amniochorion in spontaneous labor and after experimental intrauterine infection or interleukin-1b in pregnant rhesus monkeys. *Am J Obstet Gynecol* 2002;186:128-38.
7. Parry S, Strauss JF. Premature rupture of the fetal membranes. *N Engl J Med* 1998;338:663-70.
8. Vadillo OF, González AG, Furth EE, et al. 92-kD type IV collagenase (matrix metalloproteinase-9) activity in human amniochorion increases with labor. *Am J Pathol* 1995;146:148-56.
9. Vadillo OF, Hernández A, González AG, Bermejo L, Iwata K, Strauss JF. Increased matrix metalloproteinase activity and reduced tissue inhibitor of metalloproteinases-1 levels in amniotic fluids from pregnancies complicated by premature rupture of membranes. *Am J Obstet Gynecol* 1996;174:1371-6.
10. Fortunato SJ, Menon R, Lombardi SJ. Collagenolytic enzymes (gelatinases) and their inhibitors in human amniochorionic membrane. *Am J Obstet Gynecol* 1997;177:731-41.
11. Gravett MG, Witkin SS, Haluska GJ, Edwards JL, Cook MJ, Novy MJ. An experimental model for intraamniotic infection and preterm labor in rhesus monkey. *Am J Obstet Gynecol* 1994;171:1660-7.
12. Zaga V, Estrada-Gutiérrez G, Beltrán-Montoya J, Maida-Claros R, López-Vancell R, Vadillo-Ortega F. Secretions of interleukin-1 beta and tumor necrosis factor alpha by whole

- fetal membranes depend on initial interactions of amnion or choriodecidua with lipopolysaccharides or group B streptococci. Biol Reprod 2004;71:1296-302.
13. Estrada-Gutiérrez G, Vadillo-Ortega F, Jiménez-González MA, Beltrán-Montoya J, Giono-Cerezo S. Caracterización bioquímica y ultraestructural del efecto de la interleucina 1- β como mediador de degradación de tejido conectivo en membranas corioamnióticas humanas en cultivo. Ginecol Obstet Mex 2002;70:190-5.
 14. Arechavaleta-Velasco F, Ogando D, Parry S, Vadillo-Ortega F. Production of matrix metalloproteinase-9 in lipopolysaccharide-stimulated human amnion occurs through an autocrine and paracrine proinflammatory cytokine-dependent system. Biol Reprod 2002;67:1952-8.
 15. Reisenberger K, Egarter C, Schiebel I, Obermair A, Kiss H, Lehner R. *In vitro* cytokine and prostaglandin production by amnion cells in the presence of bacteria. Am J Obstet Gynecol 1997;176:981-4.

La conducta que debe seguirse durante el embarazo y durante el parto no varía en nada de la recomendada para la modalidad anterior, es decir, que se practicará la versión por maniobras externas, siempre que sea posible, y se dejará que el parto se realice espontáneamente.

Está indicada la intervención siempre que el feto sufra o exista un parto en la progresión. La extracción es más difícil por la posición de los miembros inferiores y la ausencia de tractores naturales.

Para evitar estas dificultades, yo aconsejo, siempre que se trate de una primípara con tejidos resistentes o que el feto sea grande, bajar el pie anterior apenas la dilatación es suficiente para poder introducir dos dedos en el útero. Se extrae el pie anterior fuera del útero y se separa la expulsión espontánea: esto es lo que se designa con el nombre de *descenso profiláctico de pie*; no se empieza la extracción más que en caso de indicación.

Reproducido de: Fabre. Manual de obstetricia. Barcelona: Salvat Editores,1941;p:242.

Resultado perinatal de un programa de reproducción asistida institucional[‡]

Senia Suyapa Ochoa Rueda,* Juan Carlos Barros Delgadillo,** Fernando Cecilio Paredes Chávez,* Gerardo Barroso Villa,*** Sergio Villalobos Acosta,** Víctor Sánchez Solís,** Mauricio Osorio Caballero,** Fernando Gaviño Gaviño****

RESUMEN

Antecedentes: en las técnicas de reproducción asistida se manipulan los gametos masculinos y femeninos, los embriones y el sitio de implantación. Éstas asisten al factor conocido o desconocido de la esterilidad sin tener como objetivo la corrección del problema base. Entre ellas se encuentran la fertilización *in vitro* y la transferencia de embriones.

Objetivo: describir las características y resultados perinatales de los ciclos de fertilización *in vitro* con transferencia de embriones (FIV-TE) de un programa institucional de reproducción asistida.

Material y métodos: se analizaron de manera retrospectiva todos los ciclos de fertilización *in vitro* y transferencia de embriones realizados entre octubre de 1999 y mayo del 2004. Se describieron las variables propias de los ciclos de fertilización *in vitro*, además de la edad, tasa de fertilización, implantación y embarazo, orden fetal, peso y edad gestacional al nacer, tasa de nacidos vivos y abortos. A las pacientes se les efectuó supresión hipofisiaria, según el protocolo largo, y se les administró hormona foliculoestimulante (FSH) recombinante. Se describen los resultados en forma de números absolutos, promedios desviación estándar (DE) y porcentajes para tasas.

Resultados: se analizaron 365 ciclos en 314 pacientes. La edad media fue de 34 ± 3.7 años. El factor tuboperitoneal se diagnosticó en 63.3%. La tasa de fertilización fue de 60.4%, la de implantación de 37.1%, la de embarazo por transferencia de 25.1%, la de nacidos vivos por transferencia de 21.7%, la de embarazo múltiple de 29.3%, la de aborto de 28% y la de embarazo ectópico de 4.9%. La cesárea se realizó en 87.8% de los casos. El 70% de los productos de embarazo múltiple pesaron más de 1,250 g. El 70.5% nació después de las 32 semanas y 90% de los niños nacieron vivos y evolucionaron adecuadamente. Las alteraciones del metabolismo de la glucosa fueron las más frecuentes como complicación materna.

Conclusión: los resultados perinatales obtenidos, aunque son comparables con los reportados en otros centros de reproducción asistida, invitan a reducir la tasa de embarazo múltiple y de aborto.

Palabras clave: resultados perinatales, fertilización *in vitro*, reproducción asistida.

ABSTRACT

Background: Assisted reproductive technology manipulates masculine gametes, embryos and implantation. It also aids the known or unknown factor of sterility without having the base problem correction as a target. *In vitro* fertilization and embryo transfer are among these techniques.

Objective: To describe the overall outcome and the final perinatal offspring after *in vitro* fertilization cycle in an institutional third level hospital.

Materials and methods: IVF cycles were retrospectively analyzed from October 1999 to May 2004. Several variables were described like: age, fertilization rate, implantation and pregnancy rate, fetal status, time of gestation during labor, miscarriage follicle-stimulating hormone rate and take-home baby rate. Patients underwent hypophyseal suppression with GnRH analog, using a long luteal phase protocol and stimulated with recombinant FSH. Overall data is expressed as average $\pm$ standard deviation and percentage.

Results: 365 cycles were analyzed in 314 patients, average age was of 34 ± 3.7 years, tubal factor was diagnosed in 63.3%, fertilization rate was of 60.4%, implantation rate of 37.1%, per transfer pregnancy rate of 25.1%, per transfer live born rate of 21.7%, multiple pregnancy rate of 29.3%, miscarriage rate of 28% and ectopic pregnancy rate of 4.8%. In 87.8% of the cases caesarean operation was made; multiple pregnancy offspring weighted more than 1250 g in 70% of them; 70.5% was born after 32 weeks of pregnancy; 90% was born live and with good prognosis. Glucose metabolism alterations were the most frequent maternal complication.

Conclusion: Although the results obtained were similar to those of assisted reproduction centers, it suggests improving multiple pregnancy rate and abortion rate.

Key words: perinatal outcome, *in vitro* fertilization, assisted reproduction.



SOMMAIRE

Antécédents : dans les techniques de reproduction assistée se manipulent les gamètes masculins et féminins, les embryons et le site d'implantation. Celles-là assistent le facteur connu ou méconnu de la stérilité sans avoir pour but la correction du problème base. Parmi elles se trouvent la fertilisation *in vitro* et le transfert d'embryons.

Objectif : décrire les caractéristiques et les résultats périnataux des cycles de fertilisation *in vitro* avec transfert d'embryons (FIV-TE) d'un programme institutionnel de reproduction assistée.

Matériel et méthodes : on a analysé de manière rétrospective tous les cycles de fertilisation *in vitro* et transfert d'embryons réalisés d'octobre 1999 à mai 2004. On a décrit les variables propres des cycles de fertilisation *in vitro*, ainsi que l'âge, le taux de fertilisation, l'implantation et la grossesse, l'ordre fœtal, le poids et l'âge de gestation lors de la naissance, le taux de nés vivants et d'avortes. On a effectué une suppression hypophysaire aux patientes, selon le protocole long, et on leur a administré l'hormone folliculo-stimulante (FSH) recombinante. Les résultats se décrivent sous forme de nombres absolus, moyennes de déviation standard (DS) et pourcentages pour des taux.

Résultats : on a analysé 365 cycles sur 314 patientes. L'âge moyen a été de 34 ± 3.7 ans. Le facteur tubo-péritonéal a été diagnostiqué dans 63.3%. Le taux de fertilisation a été de 60.4%, d'implantation de 37.1%, de grossesse pour transfert de 25.1%, de nés vivants par transfert de 21.7%, de grossesse multiple de 29.3%, d'avorte de 28% et de grossesse ectopique de 4.9%. La césarienne s'est effectuée sur 87.8% des cas. Le 70% des produits de grossesse multiple ont eu un poids supérieur à 1,250 g. Le 70.5% est né après les 32 semaines et le 90% des enfants sont nés vivants et ont évolué de forme adéquate. Les altérations du métabolisme de la glucose ont été les plus fréquentes en tant que complication maternelle.

Conclusion : les résultats périnataux obtenus, même s'ils sont comparables aux reportés dans d'autres centres de reproduction assistée, invitent à améliorer le concernant au taux de grossesse multiple et d'avorte.

Mots-clé : résultats périnataux, fertilisation *in vitro*, reproduction assistée.

En las técnicas de reproducción asistida se manipulan los gametos masculinos y femeninos, los embriones y el sitio de implantación. Éstas ayudan al factor conocido o desconocido de la esterilidad sin tener como objetivo la corrección del problema base. Entre ellas se encuentran la fertilización *in vitro* y la transferencia de embriones (FIV-TE).¹

Los reportes de los resultados de las técnicas de reproducción asistida datan de la década de 1978. Steptoe y Edwards² describieron el primer nacimiento de un niño por fertilización *in vitro* en ciclo natural. Desde entonces, estas técnicas han ido modificándose para alcanzar mejores tasas de embarazo y menores complicaciones maternas y perinatales.

En 1988 se realizó, en Estados Unidos, el primer reporte de técnicas de reproducción asistida. Éste se obtuvo después del suministro voluntario de datos de centros en los cuales se realizaban dichas técnicas.³ Después de los datos publicados en 1997 por la Sociedad de Técnicas de Reproducción Asistida, junto con el Centro de Control y Prevención de Enfermedades, los reportes ya se hacen cada año.^{4,6}

El último reporte de esta serie de datos es del año 2004, donde se publica la experiencia de 383 programas de reproducción asistida hasta el año 2000. Hubo 99,989 ciclos realizados, de los cuales 73,406 correspondieron a la fertilización *in vitro* con transferencia de embriones; con 14.3% de cancelación de ciclo, 93.8% de transferencia embrionaria, 30.7% de embarazo por ciclo iniciado, 35.9% de embarazo por captura ovocitaria y 38.2% de embarazo por transferencia de embriones. Asimismo, se reportó una tasa de nacidos vivos del 25.6% por ciclo iniciado, 29.9% por captura y 31.9% por transferencia. La tasa de pérdida de embarazo fue del 16.7% y la del embarazo ectópico de 2.1%.⁷

En 1990, Fernando Zegers-Hochschild creó el registro latinoamericano de reproducción asistida.⁸

Ésta es la única publicación que se encuentra en Latinoamérica. En el último reporte del año 2001 hubo 102 centros que coincidían con sus datos.⁹ Hasta ese año se habían realizado 18,595 procedimientos de

‡ Este trabajo obtuvo el primer lugar de investigación clínica en el 55 Congreso Mexicano de Ginecología y Obstetricia.

* Residente de segundo año de biología de la reproducción humana.

** Adscrito al departamento de reproducción asistida.

*** Jefe del departamento de reproducción asistida.

**** Subdirector de biología de la reproducción humana. Instituto Nacional de Perinatología (INPer).

Correspondencia: Dra. Senia Suyapa Ochoa Rueda. Departamento de reproducción asistida, Instituto Nacional de Perinatología. Montes Urales 800, col. Lomas Virreyes, CP 11000, México, DF.

La versión completa de este artículo también está disponible en internet: www.revistasmedicasmexicanas.com.mx

reproducción asistida y México contribuyó con 9.7% de los ciclos realizados. De estos procedimientos, sólo 28.1% correspondió a fertilización *in vitro* con transferencia de embriones y el resto a las otras técnicas de reproducción asistida existentes. Al tomar en conjunto la fertilización *in vitro* y la inyección intracitoplásmica de espermatozoides (ICSI), la tasa global de embarazo y parto por aspiración fue de 28.0 y 21.8%, respectivamente. De acuerdo con publicaciones latinoamericanas, la tasa de parto por aspiración es la que más se ha logrado hasta la fecha. La media de embriones transferidos es de 3.2 por paciente y la tasa de multigestación de 29.8% (22.1% gemelares dobles y 7.7% triples). Este porcentaje es similar al 30.2% (22.8% gemelares y 7.4% triples) reportado en el año 2000. De los procedimientos de fertilización *in vitro* e ICSI que se efectuaron durante el año 2001, nacieron 3,615 niños vivos; de los cuales, 51.3% fueron de embarazos con feto único y 48.7% de embarazo múltiple. La prematuridad (< 36 semanas de gestación) y prematuridad extrema (< 31 semanas de gestación) para partos únicos fue de 15.5 y 2.8%; 55.5 y 9.5% para gemelares y 89.6 y 20.1% para triples, respectivamente. La mortalidad perinatal fue de 1.7% para partos únicos; 7.1% para gemelares; 9.5% para triples y 50% para cuádruples o más.¹⁰

Dado que hasta la fecha no hay reportes de los resultados perinatales de nuestra unidad de reproducción asistida, se decidió realizar esta investigación. Otro motivo fue la importancia de conocer dichos resultados y la escasa publicación al respecto, sobre todo de un programa institucional.

OBJETIVO

Describir las características y el resultado perinatal de los ciclos de fertilización *in vitro* con transferencia de embriones (FIV-TE) de un programa institucional de reproducción asistida, de octubre de 1999 a mayo del 2004.

MATERIAL Y MÉTODO

Selección de pacientes y ciclos: se incluyeron todos los ciclos realizados desde la reapertura del programa de FIV-TE, de octubre de 1999 a mayo del 2004. Los ciclos se analizaron de manera retrospectiva y sólo se

incluyeron los que culminaron con transferencia de embriones.

Las indicaciones para FIV-TE incluyeron los siguientes diagnósticos: factor tuboperitoneal, endocrino-ovárico, masculino, de causa no determinada y mixto cuando la pareja tenía más de un factor alterado.

Protocolo de estimulación ovárica

Debido a que los procedimientos de FIV-TE se realizan por ciclos, es decir, en las últimas dos semanas de cada mes, y a fin de conseguir una fecha de menstruación de acuerdo con la edad, a las pacientes se les recetó un anovulatorio oral durante un mínimo de 21 días a base de norgestrel 0.50 mg y etinilestradiol 0.05 mg en tableta (Ovral®).

Todas se trataron con el protocolo largo de agonistas de GnRH y acetato de leuprolide (Lucrin Solución Kit®). Se administró 1 mg por vía subcutánea durante siete días, hasta que se logró la desensibilización hipofisiaria. Luego, se disminuyó la dosis del agonista a 0.5 mg / día y se inició la administración de la hormona folículo estimulante recombinante (FSHr) en forma de folitropina alfa o beta (Gonal F® o Puregón®) a dosis afines con la edad: < 35 años, 300 UI / día; de 35 a 38 años, 375 UI / día y > 38 años, 450 UI / día por vía subcutánea. Se realizó un ultrasonido transvaginal basal con transductor multifrecuencia de 5 a 7.5 mHz, con el modelo SI Sonoline 400 (Aloka, Japón). Asimismo, se efectuó la medición de las concentraciones séricas de la hormona folículo estimulante y del estradiol (E2) después de siete días de administración de acetato de leuprolide. En los casos en que las concentraciones séricas de FSH y E2 fueron > 5 UI / mL y de 80 pg / mL, respectivamente, se continuó la administración del acetato de leuprolide a la misma dosis durante 48 horas más y se repitieron los estudios hasta que se logró la desensibilización. Después se indicó la hormona folículo estimulante recombinante. Se realizó un ultrasonido cada 24 o 48 horas a partir del octavo día del ciclo o el sexto de estimulación ovárica.

Con el fin de establecer una correlación de crecimiento folicular con la maduración ovocitaria y vigilar la ausencia de pico prematuro de la hormona luteinizante (LH), a todas las pacientes se les efectuó

determinación sérica de LH y estradiol el día de la inducción de la ovulación con hormona gonadotropina coriónica humana (hCG). Cuando se encontraron tres o más folículos ≥ 18 mm de diámetro y determinación sérica de estradiol > 500 pg/mL, se ordenó la aplicación de hCG urinaria a razón de 10,000 UI o 250 mcg de hCG recombinante (hCGr) (Profasi® u Ovidrel®). La recuperación de los ovocitos se realizó por vía transvaginal, guiada por ultrasonido 34 y 36 horas después de la aplicación de la hCG.

Los ovocitos se incubaron en fluido tubario humano, suplementado con suero sintético sustituto al 10% (Irvine Scientific, Santa Ana, CA) con aceite mineral (Lab. Squibb, California), en cajas de cuatro pozos (Falcon, Becton Dickinson, NJ), a 37°C y en 5% de bióxido de carbono. Se inseminaron con aproximadamente 50,000 espermatozoides móviles por ovocito y 16 a 20 horas después se corroboró la fertilización mediante la identificación de dos pronúcleos. Una vez corroborada la fertilización se realizó el cultivo de los preembriones en cajas de Petri (Falcon, Becton Dickinson, NJ), en gotas de 40 microlitros del mismo medio con aceite mineral. Se valoró la segmentación cada 24 horas hasta la transferencia de los mismos.

La preparación del semen para la inseminación de los ovocitos se efectuó mediante la técnica de dos gradientes de concentración Isolate upper-lower (Irvine Scientific, Santa Ana, CA) (gradientes de 40 y 90%, respectivamente). La muestra seminal se colocó volumen a volumen con el fluido tubario humano y se suplementó con suero sintético sustituto al 8.5% sobre los gradientes de Isolate. Se centrifugó a 1,600 revoluciones por minuto durante diez minutos y se retiró el sobrenadante. Después, se realizó el lavado mediante centrifugado a 1,800 rpm durante cinco minutos, se eliminó el sobrenadante y la muestra se ajustó a 1 mL para obtener los espermatozoides del sobrenadante mediante la técnica de *swim-up*.

La transferencia embrionaria se realizó 72 horas después de la recuperación ovocitaria; se utilizó el catéter de Frydman (Laboratoire C.C.D, París, Francia) o catéter de Asch (Cook Ireland LTD, Spencer, IN).

El soporte de la fase lútea se hizo a partir del día de la recuperación de los ovocitos, mediante la administración de progesterona vaginal en gel, a razón

de 270 mg/día (Crinone al 9%, Lab. Serono, Italia), o parenteral mediante la aplicación intramuscular a dosis de 50 mg/día (Cuerpo Amarillo Fuerte, Lab. Hormona, México). Se prescribió 17 β -estradiol (Primogyn, Lab. Schering, Colombia) a la dosis de 2, 4 ó 6 mg/día cuando las concentraciones séricas al día siete postransferencia fueron de 100 a 150, de 50 a 100 ó 50 pg/mL, respectivamente. No se administró estradiol cuando las concentraciones fueron mayores de 150 pg/mL.

Análisis de hormonas

Las concentraciones séricas de la hormona foliculoestimulante (FSH), hormona luteinizante (LH), estradiol (E2), progesterona (P4) y unidad beta de hCG (b-hCG) se determinaron mediante el ensayo de inmunoquimio-luminiscencia (ACS: 180, automate-chemiluminescence system, Bayer Corp. NY), con coeficientes de variación intra e interensayo de 1.81 a 0.78%, de 0.37 a 0.30%, de 1.78 a 6.59%, de 4.27 a 0.62% y de 2.33 a 4.21% para la FSH, LH, E2, P4 y b-hCG, respectivamente.

Análisis estadístico

Los resultados se describen a partir de una base de datos almacenada en Excel, donde se captura toda la información obtenida de los ciclos realizados. Los resultados de las variables analizadas se muestran en forma de números absolutos, promedios, desviación estándar (DE) y porcentajes (tasas).

RESULTADOS

Se realizaron 365 ciclos en 314 pacientes. Los ciclos por paciente fueron los siguientes: 4 ciclos en una de ellas, 3 en 8 y 2 en 32. Los datos generales de la población estudiada se muestran en el cuadro 1. La edad promedio de las pacientes fue de 34 ± 3.7 años.

La infertilidad primaria se observó en 177 ciclos (48%) y la secundaria en 188 (52%). El tiempo de evolución de la infertilidad fue de < 2 años en 26 pacientes (7.1%), 2 a 5 años en 52 (14.2%) y > 5 años en 287 (78.7%). El factor tuboperitoneal fue el que se diagnosticó con mayor frecuencia y se encontró en 231 pacientes (63.2%). El promedio $\pm$ desviación estándar del número de folículos maduros (> 18 mm) fue de 6 ± 3.6 ; el de ovocitos capturados de 9.5 ± 5.6 ; el de ovocitos

fertilizados de 5 ± 4 y el de embriones transferidos de 4 ± 2 . La calidad embrionaria fue adecuada en 61.4%, regular en 23.3% y mala en 15.3%, según la clasificación publicada por la Red Latinoamericana de Reproducción Asistida.¹¹

Cuadro 1. Datos generales de la población estudiada

<i>Variables</i>	<i>Núm. (%)</i>
Edad	34 ± 3.7
< 35	183 (50.1)
35-39	163 (44.6)
> 39	19 (5.3)
Factor de esterilidad	
Tuboperitoneal	231 (63.3)
Endocrino ovárico	9 (2.5)
Masculino	5 (1.4)
Desconocido	38 (10.4)
Mixto	82 (22.5)
Número y tasa de embarazo por edad materna	
< 35	51 (62.2)
35-39	31 (37.8)
> 39	0
Orden fetal	
Único	58 (70.7)
Doble	15 (18.3)
Triple	5 (6)
≥ 4	4 (5)
Promedio de peso por edad gestacional $\pm$ DE	
Pretérmino	$1,395 \pm 524$
Término	$2,972 \pm 468$
Sexo del recién nacido	
Femenino	39 (55)
Masculino	31 (45)

La tasa de fertilización fue de 60.7% y la de implantación de 37.1%, la cual fue mayor en las pacientes menores de 35 años y menor en las mayores

de 39 años; en estas últimas la tasa de implantación fue de 0%.

Por lo que se refiere a los resultados perinatales, 62.2% de los embarazos se lograron en pacientes menores de 35 años y 37.8% en pacientes mayores de 35; la tasa fue de 0% en el grupo de mayores de 39 años. El 70.8% de los embarazos logrados fue con producto único y 29.2% fue de embarazo múltiple. De los nacidos hasta la fecha, 67.6% fue de embarazo múltiple y 32.4% de embarazo con producto único (cuadro 2).

Fueron 82 embarazos en los 365 ciclos. Hasta la fecha ha habido 24 a término, 17 pretérmino y 23 abortos, de los cuales 4 fueron incompletos, 10 con huevo muerto retenido y 9 anembrionicos. Cuatro embarazos fueron ectópicos. En la actualidad, 10 embarazos se encuentran en curso, de los cuales 4 son embarazos múltiples (dos dobles y dos triples) y 6 embarazos únicos (cuadros 1 y 2).

Se lograron 58 embarazos únicos y 24 múltiples. De los únicos, un embarazo terminó en óbito de 35 semanas. De los embarazos múltiples se resolvieron 17 con 11 dobles, 3 triples y 4 de 4 o más embriones. En uno de los embarazos dobles el producto fue óbito y dos nacieron con muerte neonatal temprana. Todos los embarazos triples fueron pretérmino (uno antes y dos después de la semana 32); sin embargo, los productos nacieron vivos y evolucionaron adecuadamente. De los embarazos de alto orden fetal, hubo un séxtuple, un quintuple y dos cuádruples. Todos los productos del embarazo séxtuple nacieron vivos; sin embargo, tuvieron muerte postnatal temprana. De los quintuples, un producto fue óbito y cuatro se encontraban en buen estado de salud. De los cuádruples, todos nacieron vivos y tenían buen estado de salud.

Cuadro 2. Resultado perinatal y orden fetal

<i>Resultado</i>	<i>Único Núm. (%)</i>	<i>Doble Núm. (%)</i>	<i>Triple Núm. (%)</i>	<i>4 o más Núm. (%)</i>
Nacidos vivos*	23 (32.3)	18 (25.4)	9 (16.9)	18 (25.4)
Óbito	1 (1.4)	1 (1.4)	0	1 (1.4)
Aborto incompleto	3 (3.6)	1 (1.2)	0	0
HMR	10 (12.1)	0	0	0
Anembriónico	9 (12.5)	0	0	0
Embarazo ectópico	4 (4.8)	0	0	0
Muerte postnatal**	0	2 (2.9)	0	6 (8.8)

HRM: huevo muerto retenido.

*El porcentaje de nacidos vivos se obtiene al dividir el número de nacidos vivos y la suma de nacidos vivos más muertos.

**Muerte postnatal: muertos entre nacidos vivos.

De todas las pacientes que se embarazaron, cuatro perdieron su seguimiento en el Instituto: una paciente extranjera y tres que cambiaron de dirección y decidieron atenderse fuera del Instituto.

La vía de nacimiento más frecuente fue la operación cesárea en 87.8% de los casos. De los resueltos por vía vaginal, 7.4% fue eutocia y 4.8% distocia.

De las complicaciones maternas, la que se diagnosticó con mayor frecuencia fue la alteración en el metabolismo de la glucosa, la cual se manifestó en siete pacientes. Dos de ellas con embarazo único y cinco con embarazo múltiple (cuadro 3).

Al analizar el orden fetal de acuerdo con la edad, se aprecia que el mayor porcentaje de embarazos únicos se lograron en pacientes < 35 años (41.5%) (cuadro 4).

Con respecto a la edad gestacional y el orden fetal al nacer, el mayor porcentaje de nacimientos de término

correspondió a embarazos únicos y sólo 17% de los múltiples lo lograron (cuadro 5).

De los embarazos múltiples, 81.8, 100 y 94.7% de los gemelares dobles, triples y de cuatro o más nacieron vivos; de esta manera se corroboró un buen seguimiento obstétrico y resultado perinatal. En general, los productos nacieron vivos en 90% de los embarazos múltiples (cuadro 6). Asimismo, se diagnosticó un huevo muerto retenido en un embarazo gemelar doble (el otro producto nació vivo por cesárea sin complicaciones) y un aborto incompleto de un gemelar doble (cuadro 6).

Por lo que se refiere al peso al nacer en relación con el orden fetal, 75% de los productos de embarazo único nacieron con peso mayor a 2,500 g y 70% de los productos de embarazo múltiple con peso mayor a 1,250 g. De éstos, sólo 9.3% alcanzaron un peso mayor a 2,500 g (cuadro 7).

Cuadro 3. Complicaciones maternas

<i>Complicación</i>	<i>Embarazo único</i>	<i>Embarazo múltiple</i>
Diabetes gestacional	1	3
Intolerancia a los carbohidratos	1	2
Preeclampsia severa	1	1
Rotura prematura de membranas	1	1
Colestasis de embarazo	1	0
Oligohidramnios	1	0

Cuadro 4. Embarazo clínico según el orden fetal y la edad materna

<i>Edad</i>	<i>Único*</i> Núm. (%)	<i>Doble**</i> Núm. (%)	<i>Triple***</i> Núm. (%)	<i>Cuádruple</i> Núm. (%)	<i>≥ 5</i> Núm. (%)
< 35	34 (41.5)	8 (9.7)	5 (6.1)	2 (2.4)	2 (2.4)
35-39	24 (29.3)	7 (8.6)	0	0	0
> 39	0	0	0	0	0

*Se incluyen dos pacientes que abandonaron el seguimiento y seis que actualmente están en curso.

** Se incluyen dos pacientes que abandonaron el seguimiento y dos que actualmente están en curso.

*** Se incluyen dos pacientes que actualmente están en curso.

Cuadro 5. Edad gestacional y orden fetal al nacer

<i>Edad gestacional</i>	<i>Orden fetal</i>			
	<i>Único</i> Núm. (%)	<i>Doble</i> Núm. (%)	<i>Triple</i> Núm. (%)	<i>4 o más</i> Núm. (%)
20-31	1 (2.4)	1 (2.4)	1 (2.4)	3 (7.4)
32-35.6	3 (7.3)	5 (12.4)	2 (4.8)	1 (2.4)
36-41.6	20 (48.8)	4 (9.7)	0	0
> 42	0	0	0	0
Total	24 (58.5)	10 (24.5)	3 (7.2)	4 (9.8)

Cuadro 6. Resultado perinatal en embarazos múltiples

<i>Nacido</i>	<i>Doble Núm. (%)</i>	<i>Triple Núm. (%)</i>	<i>4 o más Núm. (%)</i>	<i>Total Núm. (%)</i>
Vivo	18 (81.8)	9 (100)	18 (94.7)	45 (90)
Óbito	1 (4.1)	0	1 (5.3)	2 (4)
Aborto	3 (14.1)	0	0	3 (6)
Total	22 (100)	9 (100)	19 (100)	50 (100)

Cuadro 7. Peso de recién nacidos según el orden fetal

<i>Peso (g)</i>	<i>Único Núm. (%)</i>	<i>Doble Núm. (%)</i>	<i>Triple Núm. (%)</i>	<i>4 o más Núm. (%)</i>
< 700	0	4 (18.1)	0	8 (42.1)
700-899	0	1 (4.5)	0	0
900-1,249	0	0	0	0
1,250-2,499	6 (25)	15 (68.1)	9 (100)	11 (57.9)
> 2,500	18 (75)	2 (9.3)	0	0
Total	24 (100)	22 (100)	9 (100)	19 (100)

Cuadro 8. Edad materna, orden fetal y número de embriones transferidos

<i>Embriones transferidos</i>	<i>Edad</i>	<i>Embarazos totales</i>	<i>Único Núm. (%)</i>	<i>Doble Núm. (%)</i>	<i>3 o más Núm. (%)</i>
1	< 35	1	1 (100)	0	0
	35-39	3	3 (100)	0	0
	> 39	0	0	0	0
2	< 35	1	1 (100)	0	0
	35-39	0	0	0	0
	> 39	0	0	0	0
3	< 35	5	3 (60)	0	2 (40)
	35-39	1	1(100)	0	0
	> 39	0	0	0	0
4	< 35	14	11 (78.5)	3 (21.5)	0
	35-39	6	3 (50)	3 (50)	0
	> 39	0	0	0	0
5 o más	< 35	30	18 (60)	5 (16)	7 (24)
	35-39	21	17 (81)	4 (19)	0
	> 39	0	0	0	0

Al tratar de establecer una correlación entre la edad materna, el orden fetal y el número de embriones transferidos, se observa que las pacientes menores de 35 años, en quienes se transfirieron cinco o más embriones, tienen el mayor número de embarazos de alto orden fetal (24%). A pesar del número de embriones transferidos a pacientes mayores de 39 años, la tasa de embarazo fue de 0% (cuadro 8).

En este estudio sólo se analizaron los ciclos en los que se realizó la transferencia de embriones. La tasa de

embarazo por transferencia embrionaria fue de 25.1%, de nacidos vivos por ciclo transferido de 21.7%, de aborto de 28.2%, de embarazo ectópico de 4.8% y de embarazo múltiple de 25.6%.

DISCUSIÓN

En la revisión de casos de fertilización *in vitro* con transferencia de embriones se encontró que entre las características generales de las pacientes, 50% eran

menores de 35 años y 5.2% mayores de 39. Esto es similar a lo reportado por la RED en Latinoamérica, donde 49.3% de las pacientes eran menores de 35 años, 37.4% tenía entre 35 y 39 años y 13.3% era mayor de 39 años.¹⁰ De igual forma, en Estados Unidos, la ASRM reportó que 44.7% de las pacientes eran menores de 35 años.⁷ Para ingresar al Instituto Nacional de Perinatología y ser una paciente susceptible de ser tratada en el servicio de reproducción asistida se pide como requisito ser menor de 38 años de edad. Dado que las pacientes mayores de 38 años tienen alteraciones compatibles con la transición menopáusica,¹² las tasas de embarazo se reducen a porcentajes muy bajos (menos del 5%). Por ende, ya no son susceptibles a técnicas de reproducción asistida en la institución.

El factor tuboperitoneal es el que tuvo mayor porcentaje (63.3%), y en segundo lugar las alteraciones mixtas (22.5%), como causas de ingreso a FIV-TE según lo reportado por la RED.¹⁰

El 61.4% de los embriones transferidos eran de buena calidad, lo cual apoya los buenos resultados de la Unidad de Reproducción Asistida. Además, concuerda con estudios en los que se comprueba la relación directa entre calidad embrionaria, tasas de embarazo y resultado perinatal.^{13,14}

La tasa de fertilización de este estudio fue de 60.7, esto indica que es comparable y superior a la reportada por otros autores que señalan tasas de fertilización cercanas al 54%.^{10,15}

La tasa de implantación fue mayor en las menores de 35 años, con 34.7%, en comparación con 17.1% reportado por la RED. Sin embargo, la tasa de implantación en mayores de 39 años fue de 0%.¹⁰ La tasa de embarazo por transferencia embrionaria encontrada en esta población, aunque es más alta, fue compatible con la reportada por otros autores.^{7,15}

Por lo que se refiere al orden fetal, 70.7% de los embarazos fueron con producto único, en comparación con 51.3% de embarazos únicos reportados por la RED en Latinoamérica y con 64.6% logrados en Estados Unidos.

El porcentaje de pérdidas gestacionales (aborto) en la unidad fue de 28.0%, más alto que el reportado por la RED y la ASRM (19 y 16.7%, respectivamente). Sin embargo, otros autores dieron resultados similares a los de la unidad.¹³ Valdría la pena investigar en futuros

trabajos los problemas de implantación, de orden genético, de soporte de fase lútea o algún otro factor concomitante que explicase estos hallazgos.

La tasa de embarazo ectópico reportada en este estudio es el doble de la reportada por otros autores.^{7,10} Esto tal vez dependa de las pacientes institucionales que maneja la unidad. Por lo general, tienen un padecimiento concomitante, como hidrosálpinx, miomatosis uterina o antecedente de miomectomía previa, operaciones abdominales previas, infecciones pélvicas y factor tuboperitoneal alterado, como lo reportan Strandell y colaboradores.¹⁶

En relación con la vía de resolución del embarazo, el nacimiento por cesárea fue la más frecuente en 87.8%. Zadori y su equipo¹⁷ reportaron una tasa de nacimiento por cesárea de 75% en las pacientes embarazadas por fertilización *in vitro* con transferencia de embriones, contra 58% en las pacientes que se embarazaron de forma natural. Aunque esto no alcanzó diferencia significativa, sí dio una idea clara de la relación entre embarazos logrados con FIV-TE y la resolución abdominal de los mismos. Las complicaciones maternas más frecuentes fueron las que afectan el metabolismo de la glucosa y la enfermedad hipertensiva aguda del embarazo, las cuales se manifestaron en las pacientes con embarazos múltiples. Sin embargo, hay autores que mencionan tasas de complicaciones similares entre las que logran embarazos únicos o gemelares dobles y tasas mayores en pacientes con embarazo de alto orden fetal.¹⁷

El embarazo múltiple se relacionó directamente con el número de embriones transferidos y con menor edad gestacional y peso al nacer, tal como señalan otros autores.^{7,10} Sin embargo, Gorrill y colaboradores reportaron tasas de embarazo múltiple en la FIV-TE, aun si sólo se transferían dos blastocistos.¹⁸ En la actualidad, la mayor parte de los centros de reproducción asistida están tratando de reducir el número de embriones transferidos, a fin de disminuir las tasas de embarazo múltiple y las complicaciones perinatales concomitantes. En relación con lo anterior, existen autores que no encuentran disminución de las tasas de embarazo múltiple al transferir dos o tres embriones. Por ende, en varios centros ya se transfiere un solo embrión.¹⁹ En esta población, la tasa de implantación es del 4% cuando se transfiere un solo

embrión y se observa que la tasa de embarazo aumenta a mayor número de embriones transferidos (máximo cuatro).

El orden fetal se relaciona con el peso al nacer, el cual disminuye a mayor orden fetal. Se describe sobre todo cuando se utilizan técnicas de reproducción asistida, pues hay mayor número de gestaciones múltiples que, por lo general, concluyen en una etapa de pretérmino del embarazo. Este efecto se reflejó en esta población y se ha sustentado en otras.²⁰

La edad gestacional en la que se resolvieron los embarazos (principalmente los múltiples), el porcentaje de nacidos vivos y su peso al nacer indican una adecuada y oportuna atención perinatal en esta institución. Aunque concuerdan con algunos autores, nuestros resultados no son compatibles con otros reportes que señalan mayor incidencia de nacimientos pretérmino en los embarazos logrados con reproducción asistida.

En conclusión, los resultados perinatales de esta unidad de reproducción asistida son compatibles con los de otros centros. Esto sugiere que a las pacientes se les proporciona adecuada atención perinatal y obstétrica y se vuelve fuente de motivación para lograr resultados perinatales óptimos; es decir, mayores tasas de embarazo, menores tasas de embarazo múltiple, de aborto y embarazos ectópicos.

REFERENCIAS

- Vásquez-Benítez E. Medicina reproductiva. 2ª ed. México: Manual Moderno, Sociedad Mexicana de Medicina de la Reproducción, 2003;pp:285-89.
- Steptoe PC, Edwards RG. Birth after the reimplantation of a human embryo. *Lancet* 1978;2:366.
- Medical Research International. The American Fertility Society Special Interest Group. In vitro fertilization/embryo transfer in the United States: 1985 and 1986 results from the National IVF/ET Registry. *Fertil Steril* 1988;49:212-5.
- Society for Assisted Reproductive Technology and the American Society for Reproductive Medicine. Assisted reproductive technology in the United States: 1997 results generated from the American Society for Reproductive Medicine/Society for Assisted Reproductive Technology Registry. *Fertil Steril* 2000;74:641-54.
- Society for Assisted Reproductive Technology and the American Society for Reproductive Medicine. Assisted reproductive technology in the United States: 1998 results generated from the American Society for Reproductive Medicine/Society for Assisted Reproductive Technology Registry. *Fertil Steril* 2002;77:18-31.
- Society for Assisted Reproductive Technology and the American Society for Reproductive Medicine. Assisted reproductive technology in the United States: 1999 results generated from the American Society for Reproductive Medicine/Society for Assisted Reproductive Technology Registry. *Fertil Steril* 2002;78:918-31.
- Society for Assisted Reproductive Technology and the American Society for Reproductive Medicine. Assisted reproductive technology in the United States: 2000 results generated from the American Society for Reproductive Medicine/Society for Assisted Reproductive Technology Registry. *Fertil Steril* 2004;81:1207-20.
- Vásquez-Benítez E. Medicina Reproductiva. 2ª ed. México: Manual Moderno, Sociedad Mexicana de Medicina de la Reproducción, 2003;pp: 421-23.
- Red Latinoamericana de Reproducción Asistida. Disponible en URL://http://www.redlara.com/esp/registro.asp
- Red Latinoamericana de Reproducción Asistida, informe 2001. Disponible en URL://http://www.redlara.com/esp/reg_2001.asp
- Manual de procedimientos, laboratorio de reproducción asistida. Red Latinoamericana de Reproducción Asistida. Santiago de Chile, 1998;pp:41-46.
- Santoro N. The menopause transition: an update. *Hum Reprod Update* 2002;8:155-60.
- Jason VH, Chen MJ, Vi VC, Guun HF, Ho ES. The effect of preincubation period of oocytes on nuclear maturity, fertilization rate, embryo quality and pregnancy outcome in IVF and ICSI. *J Assist Reprod Genet* 2003;20:358-64.
- Estes SJ, Hoover LM, Smith SE, Somkuti SG, Schinfeld JS, Barmat LI. Comparison of pregnancy, implantation and multiple gestation rates for day 3 versus day 5 embryo transfers. *J Assist Reprod Genet* 2003;20:409-12.
- Kably-Ambe A, Ruiz-Anguas J, Garzón-Núñez JA, Jaen EA, Carballo-Mondragón E. Análisis de la proporción en la tasa de fertilización como una variable predictiva del éxito en un programa de fertilización *in vitro*. *Ginecol Obstet Mex* 2003;71:16-24.
- Strandell A, Thorburn J, Hamberger L. Risk factors for ectopic pregnancy in assisted reproduction. *Fertil Steril* 1999;71:282-86.
- Zadori J, Kozinsky Z, Orvos H, Katona M, Paul A, Kovacs L. Dilemma of increased obstetric risk in pregnancy following IVF-ET. *J Assist Reprod Genet* 2003;20:216-21.
- Gorrill MJ, Sadler K, Patton PE, Burry K. Multiple gestations in assisted reproductive technology: can they be avoided with blastocyst transfers? *Am J Obstet Gynecol* 2001;184:1471-7.
- Matson P, Browne J, Deakin R, Belling B. The transfer of two embryos instead of three to reduce the risk of multiple pregnancy: a retrospective analysis. *J Assist Reprod Genet* 1999;16:1-5.
- Schieve L, Meikle SF, Ferre C, Peterson HB, Jeng G, Wilcox LS. Low and very low birth weight in infants conceived with use of assisted reproductive technology. *N Engl J Med* 2002;346:731-7.

Efecto de los ejercicios del piso pélvico durante el embarazo y el puerperio en la prevención de la incontinencia urinaria de esfuerzo[‡]

Viridiana Gorbea Chávez,* María del Pilar Velázquez Sánchez,** Jorge R. Kunhardt Rasch***

RESUMEN

Antecedentes: el principal factor para la aparición de incontinencia urinaria de esfuerzo es el embarazo y el parto vaginal. Los ejercicios del piso pélvico sirven para el tratamiento de la incontinencia urinaria de esfuerzo.

Objetivo: determinar mediante un ensayo clínico controlado si los ejercicios del piso pélvico durante el embarazo y el puerperio tardío disminuyeron la frecuencia de incontinencia urinaria de esfuerzo a las 28 y 35 semanas de gestación y a las 6 semanas posteriores a la resolución del embarazo.

Material y métodos: el estudio se llevó a cabo en mujeres embarazadas y nulíparas, quienes realizaron ejercicios del piso pélvico durante el embarazo y el puerperio. Se estudiaron 72 mujeres, 52.7% realizaron ejercicios del piso pélvico y 47.2% no.

Resultados: la frecuencia de incontinencia urinaria a las 28 y 35 semanas de gestación en el grupo sin ejercicios fue de 17.6 y 41.2%, respectivamente, mientras que a las 6 semanas posparto fue de 47%; en el grupo que sí realizó ejercicios fue de 0, 0 y 15.7%, respectivamente. Existieron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos en cuanto a la incontinencia urinaria de esfuerzo, es decir, el grupo que realizó ejercicios tuvo menos incontinencia a las 28 y 35 semanas de gestación y a las 6 semanas posteriores a la resolución del embarazo.

Conclusiones: los resultados sugieren que los ejercicios del piso pélvico durante el periodo embarazo-puerperio previenen la incontinencia urinaria de esfuerzo durante el embarazo y al finalizar el puerperio.

Palabras clave: incontinencia urinaria de esfuerzo, prevención, ejercicios del piso pélvico, embarazo, puerperio.

ABSTRACT

Background: The main factor for the appearance of urinary stress incontinence in almost all women is pregnancy and vaginal childbirth. The pelvic floor exercises have been described for the treatment of urinary stress incontinence.

Objective: To determine with a randomized controlled trial if the pelvic floor exercises during pregnancy and late puerperium diminish the prevalence of urinary stress incontinence at 28 and 35 gestational week and at 6 weeks after childbirth.

Material and methods: The study was made with nulliparous, pregnant women who realized pelvic floor exercises during pregnancy and after birth. 72 women were studied, 52.7% realized pelvic floor exercises and 47.2% did not.

Results: The urinary stress incontinence frequency at the 28 gestational week in the no exercises group was 17.2%, and at the 35 gestational week of 47% and at 6 weeks after childbirth was of 47%, while in the exercises group was 0, 0 and 15%, respectively. Moreover there were statistically significant differences between both groups regarding the presence of urinary stress incontinence, that is, the group that realized exercises presented less incontinence at the 28 and 35 gestational weeks and at 6 weeks after childbirth.

Conclusions: The results of this study concluded that the pelvic floor exercises during pregnancy and after childbirth prevent the urinary stress incontinence at this time.

Key words: urinary stress incontinence, prevention, pelvic floor exercises, pregnancy, puerperium.

SOMMAIRE

Antécédents : le facteur principal pour l'apparition d'incontinence urinaire d'effort est la grossesse et l'accouchement vaginal. Les exercices du plancher pelvien servent pour le traitement de l'incontinence urinaire d'effort.

Objectif : déterminer au moyen d'un essai clinique contrôlé si les exercices du plancher pelvien pendant la grossesse et l'état puerpéral tardif ont diminué la fréquence d'incontinence urinaire d'effort aux 28 et 35 semaines de gestation et aux 6 semaines postérieures à la résolution de la grossesse.

Matériel et méthodes : l'étude s'est réalisée sur des femmes enceintes et nulipares, qui ont fait des exercices du plancher pelvien pendant la grossesse et l'état puerpéral. On a étudié 72 femmes, 52.7% ont fait des exercices du plancher pelvien et 47.2% pas.

Résultats : la fréquence d'incontinence urinaire aux 28 et 35 semaines de gestation pour le groupe sans exercices a été de 17.6 et 41.2%, respectivement, tandis que aux 6 semaines post-partum a été de 47% ; pour le groupe qui a fait des exercices a été de 0.0 et 15.7%, respectivement.

15.7% respectivement. Il a existé des différences statistiquement significatives dans les groupes quant à l'incontinence urinaire d'effort, c'est-à-dire, le groupe qui a fait des exercices a présenté moins incontinence aux 28 et 35 semaines de gestation et aux 6 semaines postérieures à la résolution de l'accouchement.

Conclusions : les résultats suggèrent que les exercices du plancher pelvien pendant la période gravido-puerpérale préviennent l'incontinence urinaire d'effort durant la grossesse et à la fin de l'état puerpéral.

Mots-clé : incontinence urinaire d'effort, prévention, exercices du plancher pelvien, grossesse, état puerpéral.

De acuerdo con la Sociedad Internacional de Continencia, la incontinencia urinaria de esfuerzo denota un síntoma, signo o trastorno. Un síntoma es la queja de la pérdida involuntaria de orina durante el esfuerzo o ejercicio, o durante el estornudo o la tos. Deben especificarse aspectos relevantes, como frecuencia, gravedad, factores precipitantes, impacto social, efecto en la higiene y calidad de vida, medidas utilizadas para contener la pérdida y si el individuo busca o desea ayuda para la incontinencia urinaria. Los signos de la incontinencia urinaria son parámetros objetivos de la pérdida de orina y pueden incluir la observación de la pérdida urinaria involuntaria a través de la uretra, sincrónica a un esfuerzo, estornudo o tos, el diario miccional, la prueba de la toalla sanitaria, el uso de un colorante para teñir la orina y confirmar la pérdida o pruebas urodinámicas formales.¹

La incontinencia urinaria es un problema común que afecta del 17 al 45% de las mujeres adultas y que puede manifestarse durante y después del embarazo. Morkved y su colaborador² encontraron una prevalencia del 42% durante el embarazo, mientras que ocho semanas después de su resolución ésta fue del 38%. Wilson y colaboradores³ observaron que tres meses después de la resolución del embarazo la prevalencia de la incontinencia urinaria fue del 34.3% y que 23.9%

fue de esfuerzo. El origen de la incontinencia postparto es multifactorial, con contribuciones del periodo pregestacional (quizá congénita), del embarazo y de factores de la resolución del mismo (periodo expulsivo prolongado).

En 1948, Kegel⁴ describió por primera vez los ejercicios del piso pélvico para el tratamiento de la incontinencia urinaria de esfuerzo, con éxito subjetivo de hasta 80%. Tienen efecto en el músculo elevador del ano y aumentan la función de los músculos estriados del esfínter periuretral; además, pueden mejorar la presión de transmisión al cuello vesical y a la uretra con pocos efectos secundarios.

Durante el periodo perinatal dichos ejercicios se recomiendan como una posible prevención y tratamiento de la incontinencia urinaria de esfuerzo. Sólo algunos estudios han evaluado su eficacia en ese periodo.^{3,5-7} Morkved y colaboradores⁸ realizaron un estudio al azar de ejercicios de los músculos del piso pélvico durante el embarazo para prevenir la incontinencia urinaria y encontraron diferencias significativas entre los grupos a la semana 36 de gestación y 3 meses después de la resolución del embarazo (menos incontinencia para el grupo que realizó ejercicios), además de apreciar mayor fuerza muscular en las mujeres que realizaron los ejercicios. En México no existen estudios clínicos controlados en mujeres embarazadas acerca de la eficacia de los ejercicios del piso pélvico durante el embarazo y el puerperio para prevenir la incontinencia urinaria de esfuerzo postparto.

El objetivo de este estudio fue determinar, mediante un ensayo clínico controlado, si los ejercicios del piso pélvico durante el embarazo y el puerperio tardío disminuyen la frecuencia de incontinencia urinaria de esfuerzo a las 28 y 35 semanas de gestación y a las 6 semanas posteriores a la resolución del embarazo. Asimismo, se estableció la frecuencia y gravedad de la incontinencia urinaria de esfuerzo en los mismos tiempos.

‡ Este trabajo obtuvo el segundo lugar de investigación clínica en el 55 Congreso Mexicano de Ginecología y Obstetricia.

* Médica adscrita.

** Coordinadora de la Clínica de Urología Ginecológica.

*** Director médico y profesor titular del curso de urología ginecológica.
Instituto Nacional de Perinatología.

Correspondencia: Dra. María del Pilar Velázquez Sánchez. Clínica de Urología Ginecológica, Instituto Nacional de Perinatología. Montes Urales 800, col. Lomas Virreyes, México, DF, CP 11000.

La versión completa de este artículo también está disponible en internet: www.revistasmedicasmexicanas.com.mx

MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se efectuó en mujeres nulíparas de 15 a 35 años de edad y en embarazadas con 20 semanas de gestación que no tuvieran incontinencia urinaria de esfuerzo, de acuerdo con la definición de la Sociedad Internacional de Continencia, al momento de ser incluidas en el estudio y dispuestas a realizar ejercicios del piso pélvico. No se incluyó a las mujeres con embarazo múltiple, con dos o más cesáreas, con embarazos que cursaran con oligohidramnios o polihidramnios o con complicaciones, como incompetencia istmo-cervical, isoinmunización materno-fetal, afecciones graves, como enfermedad hipertensiva grave inducida por el embarazo o padecimientos crónico degenerativos que afectaran la función del piso pélvico, como la diabetes mellitus y la esclerosis múltiple. Una vez que firmaron la hoja de consentimiento informado se les distribuyó al azar en dos grupos con la utilización de sobres cerrados y según la tabla de números al azar. Los sobres los tenía una secretaria que no tenía relación con el estudio; ella los abría y asignaba a las mujeres a cada grupo. Cuatro fisioterapeutas fueron las encargadas de informar a ambos grupos acerca de la anatomía y fisiología del tracto urinario bajo, con apoyo audiovisual, además de explicar cómo contraer los músculos pélvicos (al pedirle a la paciente que contrajera el ano o que realizara una maniobra parecida a la de cortar el chorro de la orina).

En el grupo con fisioterapia del piso pélvico las fisioterapeutas se encargaron de explicar la función de sus músculos, la trascendencia de la incontinencia urinaria, así como de realizar ejercicios del mismo para prevenirla. Se informó que los ejercicios no implican ningún riesgo para el embarazo y se explicó el esquema de ejercicios a realizar:⁸ 10 ejercicios al día que constaron de contracciones rápidas y lentas; cada ejercicio consistió en realizar una contracción lenta durante ocho segundos, seguida de tres contracciones rápidas durante un segundo cada una y seis segundos de reposo entre cada ejercicio.

Los ejercicios se realizaron en decúbito dorsal, con las piernas ligeramente flexionadas. Cuando la paciente dominó el ejercicio, éste se hizo en bipedestación o sentada.

Luego, una enfermera colocó a las mujeres en posición ginecológica y les puso dos electrodos de contacto de

clorhidrato de plata (reutilizables) a 1 cm laterales al ano. Con ello se llevó a cabo la biorretroalimentación (presencia de un parámetro objetivo, mensurable y mejorable a través de una señal percibida por la paciente, que en este caso fue visual y auditiva), al evaluar la contracción de los músculos del piso pélvico mediante un electromiógrafo (Myomed 932, que recogió la actividad mioeléctrica del músculo a través de dos electrodos de superficie y que la amplificó, mostrándola por una lámpara o serie de lámparas que se iluminan y que tienen una señal auditiva). Este último sirvió de guía a la mujer para observar de forma directa la contracción de los músculos pélvicos en la pantalla, además de escuchar un sonido directamente proporcional a la fuerza con la que contrajo el piso pélvico; asimismo, se registró la actividad durante la contracción máxima y se obtuvo un trazo que se clasificó como contracción nula, mínima, incompleta y completa.

Los ejercicios a partir de las 20 semanas de gestación hasta la resolución del embarazo y después al iniciar el puerperio tardío⁹ se hicieron a diario y de la siguiente manera: con fisioterapeuta, una hora, una vez por semana durante ocho semanas, seguidos de biorretroalimentación. El resto de los días en su hogar, con un diario de entrenamiento donde se anotó el número de ejercicios que realizó por día; cada semana dicho diario se cambió por uno nuevo en el que, además, se anotaron los efectos adversos o benéficos relacionados con la práctica de los ejercicios. Mediante llamadas telefónicas semanales se insistió en la realización de los ejercicios del piso pélvico durante el resto del embarazo y en el puerperio tardío.

Se adiestró a las pacientes acerca del reconocimiento de signos de alarma (salida transvaginal de líquido amniótico, contracciones uterinas regulares, sangrado transvaginal, disminución de movimientos fetales, datos de vasespasma), los cuales no se relacionan con la práctica de los ejercicios pero que al manifestarse era necesario acudir a urgencias.

Al grupo control no se le pidió hacer ejercicios del piso pélvico durante el embarazo y el puerperio.

Mediciones:

El investigador principal realizó las siguientes mediciones en ambos grupos:

- A las 28 y 35 semanas de gestación, así como a las seis semanas posteriores a la resolución del embarazo se

les preguntó acerca de la existencia de incontinencia urinaria de esfuerzo, al igual que de su frecuencia² (rara vez: menos de una vez por semana, cada semana: por lo menos una vez a la semana y diario) y gravedad¹⁰ (grado I: pérdida de orina con la tos y al levantar objetos pesados, grado II: pérdida al caminar y grado III: goteo en posición erecta). A las mujeres con incontinencia urinaria de esfuerzo se les hizo la comprobación objetiva con la prueba de la tos (pérdida de orina sincrónica al esfuerzo) y sólo cuando ésta fue positiva se llevó a cabo el urocultivo, para descartar que fuera secundaria a una infección de las vías urinarias. Cuando el cultivo fue positivo el tratamiento se indicó de acuerdo con el resultado del antibiograma y 10 días después de haberlo terminado se realizó otro urocultivo, una vez que éste fue negativo se hizo de nuevo la prueba de la tos.

- Mediante el electromiógrafo se registró la actividad de los músculos del piso pélvico durante la máxima contracción (al estimular a la paciente a que contrajera lo más fuerte posible y sostuviera la contracción durante ocho segundos) a las 20, 28 y 35 semanas de gestación, así como a las seis semanas después de la resolución del embarazo.

- Se registró el peso a las 20, 28 y 35 semanas de gestación.

- Se revisó el expediente clínico para completar la hoja de recolección de datos.

Los procedimientos se siguieron de acuerdo con la Declaración de Helsinki de 1975, revisada en 1983, y el estudio lo aprobó el comité de ética del hospital donde se realizó.

Para el análisis estadístico se utilizó el programa SPSS 10.0 y consistió en determinar: frecuencias de todas las variables, además de la frecuencia de la incontinencia urinaria de esfuerzo a las 35 semanas de gestación y a las 6, 8 y 12 semanas posparto en ambos grupos de estudio. En cada grupo hubo riesgo relativo crudo para la incontinencia urinaria de esfuerzo, con intervalos de confianza del 95%. La prueba de la ji al cuadrado se usó para las variables cualitativas nominales y para comparar la frecuencia o las proporciones entre las variables independientes y dependientes. La prueba U de Mann-Whitney fue para las variables cualitativas ordinales (electromiografía, frecuencia y gravedad de la incontinencia

urinaria de esfuerzo). La prueba t de Student se utilizó para las variables cuantitativas (edad, gestaciones, peso a las 20, 28 y 35 semanas de gestación, peso del recién nacido) y la prueba de Mantel y Hanzel para las variables de control.

La variable de desenlace fue la presencia de incontinencia urinaria de esfuerzo. Se controlaron variables, como número de ejercicios del piso pélvico realizados, edad gestacional a la que se resuelve el embarazo, vía de resolución del embarazo, instrumentación del parto, desgarros perianales, tiempo de duración de la segunda fase de trabajo de parto (periodo expulsivo), peso del recién nacido, edad de la paciente, peso a las 20, 28 y 35 semanas de gestación, incremento de peso de las 20 a las 35 semanas de gestación, efectos adversos y benéficos de la fisioterapia del piso pélvico (referidos por la paciente), número de consultas con la fisioterapeuta e infección de las vías urinarias.

En un estudio piloto de 26 mujeres se encontró que la frecuencia de la incontinencia urinaria fue del 42.9% en el grupo que no realizó ejercicios seis semanas después de la resolución del embarazo, mientras que en el grupo que hizo ejercicios del piso pélvico la frecuencia fue del 8.3%. El tamaño de la muestra se calculó con una fórmula para diferencia de proporciones, con alfa de 0.05 y beta de 0.020. Se obtuvieron 31 mujeres por grupo y se tomaron en cuenta las pérdidas.

RESULTADOS

De las 75 pacientes que cumplieron con los criterios de selección, hubo dos pérdidas: una por muerte no relacionada con el embarazo y otra por cambio de domicilio, una más se eliminó por manifestar parto inmaduro a las 23 semanas de gestación. Participaron 72 mujeres, 34 (47.2%) no realizaron ejercicios del piso pélvico, mientras que 38 (52.7%) sí los hicieron.

No existieron diferencias significativas entre los grupos en las variables de edad, gestaciones, peso a las semanas 20, 28 y 35 de gestación, semanas de gestación al momento de la resolución del embarazo, duración de la segunda fase del trabajo de parto (alargada y no alargada) en las mujeres en las que así se presentó, peso del recién nacido y número de cesáreas previas. Sin embargo, sí hubo diferencias significativas

($p = 0.028$) en la variable de incremento de peso; fue mayor para el grupo que realizó ejercicios del piso pélvico (cuadro 1).

La duración mínima y máxima de la segunda fase del trabajo de parto fue de 8 y 300 minutos, respectivamente, y se determinó como segunda fase del trabajo de parto alargada y no alargada. Al primer grupo correspondieron 17.9% de los embarazos. El 71.4% de las mujeres que tuvieron segunda fase de trabajo de parto alargada realizaron ejercicios del piso pélvico, mientras que 28.5% de ellas no los hizo, sin encontrar diferencias estadísticamente significativas entre los grupos ($p = 0.112$). A la mujer cuya duración de la segunda fase de trabajo de parto fue de 300 minutos se le realizó cesárea por periodo expulsivo prolongado. La paciente perteneció al grupo que hizo ejercicios del piso pélvico y no manifestó incontinencia urinaria a las 28 y 35 semanas de gestación ni a las 6 semanas posteriores a la resolución del embarazo.

En el grupo de ejercicios y sin éstos, 68.4 y 70.6% eran primigestas, respectivamente. El 87.5% de las

mujeres fueron sanas, 92.2% del grupo de ejercicios y 82.4% del grupo sin ejercicios. En 63.1% de los casos el número de visitas con la fisioterapeuta fue de 8; en 21.1%, 7; en 3.2%, 6 y en 2.6%, 5.

La frecuencia de incontinencia urinaria de esfuerzo a las 28 semanas de gestación, en el grupo que no realizó ejercicios, fue de 17.6%, mientras que a las 35 semanas fue de 41.2% ($p < 0.0001$). A las seis semanas posteriores a la resolución del embarazo la frecuencia en el grupo que no hizo ejercicios fue de 47%, mientras que en el grupo que sí hizo fue de 15.7%. La reducción de la incontinencia urinaria en el grupo que realizó ejercicios fue mayor del 50% ($p = 0.009$) (cuadro 2).

Se encontró un efecto protector para la incontinencia urinaria de esfuerzo a las 35 semanas de gestación y a las seis semanas posteriores a la resolución del embarazo en las mujeres que realizaron ejercicios del piso pélvico durante el embarazo, con riesgo relativo de 0.031 e intervalo de confianza del 95%, (IC 95%) 0.002, 0.5 y 0.66 (IC 95%) 0.241, 0.852, respectivamente. Se requiere que tres mujeres realicen ejercicios del piso pélvico

Cuadro 1. Variables cuantitativas en los grupos con y sin ejercicios (con distribución normal). Edad, número de gestaciones, peso a las 20, 28 y 35 semanas de gestación, incremento de peso, número de ejercicios, semanas de gestación a las que se resolvió el embarazo, peso del recién nacido en los grupos con y sin ejercicios.

Variable	Ejercicios Sí ($n = 38$)	No ($n = 34$)	<i>t</i> de Student	<i>P</i>
Edad (años)	25.5 $\pm$ 6.1	23.6 $\pm$ 7.2	-1.194	0.236
Gestaciones (núm.)	1.4 $\pm$ 0.75	1.4 $\pm$ 0.7	-0.054	0.957
20 semanas (kg)	57.4 $\pm$ 6.5	61.4 $\pm$ 16.4	1.376	0.173
28 semanas (kg)	62.1 $\pm$ 7.3	64.7 $\pm$ 16.2	0.909	0.366
35 semanas (kg)	65.5 $\pm$ 7.0	66.0 $\pm$ 13.3	0.207	0.837
Incremento de peso (kg)	8.1 $\pm$ 2.6	6.5 $\pm$ 3.2	-2.248	0.028
Ejercicios (núm.)	9.2 $\pm$ 1.8			
SDG	38.3 $\pm$ 1.4	38.3 $\pm$ 1.9		0.82
Peso del recién nacido (g)	3,072.6 $\pm$ 550.6	3,000 $\pm$ 541.1	-0.559	0.578

SDG: semanas de gestación a las que se resolvió el embarazo.

Cuadro 2. Incontinencia urinaria de esfuerzo a las 28 y 35 semanas de gestación y seis semanas posteriores a la resolución del embarazo en los grupos con y sin ejercicios.

Incontinencia urinaria	Sí ($n = 38$)	No ($n = 34$)	Fisher	<i>p</i>	RR (IC 95%)
28 semanas	0	6 (17.6%)	4.57	0.032	0.069 (0.004, 1.182)
35 semanas	0	14 (41.2%)	15.99	< 0.0001	0.031 (0.002, 0.5)
6 semanas posparto	6 (15.7%)	16 (47%)	6.86	0.009	0.336 (0.148, 0.759) NNT = 3.1

RR (IC 95%): riesgo relativo (intervalo de confianza del 95%)

NNT: número necesario a tratar

durante el embarazo y el puerperio para prevenir que una mujer manifieste incontinencia urinaria de esfuerzo seis semanas después de la resolución del embarazo.

La prueba de la tos resultó positiva a las 28 semanas de gestación en dos mujeres (5.8%) que no realizaban ejercicios del piso pélvico ($p = 0.21$), a las 35 semanas de gestación a estas dos mujeres se les agregaron 4 del mismo grupo, es decir, 6 (17.6%, $p = 0.009$) y a las seis semanas posteriores a la resolución del embarazo esas mismas mujeres continuaron con la prueba de la tos positiva (17.6%, $p = 0.009$).

A las 28 semanas de gestación, seis mujeres del grupo control cursaron con incontinencia urinaria, de éstas sólo dos tuvieron prueba de la tos positiva; a las 35 semanas, 14 pacientes del mismo grupo manifestaron incontinencia urinaria y sólo seis tuvieron prueba de la tos positiva. A las seis semanas posteriores a la resolución del embarazo, 16 mujeres del grupo control y seis del grupo con ejercicios manifestaron incontinencia urinaria. De éstas, 6 y 0 pacientes, respectivamente, tuvieron prueba de la tos positiva.

La resolución del embarazo por vía vaginal y cesárea en el grupo que realizó ejercicios fue de 42.1 y 57.9%, respectivamente, y en el grupo sin ejercicios fue de 64.7 y 35.3%, respectivamente, sin existir diferencias estadísticamente significativas entre los grupos ($p = 0.093$).

En las mujeres que resolvieron su embarazo por vía vaginal y que pertenecieron al grupo que no realizó ejercicios del piso pélvico ($p = 0.499$) hubo 9.1% de desgarros de tercer grado incompletos.

La electromiografía se llevó a cabo sólo en 26 mujeres, ya que cuando se realizó el primer corte y se analizaron los resultados ésta fue significativa desde las 28 semanas de gestación, con $p = 0.08$, a las 35

semanas de gestación, con $p = 0.000$, y a las seis semanas posteriores a la resolución del embarazo, con $p = 0.000$; por tal motivo y debido a que es una maniobra invasora no se realizó en el resto de las mujeres. Las mujeres que realizaron ejercicios del piso pélvico tuvieron trazos incompletos y completos en su mayoría, mientras que las que no realizaron ejercicios resultaron con trazos nulos o mínimos. Es decir, el grupo que realizó ejercicios tuvo mayor fuerza de los músculos del piso pélvico a las 35 semanas de gestación y a las seis semanas posteriores a la resolución del embarazo (cuadro 3).

A las 28 semanas de gestación, la incontinencia de esfuerzo se manifestó rara vez en 11.7 y diario en 5.9% de las mujeres que no realizaban ejercicios del piso pélvico. A las 35 semanas de gestación, 29.4 y 11.8% del mismo grupo de pacientes tuvo incontinencia rara vez y diario, respectivamente. A las seis semanas posteriores a la resolución del embarazo, el porcentaje de mujeres que no realizó ejercicios tuvo incontinencia rara vez en 17.6% de los casos, semanalmente en 23.5% y diario en 5.9%, mientras que en el grupo de ejercicios ésta se manifestó en 10.5, 5.3 y 0%, respectivamente.

La gravedad de la incontinencia urinaria a las 28 semanas de gestación fue grado I en 66.6% de las pacientes y grado III en 33.4%, de seis mujeres incontinentes; a las 35 semanas de gestación fue grado I en 71.5%, grado II en 14.3% y grado III en 14.3%, de 14 mujeres incontinentes, y a las seis semanas posteriores a la resolución del embarazo fue grado I en 62.5% y grado II en 37.5%, de 16 mujeres incontinentes, todas del grupo que no realizó ejercicios; mientras que en el grupo que hizo ejercicios se apreció incontinencia grado I en seis mujeres incontinentes (100%).

Cuadro 3. Electromiografía a las 20, 28 y 35 semanas de gestación, así como a las seis semanas posteriores a la resolución del embarazo en los grupos con y sin ejercicios

EMG	20 semanas		28 semanas		35 semanas		6 posteriores	
	<i>n</i> = 14 (%)	<i>n</i> = 12 (%)	<i>n</i> = 14 (%)	<i>n</i> = 12 (%)	<i>n</i> = 14 (%)	<i>n</i> = 12 (%)	<i>n</i> = 14 (%)	<i>n</i> = 12 (%)
Nulo	1 (7.1)	1 (8.3)	1 (7.1)	0	1 (7.1)	0	1 (7.1)	0
Mínimo	12 (85.7)	8 (66.7)	11 (78.6)	6 (50)	13 (92.9)	2 (16.7)	13 (92.6)	1 (8.3)
Incompleto	1 (7.1)	3 (25)	2 (14.3)	5 (41.7)	0	7 (58.3)	0	9 (75)
Completo	0	0	0	1 (8.3)	0	3 (25)	0	2 (16.7)
U Mann-Whitney	$p = 0.527$		$p = 0.08$		$p = 0.000$		$p = 0.000$	

Cuadro 4. Variables de control (vía de resolución, tipo de parto, desgarros, duración del periodo expulsivo, macrosomía) y resultado (incontinencia urinaria)

<i>Variable de control</i>	<i>Riesgo relativo</i>	<i>Intervalo de confianza 95%</i>	<i>Valor p</i>
Vía de resolución (vaginal, abdominal)	2.386	1.055-5.397	0.079
Parto (eutocia, distocia)	0.952	0.523-1.734	0.875
Desgarros (presente, ausente)	1.8	1.344-2.411	0.499
Periodo expulsivo (normal, prolongado)	1.27	0.726-2.222	0.46
Macrosomía (sí y no)	0.942	0.524-1.694	0.833

No se detectaron efectos adversos con los ejercicios del piso pélvico; sin embargo, en 28 mujeres existió alivio del estreñimiento.

En las variables de control y resultado (incontinencia urinaria a las seis semanas posteriores a la resolución del embarazo) no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre la vía de resolución del embarazo, desgarros, segundo periodo de trabajo de parto (normal o alargado), recién nacido macrosómico (sí y no) y la manifestación o no de incontinencia urinaria (cuadro 4). Por lo que se refiere al incremento de peso, sí se encontraron diferencias significativas en el grupo con y sin incontinencia urinaria; sin embargo, el grupo de ejercicios del piso pélvico incrementó más su peso durante la gestación y a pesar de ello esas mujeres tuvieron menos incontinencia urinaria de esfuerzo, por lo que no fue una variable que interviniera en el resultado.

A las 35 semanas de gestación seis mujeres resultaron con la prueba de la tos positiva, de éstas dos tuvieron urocultivo con desarrollo de *E. coli* y 100,000 UFC / mL, una con síntomas de disuria y la otra asintomática. La sensibilidad de la primera fue a la ampicilina y la de la segunda a la nitrofurantoína; 10 días después se realizaron nuevos urocultivos y ambos resultaron negativos; sin embargo, la prueba de la tos continuó positiva en ambas mujeres.

DISCUSIÓN

La frecuencia de incontinencia urinaria de esfuerzo que se encontró a las seis semanas posteriores a la resolución del embarazo en el grupo que no realizó ejercicios del piso pélvico fue del 47%, muy similar a la que observaron otros autores. Con la misma definición que se utilizó en el estudio de la Sociedad Internacional de Continencia a las ocho semanas posteriores a la

resolución del embarazo, Morkved² encontró una frecuencia de 38%, mientras que Wilson³ encontró una de 34.3% tres meses posteriores a la resolución del embarazo. En otro estudio de Morkved⁸ se apreció una frecuencia de incontinencia urinaria, sin referirse únicamente a la de esfuerzo, de 32% tres meses después de la resolución del embarazo.

El grupo que realizó ejercicios del piso pélvico durante el embarazo y el puerperio tuvo una frecuencia de incontinencia urinaria de esfuerzo a las seis semanas posteriores a la resolución del embarazo de 15.7%. Con ello se comprobó que los ejercicios del piso pélvico protegen la aparición de la incontinencia urinaria de esfuerzo, con riesgo relativo de 0.336 (IC 95% 0.148, 0.759). En el estudio de Wilson,³ que a pesar de ser retrospectivo y que los ejercicios no se realizaron bajo supervisión y con un programa establecido, se encontró una razón de momios de 0.6 (IC 95% 0.4, 0.9). Sampselle⁷ no reportó el número de mujeres con incontinencia urinaria antes y después de la intervención, es decir, no mencionó frecuencias; sin embargo, reportó disminución estadísticamente significativa de los síntomas de incontinencia urinaria. Morkved⁸ reportó 20% de incontinencia urinaria en los tres meses posteriores a la resolución del embarazo en el grupo que realizó ejercicios durante el mismo; sin embargo, en este estudio se incluyeron mujeres con incontinencia urinaria previa al embarazo. La variable de resultado no sólo se refiere a la incontinencia urinaria de esfuerzo, sino a cualquier tipo de pérdida de orina; por tal motivo la frecuencia es más elevada que a las seis semanas, ya que se esperaba que ésta fuera disminuyendo con el tiempo.¹¹ Reilly y colaboradores¹² reportaron menor incontinencia urinaria en el grupo que realizó ejercicios del piso pélvico; sin embargo, sólo incluyeron mujeres con alto riesgo de manifestarla (diagnóstico de hipermovilidad del cuello vesical).

La Sociedad Internacional de Continencia recomienda el uso de parámetros objetivos para demostrar la existencia de incontinencia urinaria de esfuerzo. En este estudio se utilizó la prueba de la tos como un signo objetivo y no sólo el autorreporte de la paciente para poder evaluar el efecto del tratamiento. No se usó la prueba de la toalla para evitar infecciones de las vías urinarias en las gestantes ni tampoco se realizaron estudios urodinámicos, ya que son invasores y ocasionan malestar, de moderado a grave. Además, en un estudio previo se demostró que sólo 45% de las mujeres aceptaron participar en el estudio urodinámico a las ocho semanas posparto, por lo que es poco factible su realización durante el periodo grávido-puerperal. Lagro-Janssen y colaboradores¹³ concluyeron que en la práctica general el estudio urodinámico es innecesario en la mayoría de las mujeres con incontinencia urinaria. Los estudios de Sampselle⁷ y Morkved⁸ no utilizaron ningún parámetro objetivo para demostrar la incontinencia urinaria de esfuerzo, lo que le resta validez interna a los dos ya que no se apegan a la definición propuesta por la Sociedad Internacional de Continencia.

A pesar de que en todos los estudios donde se incluyen los ejercicios del piso pélvico se valora la fuerza de los músculos, para así asegurar que éstos se realicen, no se incluye la biorretroalimentación, es decir, el método por el cual la paciente se percata de inmediato del estado fisiológico del piso pélvico. De acuerdo con Kegel,⁴ de ello depende gran parte del éxito del programa de ejercicios, además de que sin biorretroalimentación la falta de cumplimiento del régimen de ejercicios varía entre 10 y 40%.¹⁴ En este estudio se aplicó biorretroalimentación durante ocho semanas. En el estudio de Sampselle⁷ sólo se reportó la fuerza de los músculos del piso pélvico a las 35 semanas de gestación, a las 6 semanas y 6 meses posteriores a la resolución del embarazo, sin encontrar diferencias estadísticamente significativas. A pesar de que en el estudio de Morkved⁸ sí existieron diferencias estadísticamente significativas en la fuerza de los músculos del piso pélvico a las 36 semanas de gestación y a los tres meses posteriores a la resolución del embarazo, no se realizó biorretroalimentación. En este estudio hubo diferencias con significado estadístico desde las 28 y 35 semanas de gestación y a las 6 semanas posteriores a la resolución del embarazo.

Reilly y colaboradores¹² no encontraron diferencias entre los grupos en la fuerza de los músculos del piso pélvico después de los ejercicios y no realizaron biorretroalimentación.

La definición de incontinencia urinaria de esfuerzo propuesta por la Sociedad Internacional de Continencia indica que deben especificarse factores relevantes, como frecuencia y gravedad de la incontinencia urinaria. Lo anterior se realizó en este estudio, por lo que se le considera más completo; no obstante, en estudios previos^{7,8} no se toma en cuenta dicha variable.

Se sugirió que la participación de los fisioterapeutas es necesaria para obtener resultados satisfactorios.¹⁵⁻¹⁷ Las cuatro fisioterapeutas que colaboraron en este estudio dieron instrucciones precisas acerca de los ejercicios del piso pélvico a las mujeres participantes y las motivaron a realizar contracciones máximas; además, en cada sesión insistieron en la importancia del apego al protocolo de entrenamiento y las indujeron a seguir en él. Lo mismo se observa en estudios previos.^{40,41}

Este estudio se realizó sólo en pacientes primíparas, ya que no muestran daño neurológico del piso pélvico, y en las que se aseguró que no existía daño acumulativo de la paridad. El programa de ejercicios del piso pélvico propuesto en este estudio podría indicarse en pacientes multíparas, siempre y cuando se realice un estudio minucioso del mismo para asegurar que no existe daño nervioso, ya que en este caso no tendrían efecto los ejercicios. Se requieren estudios en multíparas para poder concluir que en ellas los ejercicios del piso pélvico también previenen la incontinencia urinaria.

El programa de ejercicios del piso pélvico propuesto en este estudio es muy sencillo y sería fácil de implantar en cualquier estrategia de salud para prevenir la incontinencia urinaria de esfuerzo durante el periodo grávido-puerperal. No obstante, aún se requieren estudios, sobre todo de seguimiento (cohorte), para conocer cómo esos ejercicios durante dicho periodo pueden prevenir la incontinencia urinaria de esfuerzo posteriormente en la vida adulta.

Los resultados de este estudio concluyen que los ejercicios del piso pélvico que se efectúan durante el periodo grávido-puerperal previenen la incontinencia urinaria de esfuerzo antes y después del parto.

REFERENCIAS

1. Abrams P, Cardozo L, Fall M, Griffiths D, Roiser P, Ulmsten U, et al. The standardization of terminology of lower urinary tract function recommended by the ICS. *Neurourol Urodyn* 2002;21:167-78.
2. Morkved S, Bo K. Prevalence of urinary incontinence during pregnancy and postpartum. *Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunct* 1999;10:394-8.
3. Wilson PD, Herbison RM, Herbison GP. Obstetric practice and the prevalence of urinary incontinence three months after delivery. *Br J Obstet Gynaecol* 1996;103:154-61.
4. Kegel AH. Progressive resistance exercise in the functional restoration of the perineal muscles. *Am J Obstet Gynecol* 1948;56:238-48.
5. Brubaker L. Vaginal delivery and the pelvic floor. *Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunct* 1998;9:363-4.
6. Jonasson A, Larsson B, Pschera H. Testing and training of the pelvic floor muscles after childbirth. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1989;68:301-4.
7. Sampselle CM, Miller JM, Mims BL, Delancey JO, Ashton-Miller JA, Antonados CL. Effect of pelvic muscle exercise on transient incontinence during pregnancy and after birth. *Obstet Gynecol* 1998;91:406-12.
8. Morkved S, Bo K, Schei B, Salvesen KA. Pelvic floor muscle training during pregnancy to prevent urinary incontinence: a single-blind randomized controlled trial. *Obstet Gynecol* 2003;101:313-9.
9. Instituto Nacional de Perinatología. Normas y procedimientos de obstetricia y ginecología. Marketing y Publicidad de México, 1998.
10. Mouritsen L, Frimodt MC, Moller M. Long-term effect of pelvic floor exercises on female urinary incontinence. *Br J Urol* 1991;68:32.
11. Viktrup L, Lose G, Rolff M, Barfoed K. The symptom of stress incontinence caused by pregnancy or delivery in primiparas. *Obstet Gynecol* 1992;79:945-9.
12. Reilly ETC, Freeman RM, Waterfield MR, Waterfield AE, Steggles P, Pedlar F. Prevention of postpartum stress incontinence in primigravidae with increased bladder neck mobility: a randomised controlled trial of antenatal pelvic floor exercises. *Br J Obstet Gynaecol* 2002;109:68-76.
13. Lagro-Janssen TLM, Debruyne FMJ, Smits AJA. Controlled trial of pelvic floor exercises in the treatment of urinary stress incontinence in general practice. *Br J Gen Pract* 1991;41:445-500.
14. Nygaard IE. Non-operative management of urinary incontinence. *Curr Opin Obstet Gynecol* 1996;8:347-50.
15. Lagro-Janssen ALM, Debruyne FMJ, Van Weel C. Value of patient's case history in diagnosing urinary incontinence in general practice. *Br J Urol* 1991;67:569-72.
16. Morkved S, Bo K. The effect of postpartum pelvic floor muscle exercise in the prevention and treatment of urinary incontinence. *Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunct* 1997;8:217-22.
17. Morkved S, Bo K. Effect of postpartum pelvic floor muscle training in prevention and treatment of urinary incontinence: a one-year follow up. *Br J Obstet Gynaecol* 2000;107:1022-8.

A los cinco meses cumplidos, el **feto** mide 28 centímetros y pesa 320 gramos, y la **placenta** pesa 200 gramos. La altura del fondo uterino encima del pubis es de 16 centímetros. A los seis meses cumplidos, el **feto** mide 35 centímetros de largo y pesa 1,000 gramos; la **placenta** pesa 275 gramos. Altura del fondo uterino por encima del pubis: 20 centímetros.

Reproducido de: Fabre. Manual de obstetricia. Barcelona: Salvat Editores, 1941; p:19.

Valor de las características morfológicas del cuerpo polar como factor de predicción del desarrollo embrionario[‡]

Alberto Kably Ambe,* Julián Ruiz Anguas,* Esperanza Carballo Mondragón,* Leonor Durán Monterrosas*

RESUMEN

Objetivo: determinar la relación de calidad del cuerpo polar y del espacio perivitelino con las tasas de fertilización, segmentación y calidad embrionaria.

Tipo de estudio: prospectivo y descriptivo.

Material y métodos: se incluyeron 61 pacientes que ingresaron al programa de fertilización *in vitro* a quienes se aplicó la inyección intracitoplásmica de espermatozoides (ICSI) como método de inseminación. Se realizó hiperestimulación ovárica controlada con hormona foliculoestimulante recombinante. Cuatro a seis horas después de la captura se evaluaron los ovocitos con un microscopio invertido y se anotaron las características del cuerpo polar, del espacio perivitelino y de la zona pelúcida. Diecisiete horas después de la inyección intracitoplásmica de espermatozoides se verificó la fertilización. La segmentación se evaluó a las 48 y 72 horas. Se analizó el número de blastómeros y la calidad de los embriones antes de su transferencia. El análisis estadístico se realizó mediante la prueba de la ji al cuadrado.

Resultados: se evaluaron 883 ovocitos, de los cuales 43.8% tenían cuerpo polar morfológicamente normal, 54.9% espacio perivitelino normal y 6.9% zona pelúcida normal. El 57% de los ovocitos con cuerpo polar normal tuvo adecuada fertilización. Hubo fertilización en menos del 20% con cuerpo polar irregular o fragmentado. De manera similar, la segmentación embrionaria fue adecuada en 56.9% de los ovocitos con cuerpo polar normal, mientras que en los anormales fue menor del 20%. El 79% de los ovocitos con cuerpo polar fragmentado no desarrolló embrión. No se observaron diferencias significativas entre la fertilización, segmentación o calidad embrionaria y la zona pelúcida o el espacio perivitelino.

Conclusiones: la calidad ovocitaria influye de manera importante en la fertilización y desarrollo embrionario; sin embargo, el cuerpo polar es el parámetro que más se relaciona con la fertilización y segmentación entre de las variables que se determinan en un ovocito antes de la inyección intracitoplásmica de espermatozoides.

Palabras clave: cuerpo polar, desarrollo embrionario.

ABSTRACT

Objective: To determine the relation between polar body quality and perivitelline space with fertilization and segmentation rates and embryo quality.

Study: Prospective and descriptive.

Material and methods: Sixty-one patients underwent the *in vitro* fertilization and embryo transfer program (IVF-ET). The intracytoplasmic sperm-injection (ICSI) was applied for insemination. Controlled ovarian hyperstimulation was made with recombinant FSH. Oocytes were evaluated 4-6 hours after retrieval and polar body, perivitelline space, and pellucid zone were assessed too. Fertilization was evaluated 17 hours after ICSI, and segmentation rates were analyzed at 48 and 72 hours. The number of blastomeres and quality of each embryo was assessed prior transference. Statistical analysis was done with χ^2 test.

Results: We evaluated 883 oocytes, of which 43.8% had a normal polar body, 54.9% had a normal perivitelline space, and 6.9% a normal pellucid zone; 57% of retrieved oocytes with normal polar body developed an adequate fertilization rate, and oocytes with abnormal polar body had fertilization in less than 20%. Embryo cleavage was adequate in oocytes with normal polar body, in the abnormal oocytes was less than 20%, and 79% of the oocytes with fragmented polar body did not developed in embryo. There were not significant differences in fertilization rates and segmentation when compared with the pellucid zone and perivitelline space.

Conclusions: Oocyte quality has a great influence on fertilization and embryo development. One of the most important variables is the polar body quality, which correlates adequately with fertilization and embryo cleavage.

Key words: polar body, embryo development.

SOMMAIRE

Objectif : déterminer la relation de qualité du globule polaire et de l'espace péri-vitellin avec les taux de fertilisation, segmentation et qualité embryonnaire.

Type d'étude : prospective et descriptive.

Matériel et méthodes : on a inclus 61 patientes qui sont entrées au programme de fertilisation *in vitro* et on leur a appliqué l'injection intra-cytoplasmique de spermatozoïdes (ICSI) comme méthode d'insémination. On a réalisé hyper-stimulation ovarienne contrôlée avec hormone folliculo-stimulante recombinante. De quatre à six heures après la capture on a évalué les ovocytes avec un microscope inversé et on a pris note des caractéristiques du globule polaire, de l'espace péri-vitellin et de la zone pellucide. Dix-sept heures après l'injection intra-cytoplasmique de spermatozoïdes on a vérifié la fertilisation. La segmentation s'est évaluée aux 48 et 72 heures. On a analysé le nombre de blastomères et la qualité des embryons avant leur transfert. L'analyse statistique s'est effectuée moyennant le test du chi carré.

Résultats : on a évalué 883 ovocytes, dont 43.8% avaient globule polaire morphologiquement normal, 54.9% espace péri-vitellin normal et 6.9% zone pellucide normale. Le 57% des ovocytes avec globule polaire normal a eu une fertilisation adéquate. Il y a eu fertilisation dans moins du 20% avec globule polaire irrégulier ou fragmenté. Pareillement, la segmentation embryonnaire a été adéquate dans 56.9% des ovocytes avec globule polaire normal, tandis que dans les anormaux elle a été mineure à 20%. Le 79% des ovocytes avec globule polaire fragmenté n'a pas développé d'embryon. On n'a pas observé des différences significatives entre la fertilisation, segmentation ou qualité embryonnaire et la zone pellucide ou l'espace péri-vitellin.

Conclusions : la qualité ovocytaire influe de manière importante sur la fertilisation et le développement embryonnaire ; cependant, le globule polaire est le paramètre qui le plus se rattache avec la fertilisation et segmentation parmi les variables qui sont déterminées dans un ovocyte avant l'injection intra-cytoplasmique de spermatozoïdes.

Mots-clé : globule polaire, développement embryonnaire.

Entre los programas de reproducción asistida hay diversas variables implicadas en las tasas de éxito, las cuales deben controlarse de manera adecuada. Al parecer, la calidad ovocitaria¹ es uno de los factores que influyen directamente en las tasas de fertilización para lograr embriones adecuados.

Se demostró que durante el protocolo de estimulación ovárica en programas de fertilización *in vitro* debe monitorizarse el desarrollo folicular a fin de obtener una cohorte ovocitaria lo más homogénea posible, así como ovocitos maduros y de buena calidad.²

Con la introducción y el establecimiento de la inyección intracitoplasmática de espermatozoides en reproducción asistida se observa mejoría en las tasas de fertilización e implantación en parejas con infertilidad inexplicable, incluso en casos con factor masculino gravemente afectado.³

Sin embargo, aun dentro de los procedimientos de micromanipulación de gametos que aumentan las posibilidades de éxito en estos programas, la calidad y madurez del ovocito son variables que influyen en los

resultados. Hay controversias en este aspecto, ya que algunos autores como Xia y colaboradores reportaron que existe una correlación directamente proporcional entre la calidad ovocitaria (características del cuerpo polar) y el espacio perivitelino (tasas de fertilización y calidad embrionaria).⁴ Algunos autores, como De Sutter o Balaban, no encontraron relación entre la morfología de los ovocitos y las tasas de fertilización o de embarazo.^{5,6}

Algunos estudios demostraron que durante la estimulación ovárica los embriones de buena calidad dan lugar al desarrollo folicular y ovocitario adecuados; sin embargo, éste puede verse influido de manera negativa por episodios apoptóticos en las células de los cúmulos que son independientes del protocolo de estimulación.

Host y colaboradores⁷ señalaron que existe mayor incidencia de apoptosis en los ovocitos inmaduros en estadio de vesícula germinal o con falla en la fertilización.

Pompemayer y su equipo reportaron que la buena calidad de los ovocitos al momento de la captura se vincula con el buen desarrollo embrionario que se evalúa en el día tres postcaptura.⁸

Se menciona que incluso 9% de los ovocitos sufren daño mecánico importante durante la micromanipulación de gametos. Si se aplica la inyección intracitoplásmica de espermatozoides en óvulos de mala calidad, el resultado será embriones alterados con bajas posibilidades de implantación. Por ende, en la evaluación del ovocito se propone incluir el cuerpo polar y sus características, así como el espacio perivite-

‡ Este trabajo obtuvo el tercer lugar de investigación clínica en el 55 Congreso Mexicano de Ginecología y Obstetricia.

* Centro Especializado para la Atención de la Mujer, Hospital Ángeles de las Lomas.

Correspondencia: Dr. Alberto Kably Ambe. Centro Especializado para la Atención de la Mujer, Hospital Ángeles de las Lomas. Vialidad de la Barranca s/n, col. Valle de las Palmas, CP 57763.

La versión completa de este artículo también está disponible en internet: www.revistasmedicasmexicanas.com.mx

lino o la demostración de gránulos citoplasmáticos. Se plantea, por ejemplo, que la simetría del cuerpo polar es uno de los principales parámetros de evaluación morfológica del ovocito.¹

En el análisis de la evolución del cuerpo polar deben tomarse en cuenta los siguientes factores: el primer cuerpo polar aparece entre 36 y 44 horas posteriores a la aplicación de la gonadotropina coriónica humana, la cual simula el pico de la hormona luteinizante. Dicho cuerpo polar se desintegra alrededor de 20 horas después. La detección de extrusión tardía, la fragmentación temprana, el tamaño o la simetría anormal indican la mala calidad ovocitaria y, en consecuencia, el mal pronóstico del desarrollo embrionario.^{8,9}

Los estudios recientes tratan de catalogar al cuerpo polar como un parámetro pronóstico para tasas de fertilización y embarazo. Ebner y colaboradores observaron que los ovocitos calidad 1 (buena calidad), en relación con el cuerpo polar, tenían fertilización de 89.1 y 89% de embriones buenos; en comparación con 50 y 4% observados en los ovocitos de mala calidad.¹ Un estudio realizado por el mismo autor en 1999 reportó que los óvulos con cuerpo polar de buena calidad registraban tasas de embarazo del 47.4%, comparado con 14.3% de los de mala calidad.⁹ Con el fin de conocer la relación de calidad del cuerpo polar y del espacio perivitelino con las tasas de fertilización, tasas de segmentación y calidad embrionaria se decidió realizar un estudio retrospectivo en la unidad de reproducción asistida del Centro Especializado para la Atención de la Mujer.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se incluyeron 61 pacientes que ingresaron al programa de fertilización *in vitro* y se les aplicó inyección intracitoplásmica de espermatozoides entre enero y diciembre del 2003. Los criterios de no inclusión fueron los siguientes: pacientes en las que se canceló el ciclo por falta de desarrollo folicular o en las que no se realizó captura de ovocitos. Se inició con hiperestimulación ovárica controlada con FSH recombinante (Gonal F®, Serono, México) al tercer día del ciclo menstrual. Se realizó monitoreo con ultrasonido endovaginal, transductor de 5 Mhz (Aloka SSD 1100.

Aloka, Japón) y determinaciones de hormona luteinizante. Al observar tres o más folículos de 18 mm, se aplicó hCG recombinante a 250 mcg (Ovidrel®, Serono, México) para inducir la maduración final de los ovocitos. Se programó la captura ovocitaria 36 horas después, la cual se efectuó con guía ultrasonográfica y sedación intravenosa con propofol a razón de 100 mg/kg.

Las muestras seminales se obtuvieron por masturbación y se dejaron licuar de 15 a 30 minutos. Éstas se analizaron para densidad y movilidad con la cámara de Mackler. Para la morfología se utilizó el criterio estricto de Kruger.

La preparación seminal se realizó con la técnica de *swim-up* en medio HTF-M (adicionado con 7.5% de suero sintético).

Entre 4 y 6 horas después de la captura ovocitaria se eliminaron las células del cumulus con hialuronidasa (CooK, Sydney) durante 10 segundos y se enjuagaron en medio de lavado (HTF-M adicionado con 10% de suero sintético).

Los ovocitos se evaluaron en microscopio invertido y se separaron los MII para aplicar la inyección. Luego, se colocaron en gotas individuales para la inyección intracitoplásmica del espermatozoide y se anotaron sus características: zona pelúcida, espacio perivitelino, citoplasma (vacuolas, granulación) y cuerpo polar.

Para la evaluación del cuerpo polar se tomó en cuenta el número de cuerpos, el tamaño, la forma y la fragmentación. Se evaluó si el aspecto del espacio perivitelino era normal o irregular. Asimismo, se valoró el grosor y la morfología de la zona pelúcida.

Después de la inyección, los ovocitos se colocaron en medio de crecimiento (P1 adicionado con 10% de suero sintético). A las 17 horas posteriores a la inyección se verificó la fertilización. Los embriones se analizaron en función de la presencia de 1, 2 ó más pronúcleos, o si los ovocitos se encontraban degenerados sin fertilizar. La segmentación se valoró a las 48 y 72 horas posteriores a la inyección de espermatozoides.

En relación con el número de blastómeras del embrión, al día tres se les dividió en: preembriones con menos de cuatro blastómeras; preembriones entre 4 y 8 y de 9 a 12 blastómeras y embriones que llegaron a la etapa de blastocisto.

La calidad de los embriones se basó en el número y simetría de las blastómeras, así como en el porcentaje

de fragmentos en su interior. Se catalogaron como excelentes, buenos, regulares y degenerados.

Se realizó análisis estadístico con el programa SPSS 10.0 para Windows (Microsoft Co., USA) y se utilizó la prueba de la ji al cuadrado.

RESULTADOS

Se evaluaron 883 ovocitos obtenidos por aspiración folicular con guía ultrasonográfica, en 61 pacientes que ingresaron a un programa de fertilización *in vitro*. Después de retirar las células del cumulus con hialuronidasa se evaluó el aspecto morfológico del óvulo, en relación con las características del cuerpo polar, espacio perivitelino y zona pelúcida.

Al realizar el análisis descriptivo de los datos, se observó que 43.8% de los ovocitos tenían cuerpo polar morfológicamente normal, 54.9% espacio perivitelino normal y 69% con zona pelúcida normal (figuras 1, 2 y 3).

Al comparar las características del cuerpo polar con la tasa de fertilización, se observó que 57% de los ovocitos con cuerpo polar normal tuvo una adecuada fertilización. Hubo fertilización en menos del 20% con cuerpo polar irregular o fragmentado ($p = 0.0001$). Por lo que se refiere al cuerpo polar fragmentado, 37% de los ovocitos se observaron degenerados después de revisar la fertilización (cuadro 1).

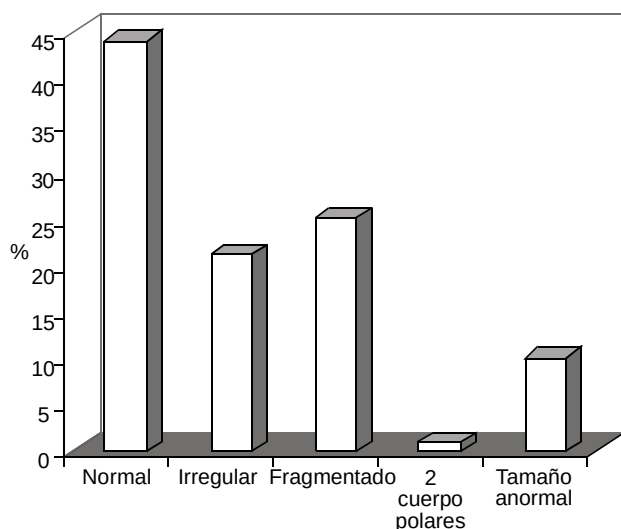


Figura 1. Características del cuerpo polar.

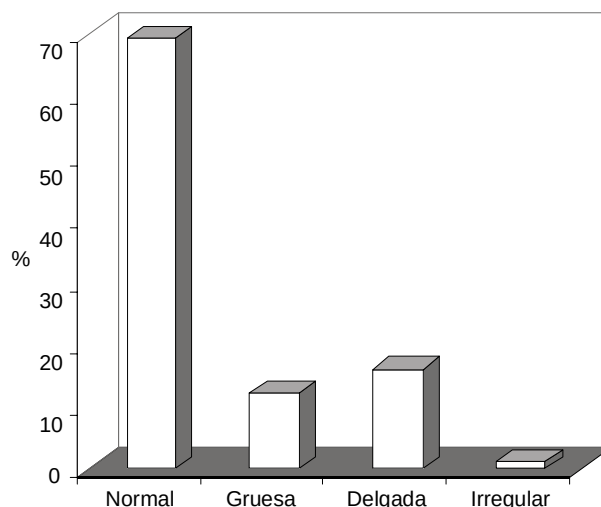


Figura 2. Características de la zona pelúcida.

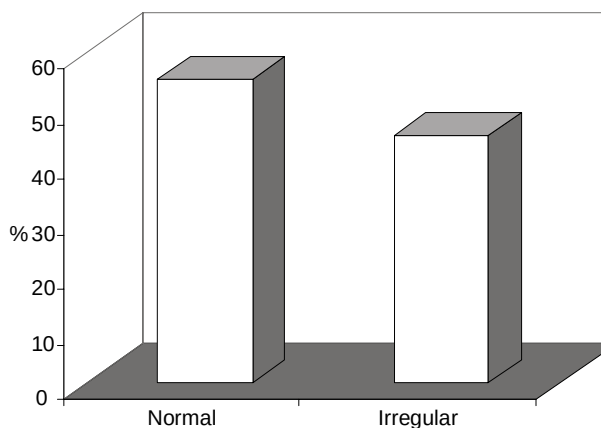


Figura 3. Características del espacio perivitelino.

Al comparar los resultados de la segmentación en relación con las características del cuerpo polar, se observó que ésta era adecuada en 56.9% de los ovocitos que tenían cuerpo polar normal, en comparación con 20 y 10% de los que lo tenían irregular o fragmentado. Los datos fueron estadísticamente significativos (cuadro 2).

Con respecto a la calidad de los ovocitos analizados en función de la morfología del cuerpo polar, se observaron diferencias estadísticamente significativas en los embriones provenientes de óvulos con cuerpo polar fragmentado, de los cuales 79% no se desarrolló. Se observaron embriones de excelente calidad cuando el cuerpo polar era morfológicamente normal (cuadro 3).

Cuadro 1. Fertilización de acuerdo con características del cuerpo polar

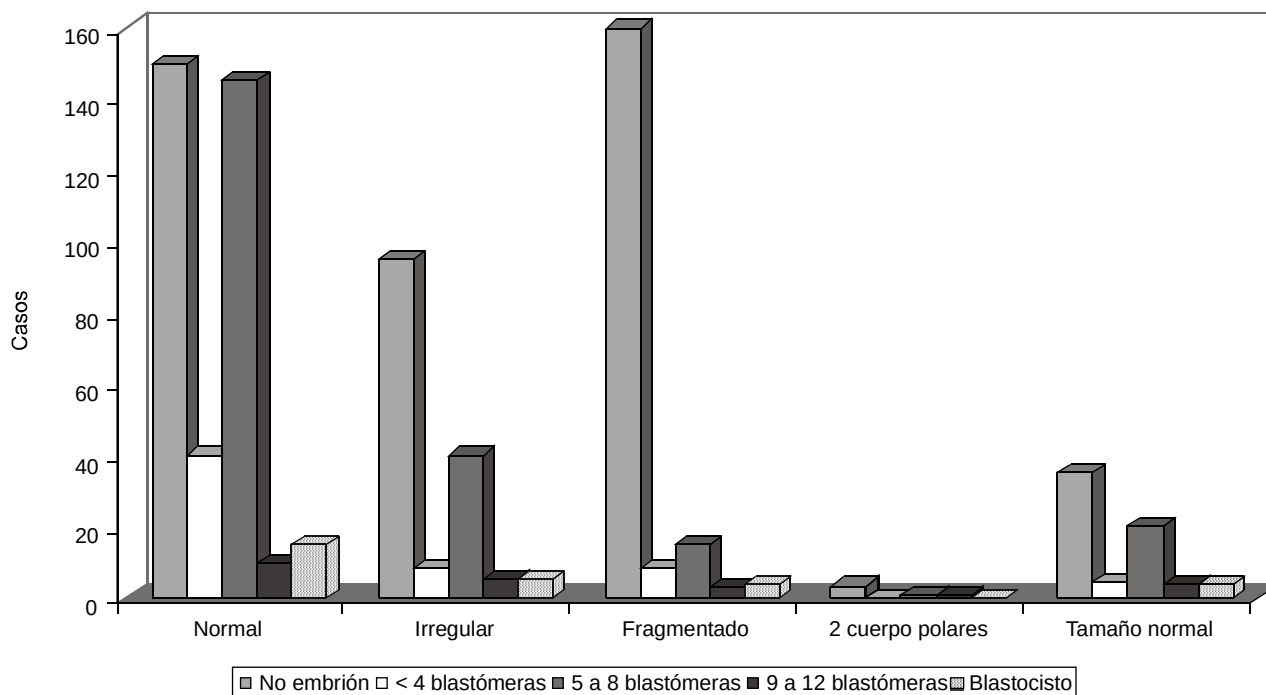
	<i>Cuerpo polar normal</i>	<i>Cuerpo polar irregular</i>	<i>Cuerpo polar fragmentado</i>	<i>Cuerpo polar con tamaño anormal</i>	<i>Valor p</i>
Sin fertilización	48 (32.7%)	33 (22.4%)	53 (36.1%)	11 (7.5%)	p = 0.001
1 pronúcleo	11 (45.8%)	0	9 (37.5%)	4 (16.7%)	
Buena fertilización	225 (57.1%)	79 (19.3%)	42 (10.7%)	47 (11.9%)	
3 o más pronúcleos	5 (35.7%)	3 (21.4%)	6 (42.9%)	0	p = 0.001
Degenerados	76 (29.9%)	60 (23.6%)	95 (37.4%)	21 (8.3%)	

Cuadro 2. Segmentación de acuerdo con características del cuerpo polar

	<i>Normal Núm. (%)</i>	<i>Irregular Núm. (%)</i>	<i>Fragmentado Núm. (%)</i>	<i>Dos cuerpos polares Núm. (%)</i>	<i>Tamaño anormal Núm. (%)</i>	<i>Valor p</i>
Sin segmentación	141 (32.2)	97 (22.1)	160 (36.5)	5 (1.1)	35 (8)	p = 0.001
Bloqueado	79 (56.4)	24 (17.1)	18 (12.9)	0	19 (13.6)	
Buena segmentación	145 (56.9)	51 (20)	27 (10.6)	3 (1.2)	29 (11.4)	

Cuadro 3. Calidad ovocitaria en relación con el cuerpo polar

	<i>Normal Núm. (%)</i>	<i>Irregular Núm. (%)</i>	<i>Fragmentado Núm. (%)</i>	<i>Dos cuerpos polares Núm. (%)</i>	<i>Tamaño anormal Núm. (%)</i>	<i>Valor p</i>
No desarrollo de embrión	144 (39.5)	98 (57.0)	162 (79.0)	5 (62.5)	35 (42.2)	p = 0.001
Excelente	98 (26.8)	38 (22.1)	16 (7.8)	1 (12.5)	25 (30.1)	
Bueno	91 (24.9)	26 (15.1)	18 (8.8)	2 (25.0)	16 (19.3)	
Regular	24 (6.6)	6 (3.5)	6 (2.9)	0	5 (6.0)	
Degenerado	7 (1.9)	4 (2.3)	3 (1.5)	0	2 (2.4)	

**Figura 4.** Número de blastómeras del embrión en función del cuerpo polar.

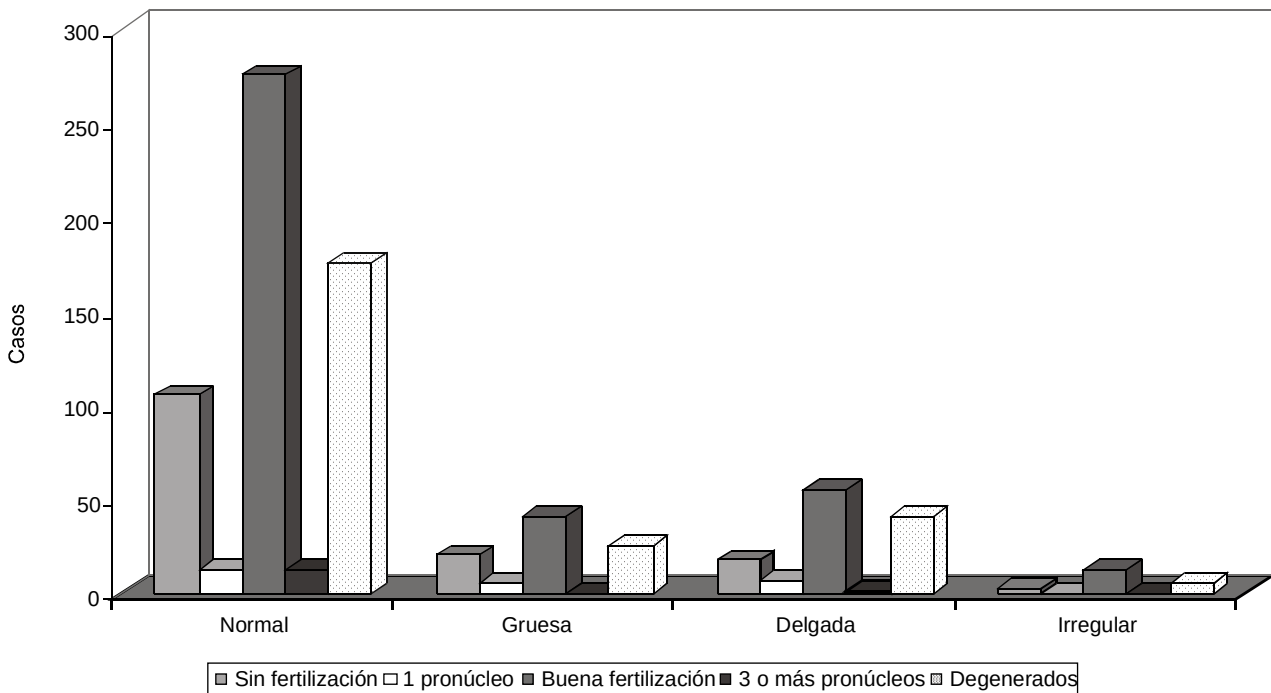


Figura 5. Tasas de fertilización de acuerdo con las características de la zona pelúcida.

Cuadro 4. Segmentación embrionaria en función de la zona pelúcida

	Sin segmentación Núm. (%)	Bloqueado Núm. (%)	Buena segmentación Núm. (%)
Normal	300 (52.2)	95 (16.5)	180 (31.3)
Gruesa	55 (53.9)	14 (13.7)	33 (32.4)
Delgada	73 (56.2)	24 (18.5)	33 (25.4)
Irregular	8 (34.8)	7 (30.4)	8 (34.8)

En cuanto a la correlación entre el número de blastómeras del embrión, no existieron diferencias significativas, sólo cierta tendencia a observar embriones de 5 a 8 blastómeras al día tres, en ovocitos con cuerpo polar normal (figura 4). Al analizar las tasas de fertilización en relación con las características de la zona pelúcida, se observó que cuando ésta fue morfológicamente normal, 69.7% de los ovocitos tuvieron fertilización adecuada; comparado con 11, 15 y 3% cuando la zona fue gruesa, delgada o irregular. Hubo una diferencia estadísticamente significativa (figura 5).

Al evaluar las tasas de segmentación, no hubo diferencias significativas cuando se compararon los

ovocitos en la calidad de su zona pelúcida (cuadro 4).

Al considerar el número de blastómeras y la calidad del embrión, no se detectaron diferencias significativas en la calidad de la zona pelúcida.

No se encontraron diferencias significativas entre las tasas de fertilización, segmentación y calidad embrionarias y la zona pelúcida o el espacio perivitelino (figuras 6, 7 y 8).

COMENTARIO

En los programas de reproducción y micro-manipulación de gametos es importante obtener ovocitos de buena calidad para evitar un posible daño mecánico durante la inyección intracitoplasmática de espermatozoides que pudiera afectar de manera sustancial la fertilización, segmentación e implantación del embrión.

La calidad ovocitaria se evaluó de manera integral, puesto que se consideraron el cuerpo polar, el espacio perivitelino o la zona pelúcida y el citoplasma. Con base en esto se pudo calificar al ovocito.

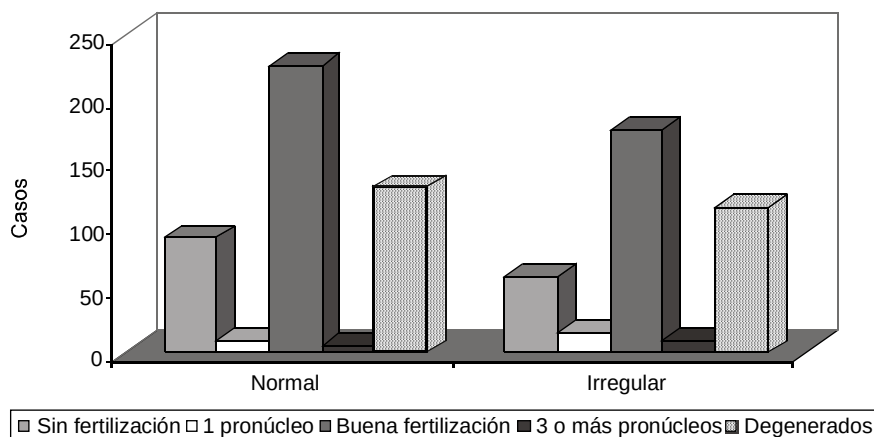


Figura 6. Fertilización ovocitaria en función de la morfología del espacio perivitelino.

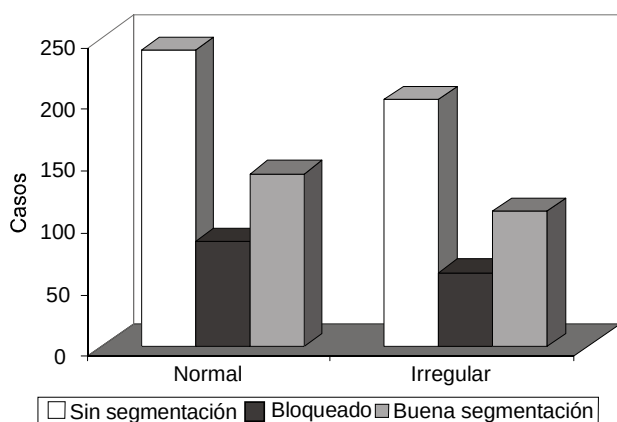


Figura 7. Segmentación de acuerdo con la morfología del espacio perivitelino.

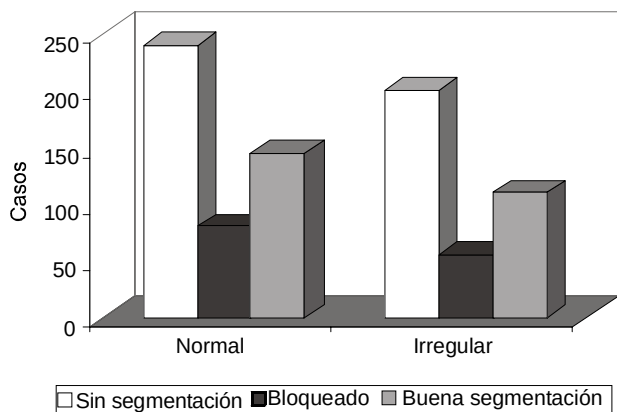


Figura 8. Calidad embrionaria de acuerdo con la morfología del espacio perivitelino.

En la actualidad, algunos autores, como Ebner y colaboradores, postulan la evaluación del cuerpo polar como un parámetro importante para predecir tasas de desarrollo embrionario adecuado, así como el embarazo.¹ En este estudio se observó que el cuerpo polar guardó relación con las tasas de fertilización y segmentación embrionarias, ya que 57.1% de los ovocitos morfológicamente normales tuvieron buena fertilización, en comparación con los que tenían morfología anormal (forma, tamaño o fragmentación). Sólo 20% logró fertilizarse a través de inyección intracitoplasmática de espermatozoides. Lo mismo sucedió con la segmentación, se observó que 56.9% de los ovocitos con cuerpo polar normal se desarrollaron de manera adecuada. Por lo que se refiere a la calidad embrionaria y al número de células del embrión valorado en el día tres, se observó mejor calidad y un número de blastómeras adecuadas (entre cinco y ocho) en los ovocitos con cuerpo polar normal, aunque sin haber diferencia significativa. Estos datos coinciden con los pocos estudios reportados en la bibliografía por Ebner o Pompermayer.^{1,9}

Al comparar las tasas de fertilización con las características de la zona pelúcida, se observó que los ovocitos con zona pelúcida normal eran proclives a una adecuada fertilización (dos pronúcleos), en comparación con los que tenían alteraciones en dicha zona. Estas diferencias fueron estadísticamente significativas. Sin embargo, no hubo diferencias importantes en los parámetros de segmentación,

calidad del embrión y número de blastómeras. No se encontró ninguna desigualdad o relación estadística en el espacio perivitelino con las variables ya mencionadas.

Con base en los resultados obtenidos en este estudio, se concluye que la calidad ovocitaria influye de manera importante en la fertilización y desarrollo embrionario; sin embargo, el cuerpo polar es el parámetro que más se relaciona con la fertilización y segmentación en las variables que se determinan en un ovocito antes de la inyección intracitoplasmática de espermatozoides. El simple hecho de evaluar el cuerpo polar en los ovocitos puede ayudar a la selección de los mismos y a reconocer a los que son más aptos o adecuados para realizar la inyección intracitoplasmática de espermatozoides.

REFERENCIAS

1. Ebner T, Yaman C, Moser M, Sommergruber, Feichtinger O, Tews G. Prognostic value of first polar body morphology on fertilization rate and embryo quality in intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod* 2000;15:427-30.
2. Smith SD, Mikkelsen AL, Lindenberg S. Development of human oocytes matured in vitro for 28 or 36 hours. *Fertil Steril* 2000;73:541-44.
3. Palermo G, Joris H, Devroey P. Pregnancies after intracytoplasmic injection of single spermatozoon into an oocyte. *Lancet* 1992;340:17-23.
4. Xia P. Intracytoplasmic sperm injection: correlation of oocyte grade based on polar body, perivitelline space and cytoplasmic inclusions with fertilization rate and embryo quality. *Hum Reprod* 1997;12:1750-55.
5. De Sutter P, Dozortsev D, Qian C. Oocyte morphology does not correlate with fertilization rate and embryo quality after intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod* 1996;11:595-97.
6. Balaban B, Urman B, Sertac A. Oocyte morphology does not affect fertilization rate, embryo quality and implantation rate after intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod* 1996;13:3431-33.
7. Host E, Gabrielsen A, Lindenberg S, Sridt-Jensen S. Apoptosis in human cumulus cells in relation to zona pellucida thickness variation, maturation stage, and cleavage of the corresponding oocyte after intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril* 2002;77:1-5.
8. Pompermayer AL, Meyer M L, Lamaita RM, Mello MR, Junqueira JP. Correlacao entre morfologia do oócito e desenvolvimento embrionário: proposta de escore para qualidades oocitárias. *Hum Reprod FLASEF* 2003;3:19-24.
9. Ebner T, Moser M, Yaman C. Elective transfer of embryos selected on the basis of first polar body morphology is associated with increased rates of implantation and pregnancy. *Fertil Steril* 1999;72:599-603.

Salvo indicaciones particulares, el destete lento y progresivo será preferido al destete brusco. En todos los casos, la leche materna será reemplazada, no inmediatamente, como se hace con demasiada frecuencia, por sopas, sino por biberones de leche de vaca que substituirán poco a poco cada una de las tetadas.

Solamente después de la substitución completa de la leche materna por leche de vaca se reemplazará primero uno, después dos de los biberones por una pequeña sopa muy clara de harina con leche, y después cada vez más espesa. Las harinas deben ser variadas y sin cacao y se emplearán a este fin la crema de arroz, la crema de cebada, la crema de avena, la harina amarilla, la harina blanca, la harina de bananas, etc.

Reproducido de: Fabre. Manual de obstetricia. Barcelona: Salvat Editores, 1941; p:332.

Papel de los estrógenos en el soporte de la fase lútea en ciclos de fertilización *in vitro* con transferencia de embriones[‡]

Fernando Cecilio Paredes Chávez,* Juan Carlos Barros Delgadillo,** Senia Suyapa Ochoa Rueda,* Gerardo Barroso Villa,*** Sergio Villalobos Acosta,** Víctor Sánchez Solís,** Mauricio Osorio Caballero,** Fernando Gaviño Gaviño****

RESUMEN

Objetivo: evaluar la efectividad del uso de estradiol en la fase lútea y describir el comportamiento de éste y la progesterona en la fase lútea en ciclos de reproducción asistida.

Material y método: se incluyeron pacientes a las que se les realizó fertilización *in vitro* y transferencia de embriones (FIV-TE) con estimulación ovárica controlada y se empleó el protocolo largo de análogo de la hormona liberadora de gonadotropinas. Éstas se dividieron en dos grupos al azar, uno de progesterona y otro de estrógeno y progesterona. Se realizaron tomas de estrógeno y progesterona séricas a los 7 y 14 días postransferencia.

Resultados: se examinaron 52 pacientes, 24 recibieron progesterona sola y 28 progesterona y estrógenos. Las concentraciones de estradiol y progesterona al día 14 fueron significativamente más altas en las embarazadas. No hubo diferencia significativa en el día siete. El incremento de estradiol del día 7 al 14 fue significativamente mayor en las pacientes tratadas con estrógenos más progesterona; el incremento de progesterona no fue significativo. El número de embarazos fue el mismo en ambos grupos de estudio.

Conclusiones: no hubo ventaja con la administración de estradiol como soporte de la fase lútea en pacientes bajo fertilización *in vitro* con transferencia de embriones. El estradiol y la progesterona en el día siete no fueron factores de predicción adecuados de embarazo.

Palabras clave: soporte, fase lútea, estradiol, progesterona.

ABSTRACT

Objective: To evaluate the effectiveness of estradiol administration for luteal phase support and to describe the progesterone and estradiol behavior *in vitro* fertilization-embryo transfer luteal phase.

Material and methods: Patients undergoing *in vitro* fertilization-embryo transfer with controlled ovarian hyperstimulation and using gonadotropin releasing hormone agonist. They were divided at random into two groups: group 1 would receive progesterone alone, and group 2 would take estrogen and progesterone. Serum concentrations of estradiol and progesterone were measured on days 7 and 14 post-embryo transfer.

Results: We examined 52 patients; 24 received progesterone alone and 28 took estrogen and progesterone. Significantly higher estradiol and progesterone concentrations on day 14 were found in pregnant women. It was not on day 7. A significant increment of estrogen was found in the estrogen and progesterone group. Progesterone did not increase significantly. Pregnancy rate was the same in both groups.

Conclusions: For patients undergoing *in vitro* fertilization-embryo transfer, the addition of estradiol to the progesterone support regimen does not have beneficial effects in terms of pregnancy rate. On day 7 neither progesterone nor estradiol are good predictors of pregnancy.

Key words: luteal phase support, estrogen, progesterone.

SOMMAIRE

Objectif : évaluer l'effectivité de l'usage d'œstradiol dans la phase lutéale et décrire le comportement de celui-ci et de la progestérone dans la phase lutéale dans des cycles de reproduction assistée.

Matériel et méthode : on a inclus des patientes dans lesquelles on a réalisé fertilisation *in vitro* et transfert d'embryons (FIV-TE) avec stimulation ovarienne contrôlée et l'on a utilisé le protocole long d'analogue de l'hormone libératrice de gonadotrophines. Celles-là se sont divisées au hasard dans deux groupes, l'un de progestérone et l'autre d'œstrogène et progestérone. On a fait des prises d'œstrogène et progestérone sériques aux 7 et 14 jours post-transfert.

Résultats : on a examiné 52 patientes, 24 ont reçu progestérone seule et 28 progestérone et œstrogènes. Les concentrations d'œstradiol et progestérone au jour 14 ont été significativement plus hautes chez les femmes enceintes. Il n'y a pas eu de différence



importante au jour 7. L'incrément d'œstradiol du jour 7 au 14 a été significativement majeur chez les patientes traitées avec oestrogènes plus progestérone, l'incrément de progestérone n'a pas été significatif. Le nombre de grossesses a été le même dans les deux groupes d'étude.

Conclusions : il n'y a pas eu d'avantage avec l'administration d'œstradiol comme support de la phase lutéale dans des patientes sous fertilisation *in vitro* avec transfert d'embryons. Au jour 7, l'œstradiol et la progestérone n'ont pas été des facteurs de prédiction adéquats de grossesse.

Mots-clé : support, phase lutéale, oestradiol, progestérone.

A mediados de 1980, con la incorporación de los agonistas de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRHa) a los protocolos para hiperestimulación ovárica controlada en fertilización *in vitro* con transferencia de embriones (FIV-TE), además de otras técnicas de reproducción asistida, los resultados mejoraron significativamente. Si bien estos medicamentos son útiles, también tienen efectos no deseables, principalmente en la fase luteínica por una luteolisis prematura con rescate inadecuado del cuerpo lúteo.¹ Este deterioro puede deberse al efecto del agonista y a otros factores. Las causas probables son: 1) el agonista ocasiona supresión de la secreción hipofisiaria de la hormona luteinizante (LH) durante 10 días aproximadamente, e incluso se menciona de 2 a 3 semanas después de su última dosis. Sin la señal de la hormona luteinizante, el cuerpo lúteo es disfuncional y, por ende, la secreción de estrógeno y progesterona se altera. 2) La remoción de grandes cantidades de células de la granulosa al momento de la captura de ovocitos, que son la fuente más importante de síntesis de progesterona por el cuerpo lúteo, además de un probable daño en la vascularización del cuerpo lúteo alteran la acción de la gonadotropina coriónica humana en su órgano blanco. 3) Las concentraciones suprafisiológicas de esteroides durante la fase lútea

temprana, secundarios a la estimulación ovárica, pueden inhibir la liberación de la hormona luteinizante debido a una retroalimentación negativa en el eje hipotálamo hipofisiario.^{3 4} Es posible que el agonista de la hormona liberadora de gonadotropinas actúe directamente en el ovario y afecte la actividad de la aromatasa en las células de la granulosa estimulada por la hormona foliculostimulante (FSH), o por la modulación de otras hormonas esteroideogénicas. 5) Falta de rescate del cuerpo lúteo, ya que la supervivencia de éste depende de la hGC del trofoblasto, si se toma en cuenta que la función hipofisiaria está suprimida toda la fase lútea, y que los embriones se implantan de manera tardía sin lograr rescatar el cuerpo lúteo.⁴ Con la intención de compensar esta alteración, se emplean complementos para la fase lútea como la hGC intramuscular y progesterona en sus diversas vías de administración (intramuscular, oral, vaginal, tópica⁵). Su administración es de gran importancia en ciclos con hiperestimulación ovárica controlada, así como la utilización de GnRHa pues el RR para el porcentaje de embarazo clínico y para embarazo en curso, en comparación con el placebo, es de 2.38 y 3.8, respectivamente. Esto demuestra, de manera contundente, que la administración de progesterona en ciclos con hiperestimulación ovárica controlada bajo supresión con GnRHa es necesaria para la luteolisis prematura y la disminución importante de la esteroideogénesis del cuerpo lúteo concomitante.² Las vías de administración más utilizadas son la vía vaginal y la intramuscular, éstas son igualmente efectivas;¹ sin embargo, la vía intramuscular es la que más se prefiere.² Existe controversia de si realmente es necesaria la administración de estrógeno exógeno añadido a la progesterona y si esta combinación es más efectiva que la utilización de progesterona sola, ya que se demostró que el estradiol es necesario en la fase folicular como preparación para la maduración por parte de la progesterona en la fase lútea. Sin embargo, no está establecido que dicha hormona sea útil en la fase lútea, motivo por el cual se

‡ Este trabajo obtuvo el tercer lugar de investigación clínica en el 55 Congreso Mexicano de Ginecología y Obstetricia.

* Residente de segundo año de biología de la reproducción humana.

** Adscrito al servicio de reproducción asistida.

*** Jefe del servicio de reproducción asistida.

**** Subdirector del servicio de biología de la reproducción humana.
Instituto Nacional de Perinatología.

Correspondencia: Dr. Fernando Cecilio Paredes Chávez. Servicio de biología de la reproducción humana, Instituto Nacional de Perinatología. Montes Urales 800, col. Lomas de Chapultepec, CP 11000, México, DF.

La versión completa de este artículo también está disponible en internet: www.revistasmedicasmexicanas.com.mx

han realizado varios estudios con resultados diversos. Lewin y colaboradores,⁶ junto con Smitz y su equipo,⁴ no mostraron mejoría con la utilización de estrógeno concomitante; en cambio Farhi, colaboradores⁷ y Causio⁸ sí encontraron mejoría en los resultados. Dada la falta de uniformidad en los criterios e indicaciones para la prescripción de estrógenos en soporte de fase lútea y la falta de bibliografía al respecto, en este estudio se compararán los resultados del protocolo de progesterona sola en contra de estradiol más progesterona, además del comportamiento bioquímico que tienen ambas intervenciones.

OBJETIVO

Demostrar la efectividad de los estrógenos en el soporte de la fase lútea y describir el comportamiento de las concentraciones de éstos y de la progesterona durante la fase lútea en los ciclos de reproducción asistida.

MATERIAL Y MÉTODO

Selección de pacientes y ciclos

Se incluyeron de manera prospectiva 52 pacientes que realizaron igual número de ciclos de fertilización *in*

vitro con transferencia de embriones durante un periodo de cinco meses (enero a mayo del 2004). Las indicaciones para FIV- TE incluyeron los siguientes diagnósticos: factor tuboperitoneal, endocrino-ovárico, masculino, de causa no determinada y mixto cuando la pareja tenía más de un factor alterado. También se analizó la presencia o no de endometriosis, aunado a los factores antes mencionados. Su diagnóstico se dividió en clase I-II o clase III-IV (cuadro 1).

Las pacientes se dividieron al azar en dos grupos para el soporte de la fase lútea. El grupo I sólo recibió progesterona y el grupo II progesterona más 17- β estradiol, como se describe en la sección de soporte de fase lútea.

Protocolo de estimulación ovárica

Debido a que los procedimientos de fertilización *in vitro* con transferencia de embriones se realizan por ciclos, y con el fin de ciclar a las pacientes para conseguir una fecha de menstruación similar en ellas, se les recetó un anovulatorio oral de norgestrel de 0.50 mg y etinilestradiol de 0.05 mg por tableta (Ovral, Wyeth, Canadá). A todas las pacientes se les indicó el protocolo largo de agonista de GnRH, acetato de leuprolide (AL) (Lucrin Solución Kit, Abbott, EUA). Se inició con la administración subcutánea de 1 mg / día por un mínimo

Cuadro 1. Características de los ciclos de los dos grupos de tratamiento

Variable	Grupo 1	Grupo 2	p
Núm. de pacientes	24	28	
Núm. de ciclos	24	28	
Edad (X $\pm$ DE)	33.6 $\pm$ 3.7	34.3 $\pm$ 3.4	0.469
Factor alterado (%)			
Tuboperitoneal	9 (17)	20 (39)	0.0417*
Endocrino-ovárico	3 (6)	1 (2)	
Masculino	7 (13)	7 (13)	
No establecido	3 (6)	0	
Mixto	2 (4)	0	
Endometriosis			0.7543
Sin endometriosis	16 (30.76)	19 (36.53)	
Grado I-II	5 (9.61)	4 (7.69)	
Grado III-IV	3 (5.76)	5 (9.61)	
Tipo de infertilidad (%)			0.1707
Primaria	16 (31)	13 (25)	
Secundaria	8 (15)	15 (29)	
Duración de la infertilidad (X $\pm$ DE)			0.1532
< 2 años (%)	3 (6)	10 (19)	
2-5 años (%)	4 (8)	3 (6)	
> 5 años (%)	17 (32)	15 (29)	

* p < 0.05.

de siete días o hasta lograr la desensibilización hipofisiaria. Después se proseguía a disminuir la dosis del agonista a 0.5 mg/día y se iniciaba la administración de la hormona folículo estimulante (FSH) recombinante (FSHr) en forma de folitropina alfa o beta (Gonal F, Serono, Italia, o Puregón, Organon, Holanda) a dosis de acuerdo con la edad: 35 años, 300 UI/día; de 35 a 38 años, 375 UI/día y más de 38 años, 450 UI/día en aplicación subcutánea. Se realizó un ultrasonido transvaginal basal con transductor multifrecuencia de 5 a 7.5 mHz con el modelo SI Sonoline 400 (Aloka, Japón) y medición de las concentraciones séricas de la hormona folículo estimulante y estradiol después de un mínimo de siete días de administración de acetato de leuprolide. En casos en los que las concentraciones séricas de la hormona folículo estimulante y estradiol eran de 5 UI/mL y < 80 pg/mL respectivamente, el acetato de leuprolide se continuaba a la misma dosis por 48 horas más y se repetían los estudios hasta lograr la desensibilización. Posteriormente, se iniciaba la administración de la hormona folículo estimulante recombinante. Se efectuó un ultrasonido cada 24 ó 48 horas, a partir del octavo día del ciclo o sexto de estimulación ovárica. Al encontrarse tres o más folículos de 18 mm de diámetro y determinación sérica de 500 pg/mL, se ordenó la aplicación de la hormona gonadotropina coriónica humana urinaria (hCG) a razón de 10,000 UI o 250 mcg de hCGr (Profasi, Serono, Italia u Ovidrel, Serono, Italia). La recuperación de los ovocitos se realizó vía transvaginal guiada por ultrasonido, 34 a 36 horas después de la aplicación de la hCG.

Los ovocitos se incubaron en medio de fluido tubario humano (HTF), suplementado con suero sintético sustituto al 10% (Irving Scientific, Santa Ana, CA) bajo aceite mineral (Squibb, California), en cajas de cuatro pozos (Falcon, Becton Dickinson, NJ), a 37° C y en 5% de CO₂. Se inseminaron con aproximadamente 50,000 espermatozoides móviles por ovocito y 16 a 20 horas después se corroboró la fertilización mediante la identificación de dos pronúcleos. Una vez corroborada la fertilización, se realizó el cultivo de los preembriones en cajas de Petri (Falcon, Benton Dickinson, NJ), en gotas de 40 microlitros del mismo medio bajo aceite mineral. Se valoró la segmentación cada 24 horas hasta la transferencia de los mismos.

La preparación del semen para la inseminación de los ovocitos se efectuó mediante la técnica de dos gradientes de concentración Isolate upper-lower (Irving Scientific, Santa Ana, CA) (gradientes de 40 y 90%, respectivamente). La muestra seminal se colocó volumen a volumen con el fluido tubario humano y se suplementó con suero sintético sustituto al 8.5% sobre los gradientes de Isolate. Se centrifugó a 1,600 revoluciones por minuto (rpm) durante diez minutos y se retiró el sobrenadante. Se prosiguió a efectuar el lavado mediante centrifugado a 1,800 rpm durante cinco minutos; se eliminó el sobrenadante y la muestra se ajustó a 1 mL para obtener los espermatozoides del sobrenadante mediante la técnica de *swim-up*.

La transferencia embrionaria se realizó 72 horas después de la recuperación ovocitaria; se utilizó el catéter de Frydman (CCD, Francia) o catéter de Asch (Cook Ireland, Inglaterra).

Protocolo de soporte de fase lútea

El soporte de la fase lútea se hizo a partir del día de la recuperación de los ovocitos, mediante la administración de progesterona (P4) parenteral (IM) (Cuerpo Amarillo Fuerte, Hormona, México) a razón de 50 mg/día.

A partir del día siete postransferencia embrionaria y luego de realizarse la determinación sérica de estradiol y progesterona, las pacientes se dividieron al azar en dos grupos: el grupo I sólo recibió progesterona y el grupo II progesterona más 17-β estradiol (Primogyn, Schering) a razón de 2, 4 ó 6 mg/día cuando las concentraciones de estradiol al día siete postransferencia fueron ≥ 100 pg/mL, entre 50 y 100 pg/mL y ≤ 50 pg/mL.

Monitorización de la fase lútea

Se realizó mediante la determinación sérica de estradiol y progesterona al día siete postransferencia, y de estradiol, progesterona y subunidad beta de hCG (b-hCG) al día 14 postransferencia.

Análisis hormonal

Las concentraciones de la hormona foliculostimulante (FSH), hormona luteinizante (LH), estradiol (E2) y progesterona (P4) se determinaron mediante el ensayo de inmunoquimioluminiscencia (ACS: 180, automate-

chemiluminescence system, Bayer, Nueva York), con coeficientes de variación intra e interensayo de 1.81 a 0.78%, de 0.37 a 0.30%, de 1.78 a 6.59%, de 4.27 a 0.62% y de 2.33 a 4.21% para la FSH, LH, E2, P4 y β -hCG, respectivamente.

Análisis estadístico

Las variables nominales (tipo de infertilidad, evolución, factor alterado y endometriosis) se analizaron mediante la prueba exacta de Fisher para las tablas de 2x2, y la prueba de la ji al cuadrado de independencia para las tablas con más celdas.

Las variables continuas (edad, hormona folículo estimulante y luteinizante basal, número de folículos 18 mm, concentraciones de estradiol, progesterona, dosis de progesterona y estrógenos y el número de embriones implantados) se analizaron con la prueba de la t de Student no pareada en los casos de comparaciones entre grupos: con y sin complemento de estradiol (grupos experimentales), embarazadas y fallidas. Se utilizó la prueba de ANOVA factorial para el análisis combinado entre los grupos experimentales y de embarazadas y fallidas.

También se calculó una curva ROC para determinar las concentraciones óptimas de estradiol y progesterona como puntos de predicción de embarazo y se mostró la sensibilidad y especificidad de las mismas.

RESULTADOS

Durante el periodo de estudio, 52 ciclos de pacientes se seleccionaron al azar: el grupo 1 (sólo progesterona) consistió en 24 ciclos y el grupo 2 (progesterona y estradiol) en 28. El cuadro 1 muestra las características de ambos grupos. No hubo diferencia entre ambos grupos en relación con la edad, tipo de esterilidad (primaria o secundaria), tiempo de evolución, endometriosis; excepto en la variable de factor de infertilidad, debido a que en el grupo 2 el factor tuboperitoneal fue más frecuente ($P=0.0417$). Las características de los ciclos de fertilización *in vitro* con transferencia de embriones también se compararon en ambos grupos. No hubo diferencias en el tipo de protocolo que se empleó para hiperestimulación ovárica controlada, número de folículos mayores de 18 mm, número de ovocitos obtenidos, tasa de fertilización,

número de embriones transferidos, número de embriones implantados y tasa de implantación. Las concentraciones de estradiol y de progesterona se midieron a los días 7 y 14 postransferencia embrionaria. El impacto del embarazo se evaluó en las concentraciones séricas de estradiol y progesterona, así como las concentraciones de las pacientes que no resultaron embarazadas. No se encontraron diferencias significativas en las concentraciones de estradiol ni progesterona al día siete entre las pacientes embarazadas y no embarazadas. Sin embargo, sí se encontraron diferencias importantes en dichas concentraciones al día 14 entre las pacientes embarazadas y no embarazadas. Las concentraciones de estradiol fueron de 1256.9 r 994.5 pg/mL y de 367.6 r 489.5 pg/mL, respectivamente ($p = 0.0002$). La progesterona al día 14 fue de 51.3 p 40.1 ng/mL y 118.7 p 137.8 ng/mL en las no embarazadas y embarazadas, respectivamente ($p = 0.0104$).

Se encontraron diferencias significativas en las concentraciones de estradiol al día siete, entre el grupo 1 y 2; no así en las concentraciones de progesterona en el mismo día, ni en las concentraciones de estradiol y progesterona al día 14 entre ambos grupos. Las concentraciones por grupo fueron las siguientes: a) en el grupo 1, las concentraciones de estradiol al día siete fueron de 62.6 p 48.3, b) en el grupo 2 de 324.7 p 367.7 pg/mL y pg/mL ($p = 0.0005$).

Con el fin de investigar si la proporción en la que se incrementan las concentraciones de E2 y P4 entre el día 7 y 14 puede predecir el embarazo, se hizo un cálculo entre las pacientes que lograron el embarazo (embarazadas) y las que no lo hicieron (fallidas) y entre los grupos 1 y 2. En el análisis se observó incremento en pg/mL de estradiol en embarazadas de 913.5 p 681.918 pg/mL, y sin embarazo de 257.1 p 504.5 pg/mL ($p = 0.0012$). Asimismo, se observó incremento de progesterona ng/mL en las embarazadas de 78.1 p 125.6 ng/mL y en las que no lo estaban de 21.8 p 43.7 ng/mL ($p = 0.0253$) (figura 1). Se encontró una diferencia estadísticamente significativa en el incremento de estradiol entre los dos grupos (grupo 1 de 203.9 ± 626.0 pg/mL y en el grupo 2 de 577.8 ± 555.9 pg/mL) ($p = 0.03$), en comparación con la progesterona (figura 2).

Con el propósito de demostrar una probable relación del complemento con estrógenos entre embarazadas y

fallidas, se investigó la significación del incremento de estradiol entre el día 7 y 14 mediante la prueba de Fisher. No hubo diferencias significativas entre el grupo 1 y 2 de embarazadas, ni en el grupo 2 de las no embarazadas. Sólo se encontró significación entre los tres grupos antes mencionados y el grupo 1 de fallidas ($p < 0.005$) (figura 3).

Con base en lo anterior, se demostró que el incremento de las concentraciones de estrógenos en las embarazadas complementadas no influyó en la consecución del embarazo, puesto que dichas concentraciones no fueron importantes en el grupo de embarazadas no complementadas.

En el caso de la progesterona, también se encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$) a favor de las fallidas sin complemento, debido a que no se encontraron entre las pacientes complementadas embarazadas y no embarazadas, y entre éstas y las no complementadas embarazadas (figura 3).

Asimismo, se investigó el valor predictivo de las concentraciones de estrógenos y progesterona a fin de establecer el valor real de la realización de estas determinaciones durante la fase lútea de ciclos de fertilización *in vitro* con transferencia embrionaria. Se encontró lo siguiente: la concentración de corte para el estradiol en el día siete fue $>$ de 90 pg/mL, es decir, si

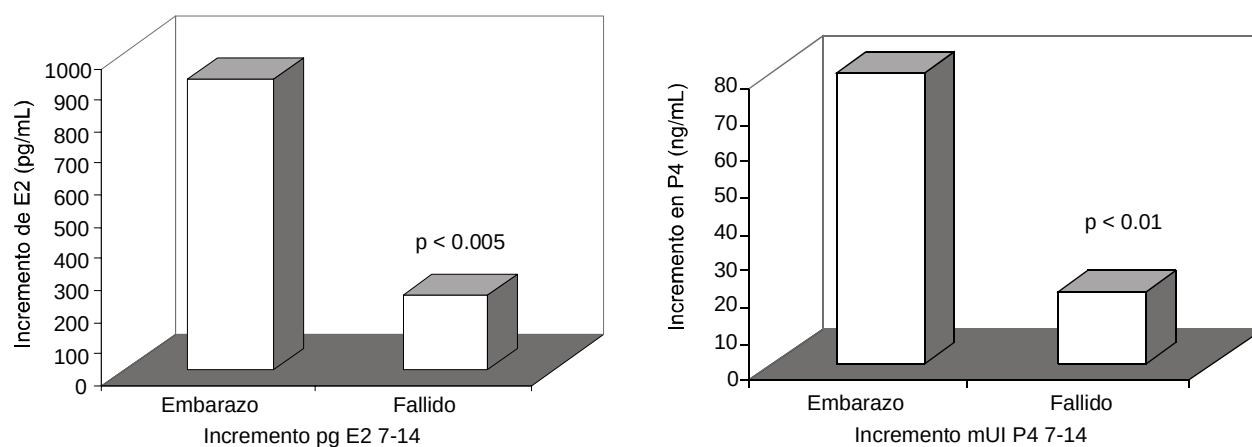


Figura 1. Incremento de estradiol y progesterona del día 7 al 14 en embarazadas y no embarazadas.

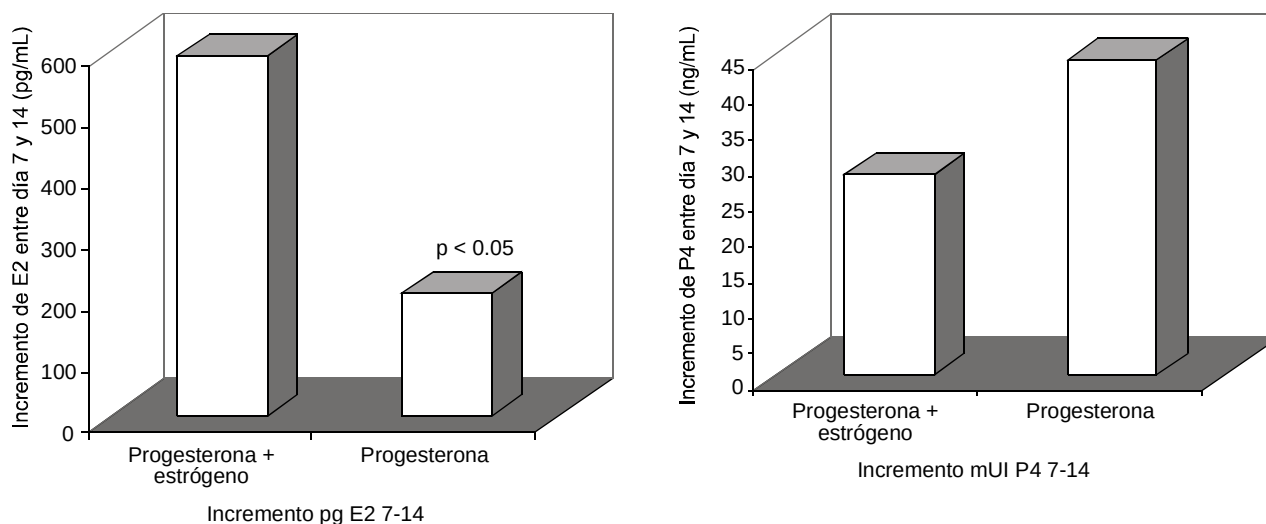


Figura 2. Incremento de estradiol y progesterona del día 7 al 14 por grupo de estudio.

ésta se sobrepasa hay embarazo. Sin embargo, la sensibilidad y especificidad para este punto de corte fueron de 14 y 13%, respectivamente (figura 4). Como puede observarse, el punto de corte aporta una

predicción mínima (sólo predice cerca del 20% de los casos), por lo que los valores de estradiol y progesterona en el día siete no pueden utilizarse como marcadores de predicción de embarazo.

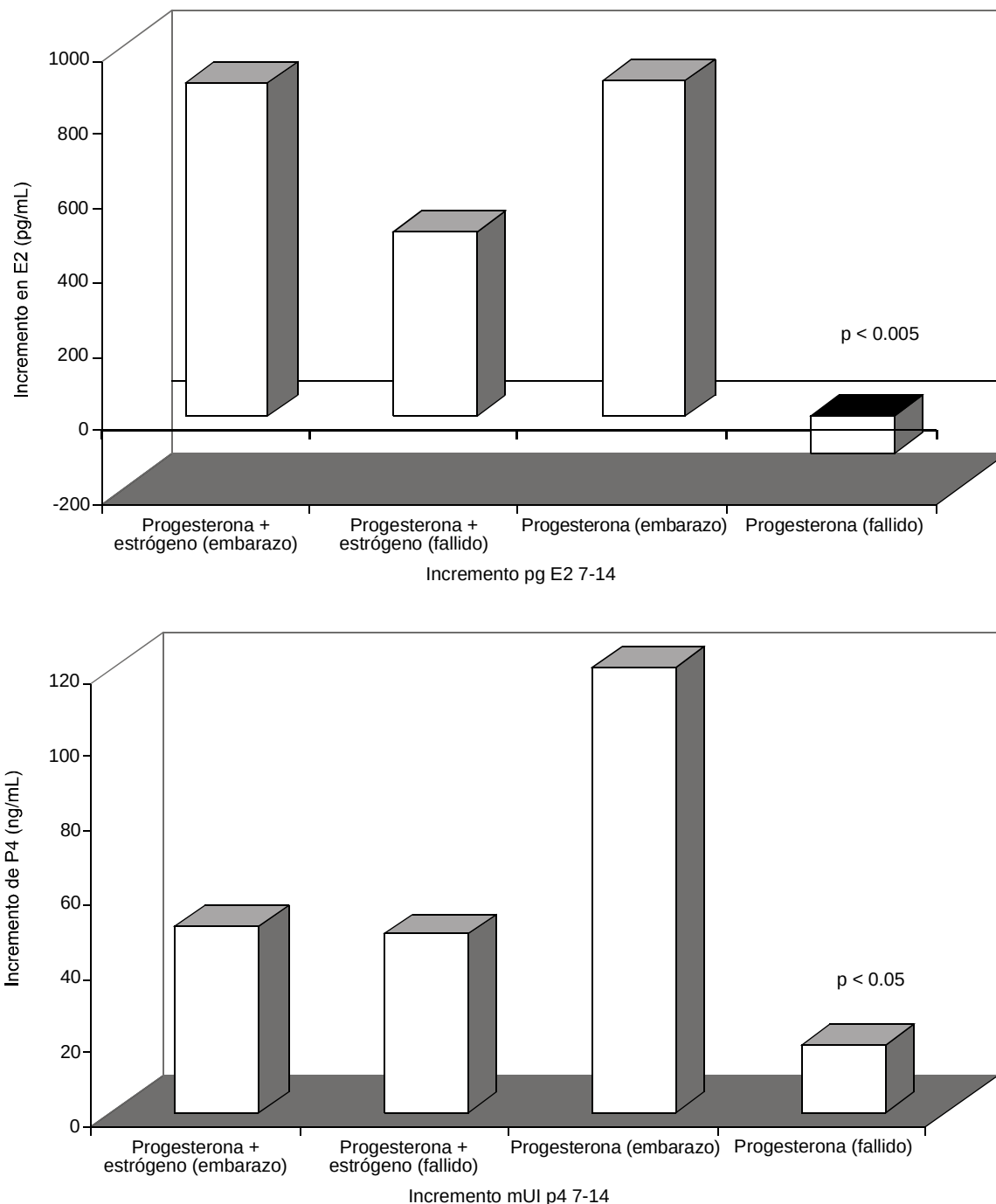


Figura 3. Incremento de estradiol y progesterona del día 7 al 14 por grupos.

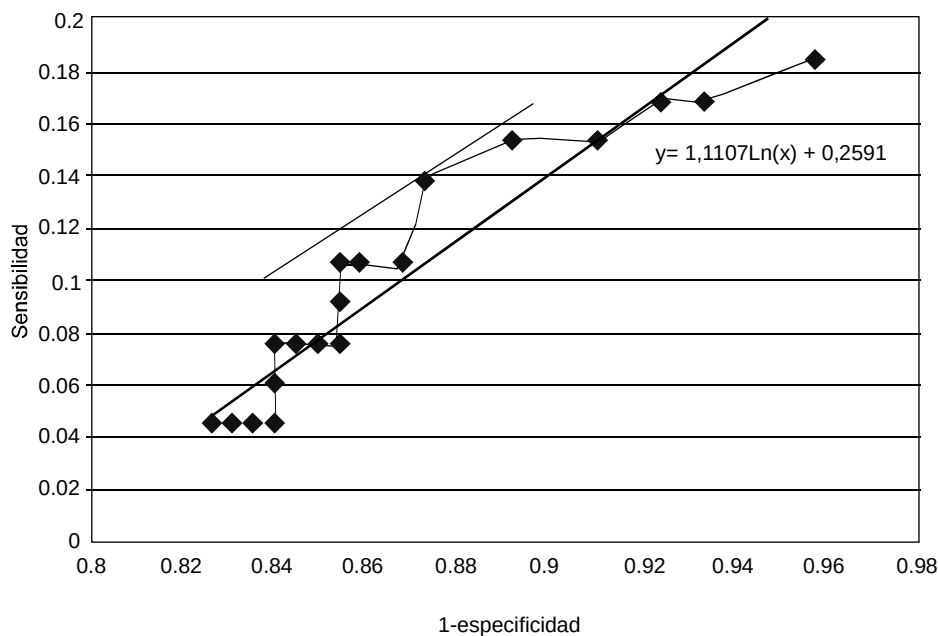


Figura 4. Curva ROC para estrógenos (sensibilidad y especificidad).

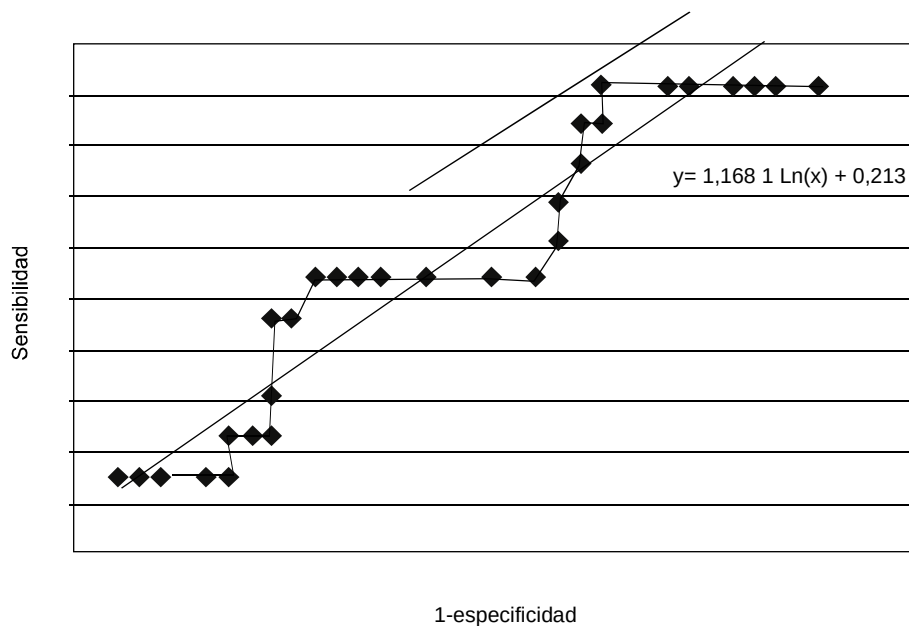


Figura 5. Curva ROC para progesterona (sensibilidad y especificidad).

Finalmente, la adición de estrógenos como complemento en el soporte de la fase lútea no afectó las tasas de embarazo. Se encontraron tasas del 50% en ambos grupos de tratamiento (figura 6). De las 52

pacientes, 12 (23.08%) se embarazaron; de las cuales siete se encuentran en curso y cinco embarazos concluyeron en aborto. De las pacientes sin embarazo, 55% está en el grupo 2 y 45% en el grupo 1.

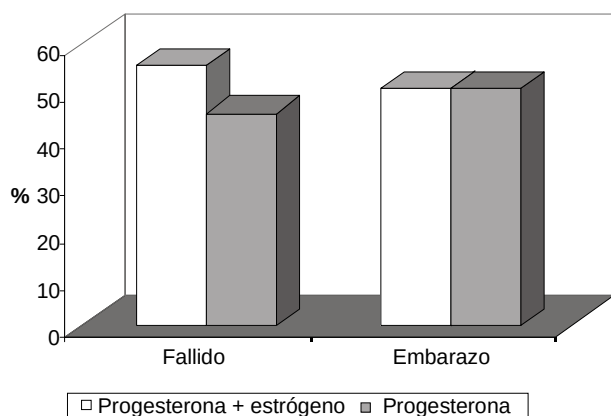


Figura 6. Efecto de cada condición experimental en la tasa de fallidas (izquierda) y embarazadas (derecha). No hay diferencias significativas.

DISCUSIÓN

En principio, debemos orientarnos hacia la fisiología normal del embarazo temprano para ver el comportamiento normal endocrino en la fase lútea y en las primeras semanas de gestación. Posterior a la ovulación, en la fase lútea media, hay una elevación de las concentraciones de progesterona y estradiol. Éstas disminuyen en la fase lútea tardía en caso de no existir embarazo, secundario a la falta de rescate del cuerpo lúteo por la ausencia de hGC, la consecuente luteolisis en la fase lútea tardía y el inicio de la menstruación días después.⁹ Yoshimi y colaboradores¹⁰ observaron que existe un pico de progesterona 3 a 4 semanas después de la administración de hGC. Posteriormente, las concentraciones caen y alcanzan una meseta en la semana 6 a 8, seguida de la segunda elevación de progesterona a la semana 10 (la vida media aproximada del cuerpo amarillo es de 10 semanas). Tulchinsky y su equipo¹¹ demostraron que existe un incremento progresivo de las concentraciones encontradas en la fase lútea del ciclo menstrual. Después de la quinta a sexta semanas de gestación, los estrógenos y la progesterona disminuyen debido a la reducción del cuerpo lúteo. Las concentraciones de estradiol continúan elevándose después de la quinta semana de gestación (por producción placentaria inicial), mientras que las de la progesterona no vuelven a incrementarse hasta la semana 10 de la gestación. No se encontró diferencia entre las concentraciones de estradiol en la

fase media lútea entre las embarazadas y no embarazadas. Asimismo, no se encontró diferencia en las concentraciones de progesterona; sin embargo, en la fase lútea tardía las concentraciones de estradiol y de progesterona fueron significativamente más altas en las embarazadas, aunque el más importante fue el incremento de estradiol. Estos resultados fueron similares a los encontrados por Laufer y colaboradores.⁹

Al buscar un valor de estrógenos y progesterona predictivo de embarazo, se observó que las concentraciones de corte para el estradiol fueron > de 90 pg/mL y de 17.5 ng/mL para la progesterona en fase lútea media, pero con sensibilidad y especificidad baja para detectar embarazo. Laufer⁹ encontró concentraciones de corte de 105 pg/mL para estradiol y de 4.3 ng/mL de progesterona para embarazo, aunque no reportó sensibilidad y especificidad. Las concentraciones de la hormona luteinizante, posterior a la utilización del agonista, son demasiado bajas como para sostener la función del cuerpo amarillo. Así lo demostraron Smitz y colaboradores,¹² quienes encontraron una reacción anormalmente baja de secreción de la hormona luteinizante después de la administración de GnRH exógena hasta el día 14 ó 15 después de la última dosis de agonista con protocolo de desensibilización. Se demostró la disminuida capacidad secretora de las gonadotropinas después de usar el agonista, lo cual apoya la utilización de la progesterona de manera invariable como soporte de la fase lútea, en comparación con los estrógenos.^{4,6} Sungurtekin y colaboradores¹³ demostraron que aun cuando se utiliza el protocolo ultracorto de agonista durante cinco días, existe una supresión de la actividad de la GnRH endógena. La utilización de GnRH como inductor de la ovulación produce también una supresión parcial hipofisiaria, lo que disminuye el soporte de la hormona luteinizante y provoca luteolisis temprana.¹⁴ Posterior a la administración de antagonistas de la GnRH, hay una luteolisis prematura por la acción de retroalimentación negativa de las concentraciones suprafisiológicas de esteroides en la fase lútea temprana, lo que reduce la secreción de GnRH y hormona luteinizante.³ Desde el punto de vista fisiológico, existe una acción sinérgica de estrógenos y progesterona en el endometrio; el estrógeno estimula el

crecimiento de glándulas y de estroma en preparación para su maduración, además de inducir la formación de receptores para estradiol y progesterona. Finalmente, la progesterona incrementa la secreción glandular y provoca edema, cambios vasculares y aparición de células deciduales.¹⁵ Younis y su equipo¹⁶ estudiaron el endometrio en dos grupos: un grupo con la administración de estrógeno durante 14 días y progesterona durante 14, y el grupo control con estradiol durante 28 días y progesterona durante 14. No se encontraron diferencias morfológicas en el endometrio y se demostró que el estradiol en la fase lútea no influyó en la capacidad de desarrollo del endometrio. Por ende, el estradiol pareció no ser obligatorio ni esencial para un adecuado desarrollo del endometrio secretor en dicha fase. En otro estudio se encontró que la maduración endometrial fue similar tanto en la glándula como en el estroma, en un grupo tratado con valerato de estradiol más progesterona y en otro tratado con progesterona sola.⁴ Se ha visto que a pesar de haber incremento en las concentraciones de estradiol circulante en el momento de la implantación, la madre y el trofoblasto actúan sinérgicamente para producir un ambiente de implantación alto en estrógeno. Sin embargo, desde el punto de vista del receptor (endometrio) es diferente: se observó disminución en la capacidad de conversión mediada por aromatasas de andrógenos a estrógenos en la fase lútea media; la 17β -estradiol hidroxisteroide deshidrogenasa está incrementada en relación con la disminución de la concentración de estradiol intracelular en el endometrio, todo lo anterior por acción de la progesterona. Además, existe incremento en la actividad del estrógeno sulfotransferasa bajo la influencia de la progesterona, lo que resulta en la conversión del estradiol a su forma inactiva sulfatada. Al parecer, esto indica que no se necesitan concentraciones altas de estrógenos durante la fase lútea y que, por el contrario, la progesterona actúa antes mediante mecanismos compensadores intracelulares para contrarrestar las altas concentraciones de estradiol durante la fase lútea. Asimismo, existe disminución de los receptores de estrógenos en el periodo de periimplantación, por lo que la estimulación de los mecanismos que reducen o inactivan los estrógenos puede ser un aspecto clave en la influencia de la progesterona en la implantación.¹⁷

En el presente estudio, los porcentajes de embarazo entre los grupos 1 y 2 fueron iguales; no se observaron ventajas en la adición de estrógeno al soporte con progesterona a partir del día siete postransferencia embrionaria. Farhi y colaboradores⁷ demostraron un efecto benéfico con la administración de estrógeno, adicional a la progesterona intramuscular a partir del día siete postransferencia embrionaria. Encontraron un porcentaje de embarazo de 23.4% en el grupo con progesterona y de 33.8% en el grupo de estradiol más progesterona. La diferencia más significativa se observó en el protocolo largo de GnRHa (39.6 vs 25.6% $P < 0.05$). El porcentaje de implantación fue más alto en el grupo de estradiol más progesterona (14 vs 9.6%) y más significativo en el protocolo largo de GnRHa (10.2 vs 15.2% $P < 0.05$). Causio y Leonetti⁸ observaron que, en pacientes a las que se les realizó fertilización *in vitro* con transferencia de embriones y protocolo largo de GnRHa, el porcentaje de embarazo fue significativamente más alto en el grupo de estradiol más progesterona que en el grupo de progesterona sola. Por el contrario, en un grupo Lewin y colaboradores⁶ utilizaron progesterona intramuscular durante 20 días a partir de la transferencia de embriones y en otro, valerato de estradiol más progesterona a partir del día de la transferencia de embriones y durante 20 días. No hubo diferencias importantes en el porcentaje de embarazos entre ambos grupos: 26.5% para el grupo con progesterona sola y 28% para el grupo con estradiol más progesterona. El porcentaje de nacidos vivos fue de 78.6% en el grupo con progesterona sola y de 76.1% en el grupo con estradiol más progesterona. Smitz y su equipo⁴ estudiaron pacientes a quienes se les efectuó FIV-TE y previa estimulación con hMG bajo desensibilización con GnRHa. Un grupo fue tratado con progesterona micronizada vaginal a partir de la administración de hGC y valerato de estradiol seis días después de la administración de hGC; al segundo grupo sólo se le administró progesterona. Las tasas de embarazo fueron similares en ambos grupos; para el grupo con estradiol más progesterona fue de 29.1% y de 29.5% para el de progesterona sola. El porcentaje de bebés nacidos por embriones transferidos fue de 10.7% en el grupo de estrógeno con progesterona y de 13.3% en el de progesterona sola; ninguna diferencia fue significativa.

Con respecto al impacto bioquímico de ambas estrategias, el incremento global de estradiol del día 7 al 14 en la fase lútea fue significativamente mayor en el grupo 2; el incremento de progesterona fue mayor, aunque no de manera significativa, en el grupo 1. Esto ya se esperaba, aunque no tuvo ningún impacto en las tasas de embarazo. De manera similar, Farhi y colaboradores⁷ encontraron concentraciones de estradiol más elevadas en los días 10 y 12 postransferencia embrionaria en el grupo de estradiol más progesterona. Lewin y su equipo⁶ no encontraron diferencias significativas en las concentraciones de estradiol en ambos grupos (progesterona sola y valerato de estradiol más progesterona) durante toda la fase lútea, en cambio, de manera similar a lo encontrado en nuestro estudio, las concentraciones de progesterona en el día 16 fueron mayores (aunque tampoco hubo una diferencia significativa) entre los grupos.

Smitz y colaboradores⁴ observaron concentraciones significativamente más bajas de estradiol en el grupo con progesterona sola que en el grupo de estradiol más progesterona entre los días 11 y 18, posterior a la administración de hGC. Sin embargo, a diferencia de nuestro estudio, las concentraciones de progesterona también fueron menores en el grupo con progesterona sola, en comparación con el grupo de estradiol más progesterona. Se demostró que la complementación no incrementa la probabilidad de embarazo en las pacientes a las que se les realiza fertilización *in vitro* con transferencia de embriones, debido a que no se encontró aumento significativo en las concentraciones de estradiol en las pacientes no embarazadas complementadas y no complementadas. Sin embargo, las concentraciones de estradiol fueron similares en pacientes embarazadas complementadas y no complementadas, y se demostró que el incremento de las concentraciones de estradiol se consigue por el embarazo y no por la complementación.

CONCLUSIONES

En este estudio se demostró que no existe ventaja al agregar estrógeno a la administración de progesterona en la fase lútea en ciclos de FIV-TE. Se comprobó que las concentraciones de estradiol y de progesterona en el día siete postransferencia embrionaria no fueron buenos factores de predicción de embarazo.

REFERENCIAS

1. Penzias AS. Luteal phase support. *Fertil Steril* 2002;77:318-23.
2. Pritts EA, Atwood AK. Luteal phase support in infertility treatment: a meta-analysis of the randomized trials. *Hum Reprod* 2002;17:2287-99.
3. Beckers N, Macklon NS, Eijkemans MJ, et al. Nonsupplemented luteal phase II characteristics after the administration of recombinant human chorionic gonadotropin, recombinant luteinizing hormone, or gonadotropin-releasing hormone (GnRH) agonist to induce final oocyte maturation in *in vitro* fertilization patients after ovarian stimulation with recombinant follicle-stimulating hormone and GnRh antagonist cotreatment. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:4186-92.
4. Smitz J, Bourgain C, Waesberghe L, et al. A prospective randomized study on oestradiol valerate supplementation in addition to intravaginal micronized progesterone in buserelin and HMG induced superovulation. *Hum Reprod* 1993;8:40-45.
5. Shamma FN. The use of natural progesterone in assisted reproduction. *Infertility and Reproductive Medicine Clinics of North America* 2000;11:495-501.
6. Lewin A, Yanai N, Benshushan A, et al. The role of estrogen support during the luteal phase of *in vitro* fertilization-embryo transplant cycles: a comparative study between progesterone alone and estrogen and progesterone support. *Fertil Steril* 1994;62:121-25.
7. Farhi J, Weissman A, Steinfeld Z, et al. Estradiol supplementation during the luteal phase may improve the pregnancy rate in patients undergoing *in vitro* fertilization embryo transfer cycles. *Fertil Steril* 2000;73:761-66.
8. Causio F, Leonetti. Luteal phase support with estrogen and progesterone in *in vitro* fertilization cycles using GnRHa and FSH. *Giornale Italiano di Ostetricia y Ginecologia* 1997;19:277-82.
9. Laufer N, Navot D, Shenker J.G. The pattern of luteal phase plasma progesterone and estradiol in fertile couples. *Am J Obstet Gynecol* 1981;143:808-13.
10. Yoshimi T, Strott CA, Marshall JR, Lipsett MB. Corpus luteum function in early pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab* 1969;29:225-30.
11. Tulchinsky D, Calvin JH. Plasma human chorionic gonadotropin, estrone, estradiol, estriol, progesterone and 17 alfa-hidroxiprogesterone in human pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1973;117:884-92.
12. Smitz J, Erard P, Camus M, et al. Pituitary gonadotrophin secretory capacity during the luteal phase in superovulation using GnRH-agonist and HMG in a desensitization or flare-up protocol. *Hum Reprod* 1992;7:1225-29.
13. Sungurtekin U, Jansen R. Profound luteinizing hormone suppression after stopping the gonadotropin-releasing hormone-agonist leuprolide acetate. *Fertil Steril* 1995;63:663-65.
14. Shahar K. Luteolysis induced by a gonadotropin releasing hormone agonist is the key to prevention of ovarian hyperstimulation syndrome. *Fertil Steril* 2004;81:1-5.
15. Good RG, Moyer DL. Estrogen-progesterone relationships in the development of secretory endometrium. *Fertil Steril* 1968;19:37-48.
16. Younis JS, Ezra Y, Sherman Y, et al. The effect of estradiol depletion during the luteal phase on endometrial development. *Fertil Steril* 1994;62:103-7.
17. Edgar DH. Oestrogen and human implantation. *Hum Reprod* 1995;10:2-4.

Frigidez sexual*

Por Robert E. ROUGELOT, Jr.

Traducido por el Dr. Ramón de la FUENTE

La alarmante frecuencia con que los divorcios ocurren en nuestros días y los pretextos inconsistentes por los cuales muchos matrimonios son destruidos, han llamado nuestra atención al tema de la frigidez sexual, ya que ella es con demasiada frecuencia la raíz profunda del problema, no importa en qué términos eufemistas puedan describirse los motivos del divorcio.

Aunque no es posible dar cifras concretas, en general, se estima que un veinticinco por ciento de las mujeres son frígidas.

La frigidez debe ser adecuadamente definida, ya que el término en su uso común comprende muchos significados, tales como dispareunia, falta de apetito sexual, falta de sensación sexual, anestesia vaginal, etc. La frigidez es realmente una neurosis y su mecanismo es la inhibición psíquica. En un sentido más preciso, frigidez significa falta de capacidad para obtener el orgasmo vaginal, ya que muchas mujeres experimentan sensaciones sexuales placenteras que no pueden ser consideradas como orgasmos verdaderos.

El orgasmo en la mujer es una compleja experiencia psicogénica cuya fisiología no ha sido aún completamente determinada.

Varios factores en este complejo se encuentran bien establecidos. Primero que nada debe haber receptividad y responsividad por parte de la mujer. El siguiente paso

es el despertar de las sensaciones sexuales a través del contacto físico, llamado juego amoroso. Durante esta fase, se alcanza un estado de tumescencia. Los genitales se ingurgitan con sangre; el clítoris se pone erecto; las glándulas de Bartholino secretan gran cantidad de moco; y es posible que ocurra un aumento del peristaltismo de las trompas, del útero y de la vagina.

En la fase de detumescencia, después de una serie de impulsos excitantes mediados a través del centro eyaculatorio, hay una reacción violenta que envuelve totalmente al cuerpo y que es probablemente más manifiesta en el sistema nervioso simpático. La presión sanguínea se eleva, la respiración aumenta. Puede haber ingurgitación temporal de los vasos cerebrales, desmayos, gritos y movimientos involuntarios y localmente un impulso motor intenso con aumento de la movilidad uterina, espasmos musculares en el elevador y constricción de la vagina y ocasionalmente emisión involuntaria de orina y espasmo glúteo. Simultáneamente hay una fase psíquica que varía en cada caso individual, así por ejemplo: una enferma describe este aspecto como una sensación de que el yo abandona el cuerpo y queda suspendido en el espacio con un momento de intenso egoísmo. Esta fase es seguida por un sopor placentero que puede durar varias horas.

Los factores que producen la inhibición del organo normal no se prestan fácilmente a ser clasificados, pero con fines prácticos se les puede dividir en:

1°.- Causas debidas a conflictos psico-sexuales profundos

2°.- Aquellos debidos a factores situacionales o ambientales fácilmente reconocibles.

* Reproducido de Ginecología y Obstetricia de México 1949;IV(Núms. 18-19):210-2.

Cuando investigamos el origen de los conflictos psico-sexuales de la mujer encontramos que el mecanismo de esta neurosis está inspirado en el complejo conocido como “Envidia del pene” (KNIGHT). Según este complejo, la niña al encontrarse a sí misma sin el órgano masculino, adquiere por ello un sentimiento de inferioridad, pudiendo reaccionar con sentimientos masoquistas o actitudes de odio hacia el hombre como padre o amante. Este es un concepto freudiano, el cual ha sido elaborado y difundido con cierta extensión por algunos psiquiatras.

Elena DEUTSCH, por otro lado, señala dos principales factores en la mujer: el narcisismo y el masoquismo los cuales cuando van asociados con factores tales como actitud maternal exagerada y fijación a objetos sexuales anteriores resultan en inhibiciones del impulso sexual.

Generalmente se considera a la mente integrada por el ID, compuesto de impulsos primitivos, el Ego que es el yo consciente y el Super Ego o conciencia moral condicionada por influencias sociales, religiosas, morales, parentales y educativas. Cualquier conflicto del Super Yo o del Yo con el ID, puede dar como resultado inhibiciones en la respuesta sexual normal. Estos conflictos originan en la niñez y temprana adolescencia complejos tales como la homosexualidad, fijaciones infantiles, narcisismo, ascetismo, y odio al padre, complejo de Edipo y otros, que señalan la falta de desarrollo emocional. Esto no debe ser interpretado como carencia de libido. La libido existe pero su gratificación depende del objeto sexual del individuo y éste puede ser solamente una fantasía onírica.

Ha habido considerables discusiones sobre si el verdadero sitio del orgasmo está en el clítoris o en la vagina. Algunos, como KNIGHT piensan que el clítoris juega un papel muy importante como órgano sexual en la niñez y que en algunos casos con la madurez sexual no se transfiere la sensación placentera a la vagina con el resultado de que en la frigidez la sensibilidad está reducida y permanece en el clítoris; por esto, el placer clitorideo es posible, pero no resulta en verdadero orgasmo físico, debido a que la zona erótica permanece infantil.

Habiendo considerado brevemente la génesis de los conflictos psicogenésicos profundos, los cuales son

del dominio de la Psiquiatría veamos algunas de las causas más comunes, tal como son apreciadas en la práctica diaria.

Hay muchos enfermos cuyos problemas pueden ser resueltos por el ginecólogo si éste se toma el tiempo necesario para obtener una historia completa y emplea el peso de autoridad como médico, para instruir y aconsejar convenientemente a la paciente. Muchas enfermas acuden al médico con aparentes dolencias físicas pero que si son cuidadosamente analizadas, se encontrará que provienen de conflictos sexuales. Algunas de las muchas causas de la frigidez apreciadas en la práctica son:

A.- Condiciones usualmente desarrolladas en la adolescencia y en la niñez.

1°.- Falta de educación en la fisiología del sexo y en la técnica sexual.

2°- Prejuicios morales y religiosos profundamente enraizados.

3°- Temores, disgustos, repugnancias, instigados por padres, educadores u otras personas.

4°- Prejuicios sociales y temores relacionados con la menstruación, la lactancia y el embarazo.

B.- Condiciones a las cuales STEKE se refiere como traumas sexuales en el adulto.

1°- Temor a la desfloración.

2°-Traumatismo de la primera experiencia sexual.

3° Experiencias sexuales extraordinarias como violación, exhibicionismo, perversión, etc.

4°-Temor a enfermedades venéreas.

5°-Sentimiento de vergüenza o de culpa.

C.-Condiciones frecuentemente encontradas en el matrimonio.

1°-Elección errónea de pareja.

2°-Proceder en la noche nupcial.

3°-Fobia a la preñez.

4°-Disminución de interés sexual en el esposo.

5°-Infidelidad del esposo.

6°-Impotencia o eyaculación prematura.

7°-Onanismo.

8°-Ineptitud en la técnica sexual por parte del esposo.

9°-Diferencias entre ambos cónyuges en intereses sociales e intelectuales.

E.-Condiciones del ambiente.

1°-Vivir con familiares y parientes políticos.

2°-Relaciones demasiado íntimas con niños, por ejemplo: convivencia de muchas personas en un espacio reducido.

3°-Ingresos insuficientes para el sostenimiento de la familia.

4°-Enfermedades de tipo constitucional.

5°-Exceso de trabajo, fatiga, inquietudes económicas.

Algunos síntomas pueden asociarse con la frigidez en la forma de mecanismo de escape tales como dolor de cabeza, dolor de espalda, fatiga, dolor pélvico, etc.

Para establecer el diagnóstico de frigidez verdadera, el ginecólogo debe ser hasta cierto punto psiquiatra. Deberá primeramente investigar el papel del marido, pues frecuentemente los errores del hombre, su ineptitud o su impotencia son la causa de todo el problema.

Por parte de la mujer uno debe primero ganarse su confianza y luego con tacto establecer las causas básicas del desajuste. Las causas físicas no son demasiado importantes pero requieren su corrección cuando se les encuentra. Estas pueden ser tales como un himen rígido, anomalías congénitas, carúnculas uretrales, vaginitis, infecciones pélvicas, relajación del periné, retrodesviación y otras lesiones orgánicas. El dolor ocasionado por causas orgánicas, definitivamente

provoca inhibiciones sexuales y el examen prenupcial puede indicar la incisión del himen rígido, ejercicios para estrechez vaginal y otras medidas correctivas. Cuando las causas físicas son eliminadas o faltan, la mejor terapéutica es el consejo del médico; su autoridad y la confianza puesta en él por la enferma pueden ser empleadas para dar fin a su ignorancia, sus temores y sus tabús.

Una discusión franca de la técnica sexual, frecuentemente, aclara el problema. A este respecto, la entrevista prenupcial puede hacer mucho por evitar la frigidez, ya que aconsejando y educando a la mujer en la fisiología sexual se podrá prevenir el desarrollo de este trastorno, que una vez establecido por tiempo largo puede ser difícil de corregir; las pláticas deben hacerse empleando un lenguaje simple y digno. El empleo de láminas anatómicas puede tener grandes ventajas ya que mucha gente no tiene sino conocimiento esquemático de la anatomía genital. Se encontrará ventajoso recomendar libros y folletos de materia sexual que confortarán al paciente y reforzarán el consejo del médico.

En los casos de que estas sugerencias fracasen será necesario referir el enfermo al psiquiatra para su tratamiento psicoanalítico.

BIBLIOGRAFÍA

KNIGHT, ROBERT P.: Functional Disturbances in the Sexual Life of Women, Bulletin the Menninger Clinic, Vol. 7, 1943, pp. 25-35.
DEUTSCH, HELENE: The Psychology of Women, Grune Stratton, Vol. 1., 1945.

STEKEL, WILLIAM: Frigidity in Women in Relation to Her Life, Translation by James Van Teslaar, Boni and Liverwright, New York, 1926.

Carta al editor

En el artículo *Respuesta acrosomal de espermatozoides humanos demostrada con clorotetraciclina*, de Merino Ruiz M, Luna Aranda H, Morales Martínez A, Saldívar Rodríguez D y Vidal Gutiérrez O, publicado en la revista *Ginecología y Obstetricia de México* 2004;72:239-46¹ se evalúa la reacción acrosomal espontánea e inducida en dos tiempos distintos usando la clorotetraciclina. Los autores demuestran en los resultados que la concentración disminuye de 31×10^6 a la hora a 19×10^6 a las cuatro horas de capacitación y, además, comentan textualmente: "...Es interesante observar que la motilidad mejora, postcapitación, a la hora y disminuye a las cuatro horas". Con base en los procedimientos de separación de espermatozoides que se utilizaron en el grupo de estudio se propone que los resultados presentados por Merino y colaboradores se deben al método de separación utilizado.

Se evaluó la reacción acrosomal inducida por oligosacáridos por las técnicas de microscopía de fluorescencia con PSA-FITC y citometría de flujo con anti CD46-FITC. Para esto se realiza la capacitación con HAM-F12 suplementado con 35 mg/mL de albúmina sérica bovina pero durante periodos más prolongados, de 5 y 12 horas. La separación de los espermatozoides se realiza por el método de separación migración/sedimentación (*jumping*),² en el cual los espermatozoides se depositan en el compartimiento interno del tubo de Jondet y se adiciona medio hasta cubrir la muestra de semen, se incuba durante el tiempo requerido en la metodología de capacitación, en este caso de 5 a 12 horas, y se recupera la fracción espermática que queda en el fondo del compartimiento interno. Los espermatozoides recuperados de este compartimiento contienen la mayoría de los espermatozoides que migraron, es decir, que tenían buena movilidad y después se precipitaron, de ahí el nombre de la técnica: migración/sedimentación. En el

método de *swim-up*, utilizado por Merino Ruiz M, los espermatozoides móviles migran hacia la parte superior del medio de donde se retiran. A mayor tiempo de incubación menor será la cantidad de espermatozoides recuperados, debido a que se precipitan y no se toman en cuenta durante el análisis. Lo anterior explicaría por qué la concentración es menor a las cuatro horas que a la hora de capacitación.

Asimismo, la movilidad es un valor espermático que parece no reflejar el estado de capacitación de la muestra, debido a que depende más de la calidad de la muestra inicial (María José Munuce y Germán Rosano, comunicación personal). Esto se ha corroborado en algunos ensayos en los que después de las cinco horas de incubación se han obtenido muestras con movilidad de más del 80%, pero cuando se realiza el proceso de capacitación por 12 horas, la movilidad disminuye o está ausente según la calidad de la muestra inicial. En estos casos el parámetro que tiene que considerarse para iniciar la estimulación de la reacción acrosomal es la viabilidad espermática. Una posible explicación de la disminución de la movilidad de los espermatozoides podría estar asociada con las alteraciones de las mitocondrias, que podrían causar anomalías en el flagelo. Como los espermatozoides pierden movilidad, el método de *swim-up* no sería el más indicado para capacitarlos, ya que cada vez se van a precipitar más espermatozoides y va a disminuir el número en la fracción que se recupera. Lo aconsejable cuando se utilice este método de separación sería realizar el procedimiento durante 90 minutos, obtener la fracción móvil y capacitar aparte, como lo hacen algunos autores.³⁻⁵

Wálter Cardona Maya, Ángela Cadavid

Grupo Reproducción-Biogénesis. Universidad de
Antioquia,
Medellín, Colombia. A.A. 1226
wdcmaya@yahoo.com

REFERENCIAS

1. Merino-Ruiz M, Luna-Aranda HM, Morales-Martínez A, Saldívar-Rodríguez D, Vidal-Gutiérrez O. Respuesta acrosomal de espermatozoides humanos demostrada con clorotetraciclina. *Ginecol Obstet Mex* 2004;72:239-46.

La versión completa de este artículo también está disponible en internet: www.revistasmedicasmexicanas.com.mx

2. Tea NT, Jondet M, Scholler R. Migration-gravity sedimentation method for collecting motile spermatozoa from human semen. In: Thompson W, editor. *In vitro* fertilization, embryo transfer and early pregnancy. Lancaster: MTP Press, 1984;pp:117-20.
3. Liu de Y, Stewart T, Baker HW. Normal range and variation of the zona pellucida-induced acrosome reaction in fertile men. *Fertil Steril* 2003;80(2):384-9.
4. Miranda PV, González-Echeverría F, Marin-Briggiler CI, Brandelli A, Blaquier JA, Tezon JG. Glycosidic residues involved in human sperm-zona pellucida binding *in vitro*. *Mol Hum Reprod* 1997;3(5):399-404.
5. Passos EP, Brugnara L, Facin AC, et al. Peritoneal fluid modulates the sperm acrosomal exocytosis induced by N-acetylglucosaminyl neoglycoprotein. *Braz J Med Biol Res* 1999;32(1):59-65.

El tacto deberá ir precedido de una cuidadosa desinfección vulvar para evitar el transporte de gérmenes del exterior. Esta desinfección será practicada por un ayudante. El médico, *antes de empezar la exploración de la enferma*, procederá a la desinfección de sus manos. Esta desinfección debe realizarse con gran escurpulosidad: 1° *durante el embarazo*, pues la infección de la cavidad cervical puede quedar latente y manifestarse después del parto; 2° *antes del periodo de parto*, pues la mujer puede parir en las horas que siguen a la exploración.

Reproducido de: Fabre. Manual de obstetricia. Barcelona: Salvat Editores,1941;p:62.

Índice de materias del volumen 72, 2004

A

- Actinomicosis tuboovárica. Comunicación de un caso, Yelenys Reyna Mejía Salazar, Mercedes Hernández González, Zócimo Martínez Reyes, Alfonso Carrera Rivapalacio. 2004;72:162-5.
- Actitudes y jerarquía de valores en un servicio de ginecología y obstetricia, Luis Alberto Villanueva, Susana Collado Peña. 2004;72:273-8.
- Alcoholismo durante el embarazo: un problema de salud subestimado, Jorge Eduardo Montesinos Balboa, Marlene Altúzar González, Fortunato Benítez Castillejos. 2004;72: 508-14.
- Alteraciones menstruales. Gráfica menstrual y terminología, Lázaro Pavía Crespo. 2004;72: 85-93.
- Antagonistas de la progesterona: aspectos bioquímicos, farmacológicos y utilidad clínica, José Terán Dávila, Alejandro Teppa Garrán. 2004;72:76-84.
- Ausencia de efecto antiosteopénico de la terapia de reemplazo hormonal en mujeres posmenopáusicas, Dámaris Alejandra Ortiz Núñez, Gabriel Mengchún López, Imelda Hernández Marín, Rosario Mendoza, Aquiles R. Ayala Ruíz. 2004;72: 349-55.

C

- Cambio de Mesa Directiva de la Asociación Mexicana de Ginecología y Obstetricia. 2004;72:176-9.
- Cambios mecánicos del detrusor posteriores a la corrección quirúrgica de la incontinencia urinaria genuina de esfuerzo, Luis Eduardo Romero Nava, María del Pilar Velázquez Sánchez, Jorge Ralf Kunhardt Rasch. 2004;72:227-38.
- Cáncer del cuello uterino. Panorama actual de su epidemiología y de sus factores de riesgo, Alfonso Torres Lobatón, Guadalupe Rojo Herrera, Alfonso Torres Rojo, Gabino Hurtado Estrada, Edgar Román Bassaure. 2004;72: 466-74.
- Caracterización del espacio coriodecidual como un microambiente rico en moléculas efectoras que inducen la rotura de las membranas corioamnióticas durante el trabajo de parto, Rodrigo Vega Sánchez, Guadalupe Estrada Gutiérrez, Arturo Cérbulo

Vázquez, Jorge Beltrán Montoya, Felipe Vadillo Ortega. 2004;72:593-601.

- Carta al editor, Wálter Cardona Maya, Ángela Cadavid. 2004;72:658.
- Cesárea autoinfligida con supervivencia materna y fetal, A. Molina Sosa, H. Galván Espinosa, J. Gabriel Guzmán, R.F Valle. 2004;72: 166-9.
- Comparación de agonistas y antagonistas de GnRH en un programa de donación ovular, Eric Saucedo de la Llata, María Rosa Moraga Sánchez, Víctor Batiza Reséndiz, Roberto Santos Haliscak, Pedro Galache Vega, Samuel Hernández Ayup. 2004;72:53-56.
- Comparación de la evolución de mujeres con neoplasia intraepitelial cervical III tratadas con cono cervical: margen quirúrgico negativo y positivo, Mario A Chávez Zamudio, Susana Castro Laura. 2004;72: 279-82.
- Concentraciones de acenocumarina en el plasma y la leche de madres anticoaguladas durante el puerperio, Luis Eduardo Romero Nava, Aurora Belmont Gómez, Víctor Manuel Vidal González. 2004;72: 550-60.
- Conceptos actuales en tromboembolismo venoso y anticoagulación durante el embarazo, Susana Collado Peña, Luis Alberto Villanueva. 2004;72:150-61.
- Correlación entre las concentraciones intrafoliculares de la superóxido dismutasa y la calidad ovocitaria, las tasas de fertilización y el desarrollo embrionario, Alberto Kably Ambe, Julián Ruiz Anguas, Esperanza Carballo Mondragón, Clara Corona de Lau, Samuel Karchmer Krivitsky. 2004;72: 335-44.
- Correlación de calciurias con marcadores bioquímicos de reestructuración ósea, José Pío X de la Torre Vega, Norma Amador Licon, Lilia Zamora Mata, Alan El Jach Morales Ramos. 2004;72: 23-26.
- Correlación entre la densidad mineral ósea y el 17 β -estradiol sérico en mujeres postmenopáusicas, Beatriz Eugenia Cárdenas Morales, Eduardo Pérez Campos, Noé Gatica Valdez. 2004;72:95-102.

Craneofaringioma y sus repercusiones en la reproducción humana: análisis de 15 casos en el Hospital Juárez de México, Gaudencio Islas Cruz, José Alfredo Vite Vargas, Imelda Hernández Marín, Antonio Aguirre Ramírez, José María Tovar Rodríguez, Aquiles R. Ayala Ruíz. 2004;72:345-8.

Criterio actual para el diagnóstico del síndrome del ovario poliquístico, Arturo Zárate, Carlos Morán, Marcelino Hernández, Renata Saucedo. 2004;72:283-6.

Culdoscopia. Nuevo método exploratorio, José Manuel Septién. 2004;72:125-31.

D

Desarrollo psicosexual y educación sexual, Mario Souza y Machorro. 2004;72:475-86.

Discurso de toma de posesión como presidente de la Asociación Mexicana de Ginecología y Obstetricia (2004-2005), Estanislao Díaz Barriga Díaz 2004;72: 533-4.

E

Efecto de la vasectomía sobre la actividad de la arginasa en las glándulas sexuales accesorias de la rata, José D. Méndez, Gabriela Hernández, Martín Palomar Morales. 2004;72:581-7.

Efecto de los ejercicios del piso pélvico durante el embarazo y el puerperio en la prevención de la incontinencia urinaria de esfuerzo, Viridiana Gorbea Chávez, María del Pilar Velázquez Sánchez, Jorge R. Kunhardt Rasch. 2004;72:628-36.

Efecto *in vivo* de las secreciones del endometrio y del cuello uterino humano en el espermatozoide, Martha Merino Ruiz, Hilda Magdalena Luna Aranda, Rogelio García Flores, Oscar Vidal Gutiérrez, Felipe Arturo Morales Martínez, Luis Sordia Hernández, Donato Saldívar Rodríguez, Juana Vázquez Méndez. 2004;72:602-10.

Efectos del tratamiento de reemplazo hormonal sobre el sistema cardiovascular, el hueso y la memoria en pacientes en etapa del climaterio, Francisco Javier Zayas Jaime, Luis Jaime Elizondo Alanís, Marco Antonio Gaxiola Cueto, Esperanza Aragón Meras. 2004;72:16-22.

Eficacia de un instrumento clinimétrico en el diagnóstico de candidiasis vulvovaginal, Jesús

Reyna Figueroa, Verónica Morales Rangel, Federico Javier Ortiz Ibarra, Gerardo Casanova Román, Magdalena Beltrán Zúñiga. 2004;72:219-26.

Embarazo ectópico tubario abortado a la cavidad abdominal. Tratamiento con metotrexato por vía oral. Comunicación de un caso, Jesús Rodríguez Cardoso. 2004;72:45-46.

Empleo de la Rana Montezumae Baird en el Diagnóstico Biológico del Embarazo, J Martín Giménez Miranda, Ovidio Mendoza Chafreau. 2004;72:47-49.

Enfermedad metastásica vulvar: experiencia en el Instituto Nacional de Cancerología de México, Delia Pérez Montiel, Ana Graciela Puebla Mora, David Cantú de León. 2004;72: 215-8.

Esplenosis y dolor pélvico. Reporte de un caso y revisión de la literatura, Peggy Molina Vargas, Vivian Cruz Minoli, Rocío Morales Gómez, Germán Carreto Chávez, Laura Gabriela Cenicerros Franco, Guillermo Rocha del Valle. 2004;72:120-4.

Estudio clínico-patológico de coccidioidomicosis vinculada con el embarazo en cuatro mujeres mexicanas, Ana Laura Calderón Garcidueñas, Karina Piña Osuna, Ricardo M Cerda Flores. 2004;72:450-4.

Estudio de dos vías diferentes de administración de progesterona micronizada en reproducción asistida, Ernesto Gallardo Lozano, Patricia Ayón, Fernando Neuspiller. 2004;72:407-10.

Evaluación de la eficacia de la combinación de ketconazol/ clindamicina comparada con metronidazol/ nistatina en vaginitis candidiásica y vaginosis bacteriana, Enrique Gómez Bravo Topete, Miguel Garibay Valencia. 2004;72:575-80.

Experiencia clínica con el tratamiento a base de quimioterapia del tumor maligno de células germinales (disgerminoma) del ovario, Nicolás Ramírez Torres, María Antonia Basavilvazo Rodríguez, Alejandro Téllez Márquez, Germán Robles Robles, Roberto Lemus Rocha, Marcelino Hernández Valencia. 2004;72:500-7.

F

Factores de riesgo hormonal durante la promoción, progresión y pronóstico tumoral mamario, Edith Lucía Salazar Esquivel, Adrián Paredes López, Leobardo Calzada Sánchez. 2004;72:545-9.

Factores de riesgo materno y nacimiento pretérmino en un hospital público del occidente de México, J. Jesús Pérez Molina, Blanca Edith Cobián López, Carlos Alejandro Silva Maciel. 2004;72:142-9.

Factores de riesgo y muerte fetal anteparto, Gustavo Romero Gutiérrez, Carlos Armando Martínez Ceja, Ana Lilia Ponce Ponce de León, Elvira Ábrego Olvira. 2004;72:109-15.

Factores predisponentes al cáncer de mama en la Región Lagunera, Guadalupe Martínez Abundis, Pedro Cano Ríos, Sergio González Hernández, Francisco Javier Rosales Hernández 2004;72: 525-30.

Factores relacionados con el pronóstico del síndrome HELLP en mujeres con preeclampsia grave, Luis Alberto Villanueva Egan, María Elena Bohórquez Barragán, Patricia Alanís López. 2004;72: 394-9.

Frecuencia de anticuerpos frente al virus de la rubéola en mujeres en posparto inmediato, Desirée Sagarnaga Durante, Cecilia Delgado Monge, Guadalupe Sáenz Flores, Edith Tufiño Olivares, Margarita Levario Carrillo. 2004;72:445-9.

Frecuencia, factores de riesgo y colonización vaginal por *Escherichia coli*, Alberto González Pedraza Avilés, Gabriela Sánchez Hernández, Raúl Efrén Ponce Rosas. 2004;72: 68-75.

Frigidez sexual, Robert E. Rougelot. 2004;72:656-8.

G

Gangliocitoma hipofisario como causa de infertilidad, Daniel Leglisse Cisneros, Jorge Alberto Gómez Rivera, Magda Icel Salgado Jacobo, Aquiles R. Ayala Ruíz. 2004;72:361-4.

Grosor endometrial y predicción del embarazo en reproducción asistida, Manuel Leal Almeida, Eric Saucedo de la Llata, Víctor Batiza Resendiz, Roberto Santos Haliscak, Pedro Galache Vega, Samuel Hernández Ayup. 2004;72:116-9.

H

Herpes zoster en mujeres embarazadas inmunocompetentes y su repercusión perinatal, Gerardo Casanova Román, Jesús Reyna Figueroa, Ricardo Figueroa Damián, Javier Ortiz Ibarra. 2004;72:63-67.

Hipocalciuria durante el embarazo como factor de riesgo de preeclampsia, Benigno Linares Segovia,

Itzel Tlatilpa Vega, Enrique Cervantes Villarreal, Norma Amador Licona. 2004;72:570-4.

I

Impacto del prolactinoma en la reproducción humana, Ricardo Hurtado Amador, Aquiles R. Ayala, Imelda Hernández Marín. 2004;72:3-7.

Impacto económico del manejo del parto pretérmino con base en el resultado de fibronectina fetal, L. Ángel García Alonso, José Antonio Ayala Méndez, Guillermo Jiménez Solís, Fabiola Aguilar Gutiérrez, Laura Díaz Cueto. 2004;72:385-93.

Infarto de miocardio en el puerperio. Comunicación de un caso y reporte de la bibliografía, Leonardo Olvera Gracida, Claudia Villarreal Peral, Juan Pablo Hernández Olazábal. 2004;72:365-8.

Infección puerperal, Traducción del Dr. Fernando Alonso O. 2004;72:266-70.

L

La globalización y el ginecólogo, Carlos Fernández del Castillo S. 2004;72: 170-5

La interacción de los linfocitos coriodeciduals con los estreptococos del grupo B degrada el tejido conectivo del corioamnios, Guadalupe Estrada Gutiérrez, Raquel Reyes Trejo, Rolando Maida Claros, Jorge Beltrán Montoya, Felipe Vadillo Ortega. 2004;72:611-8.

M

Manejo de la fístula rectovaginal. Revisión de cinco años en la unidad de coloproctología del Hospital General de México, Luis Charúa Guindic, Leopoldo Retama Velasco, Octavio Avendaño Espinosa. 2004;72:209-14.

O

Obstrucción ureteral: una complicación no frecuente de la colposuspensión de Burch. Comunicación de dos casos, Sergio Alberto Flores Rosas, Rafael Cabrera Jácome, Alejandro Galeano Portillo. 2004;72:39-44.

P

Papel de los estrógenos en el soporte de la fase lútea en ciclos de fertilización *in vitro* con transferencia de embriones, Fernando Cecilio Paredes Chávez, Juan Carlos Barros Delgadillo, Senia Suyapa Ochoa

- Rueda, Gerardo Barroso Villa, Sergio Villalobos Acosta, Víctor Sánchez Solís, Mauricio Osorio Caballero, Fernando Gaviño Gaviño. 2004;72:645-55.
- Perspectivas actuales en el estudio y en la atención de las pacientes con cáncer cervicouterino, Víctor M. Valdespino Gómez, Víctor E. Valdespino Castillo. 2004;72:29-38.
- Placenta previa y desprendimiento prematuro de placenta, Traducción del Dr. Fernando Alonso O. 2004;72:487-90.
- Prácticas en la atención materna y perinatal realizadas en los hospitales públicos de Uruguay, Mercedes Colomar, María Belizán, María Luisa Cafferata, Ana Labandera, Giselle Tomasso, Fernando Althabe, José M. Belizán. 2004;72:455-65.
- Prematurez. Un enfoque perinatal, Roberto Ahued Ahued. 2004;72:531-2.
- Prevalencia de *Streptococcus agalactiae* del serotipo III en embarazadas, Alberto Villaseñor Sierra, Patricia Morales Velázquez, Gerardo Palacios Saucedo, Fortino Solórzano Santos. 2004;72:103-8.
- Prolapso genital, Jorge Delgado Urdapilleta 2004;72:356-60.
- Pubertad precoz heterosexual por arrenoblastoma: embarazo espontáneo postescisión, Yanet R. Málaga Correa, José María Tovar Rodríguez, Imelda Hernández Marín, Aquiles R. Ayala. 2004;72:247-50.

R

- Recomendaciones específicas para evitar la mala práctica en neonatología 2004;72:372-81.
- Recomendaciones específicas para mejorar la atención médica en el diagnóstico prenatal 2004;72:415-42.
- Recomendaciones generales para mejorar la calidad de la atención obstétrica 2004;72:295-331.
- Reflexiones sobre una vocación científica, Samuel Karchmer K. 2004;72:382.
- Relación entre los antecedentes maternos patológicos y el diagnóstico de peso al nacer, Vanessa Mota Sanhua, Carlos Miguel Salazar Juárez, Ma. del Carmen Neri Moreno, Enrique Granja Posada, Martha Kaufer Horwitz, Roxana Valdés Ramos, Victoria Caraveo Enríquez, Héctor Ávila Rosas. 2004;72:561-9.
- Requisitos uniformes para preparar los manuscritos enviados a revistas biomédicas: Redacción y edición

para publicación biomédica (primera parte) 2004;72:180-93.

Requisitos uniformes para los manuscritos enviados a revistas biomédicas: redacción y edición para publicación biomédica (segunda parte) 2004;72:251-65.

Respuesta acrosomal de espermatozoides humanos demostrada con clorotetraciclina, Martha Merino Ruiz, Hilda Magdalena Luna Aranda, Arturo Morales Martínez, Donato Saldívar Rodríguez, Oscar Vidal Gutiérrez. 2004;72:239-46.

Resultado perinatal de un programa de reproducción asistida institucional, Senia Suyapa Ochoa Rueda, Juan Carlos Barros Delgadillo, Fernando Cecilio Paredes Chávez, Gerardo Barroso Villa, Sergio Villalobos Acosta, Víctor Sánchez Solís, Mauricio Osorio Caballero, Fernando Gaviño Gaviño. 2004;72:619-27.

S

Significado clínico de los resultados de laboratorio en las pacientes preeclámpticas, María Luisa Peralta Pedrero, Ma. Antonia Basavilvazo Rodríguez, Agles Cruz Avelar, Silvia Sánchez Ambríz, María de los Ángeles Guzmán Ibarra, María del Carmen Martínez García. 2004;72:57-62.

Síndrome agudo doloroso por tumoraciones funcionales del ovario, Genaro Zenteno Garduño. 2004;72:287-94.

Sinfisiotomía, José Ramírez Olivella 2004;72:535-42.

Supervivencia de pacientes con cáncer de mama tratadas con inhibidores de la aromatización vs tamoxifeno, Germán Castelazo Rico, Donaji Molotla Xolalpa, María Antonia Basavilvazo Rodríguez, Leobardo Ángeles Victoria, Arturo Zárate, Marcelino Hernández Valencia. 2004;72:493-9.

T

Terapia de reemplazo hormonal y cáncer de mama. Estudio de casos y controles, María Antonia Basavilvazo Rodríguez, Alfonso Díaz Quiroz, Roberto Lemus Rocha, Leobardo Ángeles Victoria, Arturo Zárate, Marcelino Hernández Valencia. 2004;72:10-15.

Tratamiento de la esterilidad masculina, Traducción del Dr. H. Quirarte. 2004;72:369-71.

Tratamiento de la sífilis durante el embarazo, Traducción del Dr. Urbano Barnes. 2004;72:411-4.

Tratamiento médico del embarazo ectópico no roto, Elizabeth Rojas Mora, Luis Edmundo Hernández Vivar, Jesús Sánchez Contreras, Roberto José Risco Cortés, Víctor Hugo Pulido Olivares. 2004;72:135-41.

Tromboembolia pulmonar en obstetricia, José Angulo Vázquez, Andrés Ramírez García, Luis Guillermo Torres Gómez, Alejandro Vargas González, Laura Cortés Sanabria. 2004;72:400-6.

U

Un foro para la actualización continua, Carlos Fernández del Castillo. 2004;72:51-52.

Urolitiasis y embarazo. Presentación de resultados y norma de manejo en el Instituto Nacional de Perinatología, Luis Eduardo Romero Nava, María del Pilar Velázquez Sánchez, Jorge Ralph Kunhardt Rasch. 2004;72:515-24.

Uterosalpingografía, Traducción del Dr. A. López de Nava. 2004;72:588-90.

V

Valor de las características morfológicas del cuerpo polar como factor de predicción del desarrollo embrionario, Alberto Kably Ambe, Julián Ruiz Anguas, Esperanza Carballo Mondragón, Leonor Durán Monterrosas. 2004;72:637-44.

Índice onomástico del volumen 72, 2004

- Ábrego Olivira Elvira (Ver Romero Gutiérrez Gustavo, Martínez Ceja Carlos Armando, Ponce Ponce de León Ana Lilia. 2004;72:109-15).
- Aguilar Gutiérrez Fabiola (Ver García Alonso L. Ángel, Ayala Méndez José Antonio, Jiménez Solís Guillermo, Díaz Cueto Laura. 2004;72:385-93).
- Aguirre Ramírez Antonio (Ver Islas Cruz Gaudencio, Vite Vargas José Alfredo, Hernández Marín Imelda, Tovar Rodríguez José María, Ayala Ruíz Aquiles R. 2004;72:345-8).
- Alanís López Patricia (Ver Villanueva Egan Luis Alberto, Bohórquez Barragán María Elena. 2004;72:394-9).
- Alonso O Fernando. 2004;72:487-90.
- Althabe Fernando (Ver Colomar Mercedes, Belizán María, Cafferata María Luisa, Labandera Ana, Tomasso Giselle, Belizán José M. 2004;72:455-65).
- Altúzar González Marlene (Ver Montesinos Balboa Jorge Eduardo, Benítez Castillejos Fortunato. 2004;72:508-14).
- Amador Licon Norma (Ver De la Torre Vega José Pío X, Zamora Mata Lilia, Morales Ramos Alan El Jach. 2004;72:23-26).
- Amador Licon Norma (Ver Linares Segovia Benigno, Tlatilpa Vega Itzel, Cervantes Villarreal Enrique. 2004;72:570-4).
- Ángeles Victoria Leobardo (Ver Basavilvazo Rodríguez María Antonia, Díaz Quiroz Alfonso, Lemus Rocha Roberto, Zárate Arturo, Hernández Valencia Marcelino. 2004;72:10-15).
- Ángeles Victoria Leobardo (Ver Castelazo Rico Germán, Molotla Xolalpa Donaji, Basavilvazo Rodríguez María Antonia, Zárate Arturo, Hernández Valencia Marcelino. 2004;72:493-9).
- Angulo Vázquez José (Ver Ramírez García Andrés, Torres Gómez Luis Guillermo, Vargas González Alejandro, Cortés Sanabria Laura. 2004;72:400-6).
- Aragón Meras Esperanza (Ver Zayas Jaime Francisco Javier, Elizondo Alanís Luis Jaime, Gaxiola Cueto Marco Antonio. 2004;72:16-22).
- Avendaño Espinosa Octavio (Ver Charúa Guindic Luis, Retama Velasco Leopoldo. 2004;72:209-14).
- Ávila Rosas Héctor (Ver Mota Sanhua Vanesa, Salazar Juárez Carlos Miguel, Neri Moreno Ma. del Carmen, Granja Posada Enrique, Kaufer Horwitz Martha, Valdés Ramos Roxana, Caraveo Enríquez Victoria. 2004;72:561-9).
- Ayala Aquiles R (Ver Hurtado Amador Ricardo, Hernández Marín Imelda. 2004;72:3-7).
- Ayala Aquiles R (Ver Málaga Correa Yanet R, Tovar Rodríguez José María, Hernández Marín Imelda. 2004;72:247-50).
- Ayala Méndez José Antonio (Ver García Alonso L. Ángel, Jiménez Solís Guillermo, Aguilar Gutiérrez Fabiola, Díaz Cueto Laura. 2004;72:385-93).
- Ayala Ruíz Aquiles R (Ver Islas Cruz Gaudencio, Vite Vargas José Alfredo, Hernández Marín Imelda, Aguirre Ramírez Antonio, Tovar Rodríguez José María 2004;72:345-8).
- Ayala Ruíz Aquiles R (Ver Leglisce Cisneros Daniel, Gómez Rivera Jorge Alberto, Salgado Jacobo Magda Icel. 2004;72:361-4).
- Ayala Ruíz Aquiles R (Ver Ortiz Núñez Dámaris Alejandra, Mengchún López Gabriel, Hernández Marín Imelda, Mendoza Rosario. 2004;72:349-55).
- Ayón Patricia (Ver Gallardo Lozano Ernesto, Neuspiller Fernando. 2004;72:407-10).
- Barnes Urbano. 2004;72:411-4.
- Barros Delgadillo Juan Carlos (Ver Ochoa Rueda Senia Suyapa, Paredes Chávez Fernando Cecilio, Barroso Villa Gerardo, Villalobos Acosta Sergio, Sánchez Solís Víctor, Osorio Caballero Mauricio, Gaviño Gaviño Fernando. 2004;72:619-27).
- Barros Delgadillo Juan Carlos (Ver Paredes Chávez Fernando Cecilio, Ochoa Rueda Senia Suyapa, Barroso Villa Gerardo, Villalobos Acosta Sergio, Sánchez Solís Víctor, Osorio Caballero Mauricio, Gaviño Gaviño Fernando. 2004;72:645-55).
- Barroso Villa Gerardo (Ver Ochoa Rueda Senia Suyapa, Barros Delgadillo Juan Carlos, Paredes Chávez Fernando Cecilio, Villalobos Acosta Sergio, Sánchez Solís Víctor, Osorio Caballero Mauricio, Gaviño

- Gaviño Fernando. 2004;72:619-27).
- Barroso Villa Gerardo (Ver Paredes Chávez Fernando Cecilio, Barros Delgadillo Juan Carlos, Ochoa Rueda Senia Suyapa, Villalobos Acosta Sergio, Sánchez Solís Víctor, Osorio Caballero Mauricio, Gaviño Gaviño Fernando. 2004;72:645-55).
- Basavilvazo Rodríguez Ma. Antonia (Ver Peralta Pedrero María Luisa, Cruz Avelar Agles, Sánchez Ambríz Silvia, Guzmán Ibarra María de los Ángeles, Martínez García María del Carmen. 2004;72:57-62).
- Basavilvazo Rodríguez María Antonia (Ver Castelazo Rico Germán, Molotla Xolalpa Donaji, Ángeles Victoria Leobardo, Zárate Arturo, Hernández Valencia Marcelino. 2004;72:493-9).
- Basavilvazo Rodríguez María Antonia (Ver Díaz Quiroz Alfonso, Lemus Rocha Roberto, Ángeles Victoria Leobardo, Zárate Arturo, Hernández Valencia Marcelino. 2004;72:10-15).
- Basavilvazo Rodríguez María Antonia (Ver Ramírez Torres Nicolás, Téllez Márquez Alejandro, Robles Robles Germán, Lemus Rocha Roberto, Hernández Valencia Marcelino. 2004;72:500-7).
- Batiza Resendiz Víctor (Ver Leal Almeida Manuel, Saucedo de la Llata Eric, Santos Haliscak Roberto, Galache Vega Pedro, Hernández Ayup Samuel. 2004;72:116-9).
- Batiza Reséndiz Víctor (Ver Saucedo de la Llata Eric, Moraga Sánchez María Rosa, Santos Haliscak Roberto, Galache Vega Pedro, Hernández Ayup Samuel. 2004;72:53-56).
- Belizán José M (Ver Colomar Mercedes, Belizán María, Cafferata María Luisa, Labandera Ana, Tomasso Giselle, Althabe Fernando. 2004;72:455-65).
- Belizán María (Ver Colomar Mercedes, Cafferata María Luisa, Labandera Ana, Tomasso Giselle, Althabe Fernando, Belizán José M. 2004;72:455-65).
- Belmont Gómez Aurora (Ver Romero Nava Luis Eduardo, Vidal González Víctor Manuel. 2004;72:550-60).
- Beltrán Montoya Jorge (Ver Estrada Gutiérrez Guadalupe, Reyes Trejo Raquel, Maida Claros Rolando, Vadillo Ortega Felipe. 2004;72:611-8).
- Beltrán Montoya Jorge (Ver Vega Sánchez Rodrigo, Estrada Gutiérrez Guadalupe, Cérbulo Vázquez Arturo, Vadillo Ortega Felipe. 2004;72:593-601).
- Beltrán Zúñiga Magdalena (Ver Reyna Figueroa Jesús, Morales Rangel Verónica, Ortiz Ibarra Federico Javier, Casanova Román Gerardo. 2004;72:219-26).
- Benítez Castillejos Fortunato (Ver Montesinos Balboa Jorge Eduardo, Altúzar González Marlene. 2004;72:508-14).
- Bohórquez Barragán María Elena (Ver Villanueva Egan Luis Alberto, Alanís López Patricia. 2004;72:394-9).
- Cabrera Jácome Rafael (Ver Flores Rosas Sergio Alberto, Galeano Portillo Alejandro. 2004;72:39-44).
- Cadavid Ángela (Ver Cardona Maya Wálter. 2004;72:659-60).
- Cafferata María Luisa (Ver Colomar Mercedes, Belizán María, Labandera Ana, Tomasso Giselle, Althabe Fernando, Belizán José M. 2004;72:455-65).
- Calderón Garcidueñas Ana Laura (Ver Piña Osuna Karina, Cerda Flores Ricardo M. 2004;72:450-4).
- Calzada Sánchez Leobardo (Ver Salazar Esquivel Edith Lucía, Paredes López Adrián. 2004;72:545-9).
- Cano Ríos Pedro (Ver Martínez Abundis Guadalupe, González Hernández Sergio, Rosales Hernández Francisco Javier 2004;72: 525-30).
- Cantú de León David (Ver Pérez Montiel Delia, Puebla Mora Ana Graciela. 2004;72: 215-8).
- Caraveo Enríquez Victoria (Ver Mota Sanhua Vanesa, Salazar Juárez Carlos Miguel, Neri Moreno Ma. del Carmen, Granja Posada Enrique, Kaufer Horwitz Martha, Valdés Ramos Roxana, Ávila Rosas Héctor. 2004;72:561-9).
- Carballo Mondragón Esperanza (Ver Kably Ambe Alberto, Ruiz Anguas Julián, Corona de Lau Clara, Karchmer Krivitsky Samuel. 2004;72: 335-44).
- Carballo Mondragón Esperanza (Ver Kably Ambe Alberto, Ruiz Anguas Julián, Durán Monterrosas Leonor. 2004;72:637-44).
- Cárdenas Morales Beatriz Eugenia (Ver Pérez Campos Eduardo, Gatica Valdez Noé. 2004;72:95-102).
- Cardona Maya Wálter (Ver Cadavid Ángela. 2004;72:659-60).
- Carrera Rivapalacio Alfonso Martínez Reyes Zócimo (Ver Mejía Salazar Yelenys Reyna, Hernández González Mercedes, Martínez Reyes Zócimo. 2004;72:162-5).
- Carreto Chávez Germán (Ver Molina Vargas Peggy, Cruz Minoli Vivian, Morales Gómez Rocío, Cenicerros Franco Laura Gabriela, Rocha del Valle Guillermo. 2004;72:120-4).

- Casanova Román Gerardo (Ver Reyna Figueroa Jesús, Figueroa Damián Ricardo, Ortiz Ibarra Javier. 2004;72:63-67).
- Casanova Román Gerardo (Ver Reyna Figueroa Jesús, Morales Rangel Verónica, Ortiz Ibarra Federico Javier, Beltrán Zúñiga Magdalena. 2004;72:219-26).
- Castelazo Morales Ernesto 2004;72:543-4.
- Castelazo Rico Germán (Ver Molotla Xolalpa Donaji, Basavilvazo Rodríguez María Antonia, Ángeles Victoria Leobardo, Zárate Arturo, Hernández Valencia Marcelino. 2004;72:493-9).
- Castro Laura Susana (Ver Chávez Zamudio Mario A. 2004;72: 279-82).
- Ceniceros Franco Laura Gabriela (Ver Molina Vargas Peggy, Cruz Minoli Vivian, Morales Gómez Rocío, Carreto Chávez Germán, Rocha del Valle Guillermo. 2004;72:120-4).
- Cérbulo Vázquez Arturo (Ver Vega Sánchez Rodrigo, Estrada Gutiérrez Guadalupe, Beltrán Montoya Jorge, Vadillo Ortega Felipe. 2004;72:593-601).
- Cerda Flores Ricardo M (Ver Calderón Garcidueñas Ana Laura, Piña Osuna Karina 2004;72:450-4).
- Cervantes Villarreal Enrique (Ver Linares Segovia Benigno, Tlatilpa Vega Itzel, Amador Licon Norma. 2004;72:570-4).
- Charúa Guindic Luis (Ver Retama Velasco Leopoldo, Avendaño Espinosa Octavio. 2004;72:209-14).
- Chávez Zamudio Mario A (Ver Castro Laura Susana. 2004;72: 279-82).
- Cobián López Blanca Edith (Ver Pérez Molina J. Jesús, Silva Maciel Carlos Alejandro. 2004;72:142-9).
- Collado Peña Susana (Ver Villanueva Luis Alberto. 2004;72:150-61).
- Collado Peña Susana (Ver Villanueva Luis Alberto. 2004;72:273-8).
- Colomar Mercedes (Ver Belizán María, Cafferata María Luisa, Labandera Ana, Tomasso Giselle, Althabe Fernando, Belizán José M. 2004;72:455-65).
- Corona de Lau Clara (Ver Kably Ambe Alberto, Ruiz Anguas Julián, Carballo Mondragón Esperanza, Karchmer Krivitsky Samuel. 2004;72: 335-44).
- Cortés Sanabria Laura (Ver Angulo Vázquez José, Ramírez García Andrés, Torres Gómez Luis Guillermo, Vargas González Alejandro. 2004;72:400-6).
- Cruz Avelar Agles (Ver Peralta Pedrero María Luisa, Basavilvazo Rodríguez Ma. Antonia, Sánchez Ambríz Silvia, Guzmán Ibarra María de los Ángeles, Martínez García María del Carmen. 2004;72:57-62).
- Cruz Minoli Vivian (Ver Molina Vargas Peggy, Morales Gómez Rocío, Carreto Chávez Germán, Ceniceros Franco Laura Gabriela, Rocha del Valle Guillermo. 2004;72:120-4).
- De la Torre Vega José Pío X (Ver Amador Licon Norma, Zamora Mata Lilia, Morales Ramos Alan El Jach. 2004;72: 23-26).
- Delgado Monge Cecilia (Ver Sagarnaga Durante Desirée, Sáenz Flores Guadalupe, Tufiño Olivares Edith, Levario Carrillo Margarita. 2004;72:445-9).
- Delgado Urdapilleta Jorge 2004;72:491-2.
- Delgado Urdapilleta Jorge. 2004;72:356-60.
- Díaz Barriga Díaz Estanislao. 2004;72:533-4.
- Díaz Cueto Laura (Ver García Alonso L. Ángel, Ayala Méndez José Antonio, Jiménez Solís Guillermo, Aguilar Gutiérrez Fabiola. 2004;72:385-93).
- Díaz Quiroz Alfonso (Ver Basavilvazo Rodríguez María Antonia, Lemus Rocha Roberto, Ángeles Victoria Leobardo, Zárate Arturo, Hernández Valencia Marcelino. 2004;72:10-15).
- Durán Monterrosas Leonor (Ver Kably Ambe Alberto, Ruiz Anguas Julián, Carballo Mondragón Esperanza. 2004;72:637-44).
- Elizondo Alanís Luis Jaime (Ver Zayas Jaime Francisco Javier, Gaxiola Cueto Marco Antonio, Aragón Meras Esperanza. 2004;72:16-22).
- Estrada Gutiérrez Guadalupe (Ver Reyes Trejo Raquel, Maida Claros Rolando, Beltrán Montoya Jorge, Vadillo Ortega Felipe. 2004;72:611-8).
- Estrada Gutiérrez Guadalupe (Ver Vega Sánchez Rodrigo, Cérbulo Vázquez Arturo, Beltrán Montoya Jorge, Vadillo Ortega Felipe. 2004;72:593-601).
- Fernández del Castillo Carlos. 2004;72:93-94.
- Fernández del Castillo Carlos. 2004;72:1-2.
- Fernández del Castillo Carlos. 2004;72:133-4.
- Fernández del Castillo Carlos. 2004;72:207-8.
- Fernández del Castillo Carlos. 2004;72:271-2.
- Fernández del Castillo Carlos. 2004;72:333-4.
- Fernández del Castillo Carlos. 2004;72:51-52.
- Fernández del Castillo Carlos. 2004;72:383-4.
- Fernández del Castillo Carlos. 2004;72:443-4.
- Fernández del Castillo Carlos. 2004;72: 170-5
- Fernández del Castillo Carlos. 2004;72:531-2.

- Fernando Alonso O. 2004;72:266-70.
- Figuerola Damián Ricardo (Ver Casanova Román Gerardo, Reyna Figuerola Jesús, Ortiz Ibarra Javier. 2004;72:63-67).
- Flores Rosas Sergio Alberto (Ver Cabrera Jácome Rafael, Galeano Portillo Alejandro. 2004;72:39-44).
- Gabriel Guzmán J (Ver Molina Sosa A, Galván Espinosa H, Valle RF. 2004;72:166-9).
- Galache Vega Pedro (Ver Leal Almeida Manuel, Saucedo de la Llata Eric, Batiza Resendiz Víctor, Santos Haliscak Roberto, Hernández Ayup Samuel. 2004;72:116-9).
- Galache Vega Pedro (Ver Saucedo de la Llata Eric, Moraga Sánchez María Rosa, Batiza Reséndiz Víctor, Santos Haliscak Roberto, Hernández Ayup Samuel. 2004;72:53-56).
- Galeano Portillo Alejandro (Ver Flores Rosas Sergio Alberto, Cabrera Jácome Rafael. 2004;72:39-44).
- Gallardo Lozano Ernesto (Ver Ayón Patricia, Neuspiller Fernando. 2004;72:407-10).
- Galván Espinosa H (Ver Molina Sosa A, Gabriel Guzmán J, Valle RF. 2004;72:166-9).
- García Alonso L. Ángel (Ver Ayala Méndez José Antonio, Jiménez Solís Guillermo, Aguilar Gutiérrez Fabiola, Díaz Cueto Laura. 2004;72:385-93).
- García Flores Rogelio (Ver Merino Ruiz Martha, Luna Aranda Hilda Magdalena, Vidal Gutiérrez Oscar, Morales Martínez Felipe Arturo, Sordia Hernández Luis, Saldívar Rodríguez Donato, Vázquez Méndez Juana. 2004;72:602-10).
- Garibay Valencia Miguel (Ver Gómez Bravo Topete Enrique. 2004;72:575-80).
- Gatica Valdez Noé (Ver Cárdenas Morales Beatriz Eugenia, Pérez Campos Eduardo. 2004;72:95-102).
- Gaviño Gaviño Fernando (Ver Ochoa Rueda Senia Suyapa, Barros Delgadillo Juan Carlos, Paredes Chávez Fernando Cecilio, Barroso Villa Gerardo, Villalobos Acosta Sergio, Sánchez Solís Víctor, Osorio Caballero Mauricio. 2004;72:619-27).
- Gaviño Gaviño Fernando (Ver Paredes Chávez Fernando Cecilio, Barros Delgadillo Juan Carlos, Ochoa Rueda Senia Suyapa, Barroso Villa Gerardo, Villalobos Acosta Sergio, Sánchez Solís Víctor, Osorio Caballero Mauricio. 2004;72:645-55).
- Gaxiola Cueto Marco Antonio (Ver Zayas Jaime Francisco Javier, Elizondo Alanís Luis Jaime, Aragón Meras Esperanza. 2004;72:16-22).
- Giménez Miranda J Martín (Ver Mendoza Chafreau Ovidio. 2004;72:47-49).
- Gómez Bravo Topete Enrique (Ver Garibay Valencia Miguel. 2004;72:575-80).
- Gómez Rivera Jorge Alberto (Ver Leglisce Cisneros Daniel, Salgado Jacobo Magda Icel, Ayala Ruíz Aquiles R. 2004;72:361-4).
- González Hernández Sergio (Ver Martínez Abundis Guadalupe, Cano Ríos Pedro, Rosales Hernández Francisco Javier 2004;72: 525-30).
- González Pedraza Avilés Alberto (Ver Sánchez Hernández Gabriela, Ponce Rosas Raúl Efrén. 2004;72: 68-75).
- Gorbea Chávez Viridiana (Ver Velázquez Sánchez María del Pilar, Kunhardt Rasch Jorge R. 2004;72:628-36).
- Granja Posada Enrique (Ver Mota Sanhua Vanesa, Salazar Juárez Carlos Miguel, Neri Moreno Ma. del Carmen, Kaufer Horwitz Martha, Valdés Ramos Roxana, Caraveo Enríquez Victoria, Ávila Rosas Héctor. 2004;72:561-9).
- Guzmán Ibarra María de los Ángeles (Ver Peralta Pedrero María Luisa, Basavilvazo Rodríguez Ma. Antonia, Cruz Avelar Agles, Sánchez Ambríz Silvia, Martínez García María del Carmen. 2004;72:57-62).
- Hernández Ayup Samuel (Ver Leal Almeida Manuel, Saucedo de la Llata Eric, Batiza Resendiz Víctor, Santos Haliscak Roberto, Galache Vega Pedro. 2004;72:116-9).
- Hernández Ayup Samuel (Ver Saucedo de la Llata Eric, Moraga Sánchez María Rosa, Batiza Reséndiz Víctor, Santos Haliscak Roberto, Galache Vega Pedro. 2004;72:53-56).
- Hernández Gabriela (Ver Méndez José D, Palomar Morales Martín. 2004;72:581-7).
- Hernández González Mercedes (Ver Mejía Salazar Yelenys Reyna, Martínez Reyes Zócimo, Carrera Rivapalacio Alfonso. 2004;72:162-5).
- Hernández Marcelino (Ver Zárteaga Arturo, Morán Carlos, Saucedo Renata. 2004;72:283-6).
- Hernández Marín Imelda (Ver Hurtado Amador Ricardo, Ayala Aquiles R. 2004;72:3-7).
- Hernández Marín Imelda (Ver Islas Cruz Gaudencio, Vite Vargas José Alfredo, Aguirre Ramírez Antonio, Tovar Rodríguez José María, Ayala Ruíz Aquiles R.

- 2004;72:345-8).
- Hernández Marín Imelda (Ver Málaga Correa Yanet R, Tovar Rodríguez José María, Ayala Aquiles R. 2004;72:247-50).
- Hernández Marín Imelda (Ver Ortiz Núñez Dámaris Alejandra, Mengchún López Gabriel, Mendoza Rosario, Ayala Ruíz Aquiles R. 2004;72: 349-55).
- Hernández Olazábal Juan Pablo (Ver Olvera Gracida Leonardo, Villarreal Peral Claudia. 2004;72:365-8).
- Hernández Valencia Marcelino (Ver Basavilvazo Rodríguez María Antonia, Díaz Quiroz Alfonso, Lemus Rocha Roberto, Ángeles Victoria Leobardo, Zárate Arturo. 2004;72:10-15).
- Hernández Valencia Marcelino (Ver Castelazo Rico Germán, Molotla Xolalpa Donaji, Basavilvazo Rodríguez María Antonia, Ángeles Victoria Leobardo, Zárate Arturo. 2004;72:493-9).
- Hernández Valencia Marcelino (Ver Ramírez Torres Nicolás, Basavilvazo Rodríguez María Antonia, Téllez Márquez Alejandro, Robles Robles Germán, Lemus Rocha Roberto. 2004;72:500-7).
- Hernández Vivar Luis Edmundo (Ver Rojas Mora Elizabeth, Sánchez Contreras Jesús, Risco Cortés Roberto José, Pulido Olivares Víctor Hugo. 2004;72:135-41).
- Hurtado Amador Ricardo (Ver Ayala Aquiles R, Hernández Marín Imelda. 2004;72:3-7).
- Hurtado Estrada Gabino (Ver Torres Lobatón Alfonso, Rojo Herrera Guadalupe, Torres Rojo Alfonso, Román Bassaure Edgar. 2004;72: 466-74).
- Islas Cruz Gaudencio (Ver Vite Vargas José Alfredo, Hernández Marín Imelda, Aguirre Ramírez Antonio, Tovar Rodríguez José María, Ayala Ruíz Aquiles R. 2004;72:345-8).
- Jiménez Solís Guillermo (Ver García Alonso L. Ángel, Ayala Méndez José Antonio, Aguilar Gutiérrez Fabiola, Díaz Cueto Laura. 2004;72:385-93).
- Kably Ambe Alberto (Ver Ruiz Anguas Julián, Carballo Mondragón Esperanza, Corona de Lau Clara, Karchmer Krivitsky Samuel. 2004;72: 335-44).
- Kably Ambe Alberto (Ver Ruiz Anguas Julián, Carballo Mondragón Esperanza, Durán Monterrosas Leonor. 2004;72:637-44).
- Karchmer K Samuel. 2004;72:382.
- Karchmer Krivitsky Samuel (Ver Kably Ambe Alberto, Ruiz Anguas Julián, Carballo Mondragón Esperanza, Corona de Lau Clara. 2004;72: 335-44).
- Kaufer Horwitz Martha (Ver Mota Sanhua Vanesa, Salazar Juárez Carlos Miguel, Neri Moreno Ma. del Carmen, Granja Posada Enrique, Valdés Ramos Roxana, Caraveo Enríquez Victoria, Ávila Rosas Héctor. 2004;72:561-9).
- Kunhardt Rasch Jorge R (Ver Gorbea Chávez Viridiana, Velázquez Sánchez María del Pilar. 2004;72:628-36).
- Kunhardt Rasch Jorge Ralf (Ver Romero Nava Luis Eduardo, Velázquez Sánchez María del Pilar. 2004;72:227-38).
- Kunhardt Rasch Jorge Ralph (Ver Romero Nava Luis Eduardo, Velázquez Sánchez María del Pilar. 2004;72:515-24).
- Labandera Ana (Ver Colomar Mercedes, Belizán María, Cafferata María Luisa, Tomasso Giselle, Althabe Fernando, Belizán José M. 2004;72:455-65).
- Leal Almeida Manuel (Ver Saucedo de la Llata Eric, Batiza Resendiz Víctor, Santos Haliscak Roberto, Galache Vega Pedro, Hernández Ayup Samuel. 2004;72:116-9).
- Leglisse Cisneros Daniel (Ver Gómez Rivera Jorge Alberto, Salgado Jacobo Magda Icel, Ayala Ruíz Aquiles R. 2004;72:361-4).
- Lemus Rocha Roberto (Ver Basavilvazo Rodríguez María Antonia, Díaz Quiroz Alfonso, Ángeles Victoria Leobardo, Zárate Arturo, Hernández Valencia Marcelino. 2004;72:10-15).
- Lemus Rocha Roberto (Ver Ramírez Torres Nicolás, Basavilvazo Rodríguez María Antonia, Téllez Márquez Alejandro, Robles Robles Germán, Hernández Valencia Marcelino. 2004;72:500-7).
- Levario Carrillo Margarita (Ver Sagarnaga Durante Desirée, Delgado Monge Cecilia, Sáenz Flores Guadalupe, Tufiño Olivares Edith. 2004;72:445-9).
- Linares Segovia Benigno (Ver Tlatilpa Vega Itzel, Cervantes Villarreal Enrique, Amador Licon Norma. 2004;72:570-4).
- López de Nava A. 2004;72:588-90.
- Luna Aranda Hilda Magdalena (Ver Merino Ruiz Martha, García Flores Rogelio, Vidal Gutiérrez Oscar, Morales Martínez Felipe Arturo, Sordia Hernández Luis, Saldívar Rodríguez Donato, Vázquez Méndez Juana. 2004;72:602-10).
- Luna Aranda Hilda Magdalena (Ver Merino Ruiz Martha, Morales Martínez Arturo, Saldívar

- Rodríguez Donato, Vidal Gutiérrez Oscar. 2004;72:239-46).
- Maida Claros Rolando (Ver Estrada Gutiérrez Guadalupe, Reyes Trejo Raquel, Beltrán Montoya Jorge, Vadillo Ortega Felipe. 2004;72:611-8).
- Málaga Correa Yanet R (Ver Tovar Rodríguez José María, Hernández Marín Imelda, Ayala Aquiles R. 2004;72:247-50).
- Martínez Abundis Guadalupe (Ver Cano Ríos Pedro, González Hernández Sergio, Rosales Hernández Francisco Javier 2004;72: 525-30).
- Martínez Ceja Carlos Armando (Ver Romero Gutiérrez Gustavo, Ponce Ponce de León Ana Lilia, Ábrego Olvira Elvira. 2004;72:109-15).
- Martínez García María del Carmen (Ver Peralta Pedrero María Luisa, Basavilvazo Rodríguez Ma. Antonia, Cruz Avelar Agles, Sánchez Ambríz Silvia, Guzmán Ibarra María de los Ángeles. 2004;72:57-62).
- Martínez Reyes Zócimo (Ver Mejía Salazar Yelenys Reyna, Hernández González Mercedes, Carrera Rivapalacio Alfonso. 2004;72:162-5).
- Mejía Salazar Yelenys Reyna (Ver Hernández González Mercedes, Martínez Reyes Zócimo, Carrera Rivapalacio Alfonso. 2004;72:162-5).
- Méndez José D (Ver Hernández Gabriela, Palomar Morales Martín. 2004;72:581-7).
- Mendoza Chafreau Ovidio (Ver Giménez Miranda J Martín. 2004;72:47-49).
- Mendoza Rosario (Ver Ortiz Núñez Dámaris Alejandra, Mengchún López Gabriel, Hernández Marín Imelda, Ayala Ruíz Aquiles R. 2004;72: 349-55).
- Mengchún López Gabriel (Ver Ortiz Núñez Dámaris Alejandra, Hernández Marín Imelda, Mendoza Rosario, Ayala Ruíz Aquiles R. 2004;72: 349-55).
- Merino Ruiz Martha (Ver Luna Aranda Hilda Magdalena, García Flores Rogelio, Vidal Gutiérrez Oscar, Morales Martínez Felipe Arturo, Sordia Hernández Luis, Saldívar Rodríguez Donato, Vázquez Méndez Juana. 2004;72:602-10).
- Merino Ruiz Martha (Ver Luna Aranda Hilda Magdalena, Morales Martínez Arturo, Saldívar Rodríguez Donato, Vidal Gutiérrez Oscar. 2004;72:239-46).
- Molina Sosa A (Ver Galván Espinosa H, Gabriel Guzmán J, Valle RF. 2004;72:166-9).
- Molina Vargas Peggy (Ver Cruz Minoli Vivian, Morales Gómez Rocío, Carreto Chávez Germán, Ceniceros Franco Laura Gabriela, Rocha del Valle Guillermo. 2004;72:120-4).
- Molotla Xolalpa Donaji (Ver Castelazo Rico Germán, Basavilvazo Rodríguez María Antonia, Ángeles Victoria Leobardo, Zárate Arturo, Hernández Valencia Marcelino. 2004;72:493-9).
- Montesinos Balboa Jorge Eduardo (Ver Altúzar González Marlene, Benítez Castillejos Fortunato. 2004;72:508-14).
- Moraga Sánchez María Rosa (Ver Saucedo de la Llata Eric, Batiza Reséndiz Víctor, Santos Haliscak Roberto, Galache Vega Pedro, Hernández Ayup Samuel. 2004;72:53-56).
- Morales Gómez Rocío (Ver Molina Vargas Peggy, Cruz Minoli Vivian, Carreto Chávez Germán, Ceniceros Franco Laura Gabriela, Rocha del Valle Guillermo. 2004;72:120-4).
- Morales Martínez Arturo (Ver Merino Ruiz Martha, Luna Aranda Hilda Magdalena, Saldívar Rodríguez Donato, Vidal Gutiérrez Oscar. 2004;72:239-46).
- Morales Martínez Felipe Arturo (Ver Merino Ruiz Martha, Luna Aranda Hilda Magdalena, García Flores Rogelio, Vidal Gutiérrez Oscar, Sordia Hernández Luis, Saldívar Rodríguez Donato, Vázquez Méndez Juana. 2004;72:602-10).
- Morales Ramos Alan El Jach (Ver De la Torre Vega José Pío X, Amador Licon Norma, Zamora Mata Lilia. 2004;72: 23-26).
- Morales Rangel Verónica (Ver Reyna Figueroa Jesús, Ortiz Ibarra Federico Javier, Casanova Román Gerardo, Beltrán Zúñiga Magdalena. 2004;72:219-26).
- Morales Velázquez Patricia (Ver Villaseñor Sierra Alberto, Palacios Saucedo Gerardo, Solórzano Santos Fortino. 2004;72:103-8).
- Morán Carlos (Ver Zárate Arturo, Hernández Marcelino, Saucedo Renata. 2004;72:283-6).
- Mota Sanhua Vanesa (Ver Salazar Juárez Carlos Miguel, Neri Moreno Ma. del Carmen, Granja Posada Enrique, Kaufer Horwitz Martha, Valdés Ramos Roxana, Caraveo Enríquez Victoria, Ávila Rosas Héctor. 2004;72:561-9).
- Neri Moreno Ma. del Carmen (Ver Mota Sanhua Vanesa, Salazar Juárez Carlos Miguel, Granja Posada Enrique, Kaufer Horwitz Martha, Valdés Ramos

- Roxana, Caraveo Enríquez Victoria, Ávila Rosas Héctor. 2004;72:561-9).
- Neuspiller Fernando (Ver Gallardo Lozano Ernesto, Ayón Patricia. 2004;72:407-10).
- Ochoa Rueda Senia Suyapa (Ver Barros Delgadillo Juan Carlos, Paredes Chávez Fernando Cecilio, Barroso Villa Gerardo, Villalobos Acosta Sergio, Sánchez Solís Víctor, Osorio Caballero Mauricio, Gaviño Gaviño Fernando. 2004;72:619-27).
- Ochoa Rueda Senia Suyapa (Ver Paredes Chávez Fernando Cecilio, Barros Delgadillo Juan Carlos, Barroso Villa Gerardo, Villalobos Acosta Sergio, Sánchez Solís Víctor, Osorio Caballero Mauricio, Gaviño Gaviño Fernando. 2004;72:645-55).
- Olvera Gracida Leonardo (Ver Villarreal Peral Claudia, Hernández Olazábal Juan Pablo. 2004;72:365-8).
- Ortiz Ibarra Federico Javier (Ver Reyna Figueroa Jesús, Morales Rangel Verónica, Casanova Román Gerardo, Beltrán Zúñiga Magdalena. 2004;72:219-26).
- Ortiz Ibarra Javier (Ver Casanova Román Gerardo, Reyna Figueroa Jesús, Figueroa Damián Ricardo. 2004;72:63-67).
- Ortiz Núñez Dámaris Alejandra (Ver Mengchún López Gabriel, Hernández Marín Imelda, Mendoza Rosario, Ayala Ruíz Aquiles R. 2004;72: 349-55).
- Osorio Caballero Mauricio (Ver Ochoa Rueda Senia Suyapa, Barros Delgadillo Juan Carlos, Paredes Chávez Fernando Cecilio, Barroso Villa Gerardo, Villalobos Acosta Sergio, Sánchez Solís Víctor, Gaviño Gaviño Fernando. 2004;72:619-27).
- Osorio Caballero Mauricio (Ver Paredes Chávez Fernando Cecilio, Barros Delgadillo Juan Carlos, Ochoa Rueda Senia Suyapa, Barroso Villa Gerardo, Villalobos Acosta Sergio, Sánchez Solís Víctor, Gaviño Gaviño Fernando. 2004;72:645-55).
- Palacios Saucedo Gerardo (Ver Villaseñor Sierra Alberto, Morales Velázquez Patricia, Solórzano Santos Fortino. 2004;72:103-8).
- Palomar Morales Martín (Ver Méndez José D, Hernández Gabriela. 2004;72:581-7).
- Paredes Chávez Fernando Cecilio (Ver Barros Delgadillo Juan Carlos, Ochoa Rueda Senia Suyapa, Barroso Villa Gerardo, Villalobos Acosta Sergio, Sánchez Solís Víctor, Osorio Caballero Mauricio, Gaviño Gaviño Fernando. 2004;72:619-27).
- Paredes Chávez Fernando Cecilio (Ver Ochoa Rueda Senia Suyapa, Barros Delgadillo Juan Carlos, Barroso Villa Gerardo, Villalobos Acosta Sergio, Sánchez Solís Víctor, Osorio Caballero Mauricio, Gaviño Gaviño Fernando. 2004;72:645-55).
- Paredes López Adrián (Ver Salazar Esquivel Edith Lucía, Calzada Sánchez Leobardo. 2004;72:545-9).
- Pavía Crespo Lázaro. 2004;72:85-93.
- Peralta Pedrero María Luisa (Ver Basavilvazo Rodríguez Ma. Antonia, Cruz Avelar Agles, Sánchez Ambríz Silvia, Guzmán Ibarra María de los Ángeles, Martínez García María del Carmen. 2004;72:57-62).
- Pérez Campos Eduardo (Ver Cárdenas Morales Beatriz Eugenia, Gatica Valdez Noé. 2004;72:95-102).
- Pérez Molina J. Jesús (Ver Cobián López Blanca Edith, Silva Maciel Carlos Alejandro. 2004;72:142-9).
- Pérez Montiel Delia (Ver Puebla Mora Ana Graciela, Cantú de León David. 2004;72: 215-8).
- Piña Osuna Karina (Ver Calderón Garcidueñas Ana Laura, Cerda Flores Ricardo M. 2004;72:450-4).
- Ponce Ponce de León Ana Lilia (Ver Romero Gutiérrez Gustavo, Martínez Ceja Carlos Armando, Ábrego Olvira Elvira. 2004;72:109-15).
- Ponce Rosas Raúl Efrén (Ver González Pedraza Avilés Alberto, Sánchez Hernández Gabriela. 2004;72: 68-75).
- Puebla Mora Ana Graciela (Ver Pérez Montiel Delia, Cantú de León David. 2004;72: 215-8).
- Pulido Olivares Víctor Hugo (Ver Rojas Mora Elizabeth, Hernández Vivar Luis Edmundo, Sánchez Contreras Jesús, Risco Cortés Roberto José. 2004;72:135-41).
- Quirarte H. 2004;72:369-71.
- Ramírez García Andrés (Ver Angulo Vázquez José, Torres Gómez Luis Guillermo, Vargas González Alejandro, Cortés Sanabria Laura. 2004;72:400-6).
- Ramírez Olivella José. 2004;72:535-42.
- Ramírez Torres Nicolás (Ver Basavilvazo Rodríguez María Antonia, Téllez Márquez Alejandro, Robles Robles Germán, Lemus Rocha Roberto, Hernández Valencia Marcelino. 2004;72:500-7).
- Retama Velasco Leopoldo (Ver Charúa Guindic Luis, Avendaño Espinosa Octavio. 2004;72:209-14).
- Reyes Trejo Raquel (Ver Estrada Gutiérrez Guadalupe, Maida Claros Rolando, Beltrán Montoya Jorge, Vadillo Ortega Felipe. 2004;72:611-8).
- Reyna Figueroa Jesús (Ver Casanova Román Gerardo, Figueroa Damián Ricardo, Ortiz Ibarra Javier.

- 2004;72:63-67).
- Reyna Figueroa Jesús (Ver Morales Rangel Verónica, Ortiz Ibarra Federico Javier, Casanova Román Gerardo, Beltrán Zúñiga Magdalena. 2004;72:219-26).
- Risco Cortés Roberto José (Ver Rojas Mora Elizabeth, Hernández Vivar Luis Edmundo, Sánchez Contreras Jesús, Pulido Olivares Víctor Hugo. 2004;72:135-41).
- Robles Robles Germán (Ver Ramírez Torres Nicolás, Basavilvazo Rodríguez María Antonia, Téllez Márquez Alejandro, Lemus Rocha Roberto, Hernández Valencia Marcelino. 2004;72:500-7).
- Rocha del Valle Guillermo (Ver Molina Vargas Peggy, Cruz Minoli Vivian, Morales Gómez Rocío, Carreto Chávez Germán, Cenicerros Franco Laura Gabriela. 2004;72:120-4).
- Rodríguez Cardoso Jesús. 2004;72:45-46.
- Rojas Mora Elizabeth (Ver Hernández Vivar Luis Edmundo, Sánchez Contreras Jesús, Risco Cortés Roberto José, Pulido Olivares Víctor Hugo. 2004;72:135-41).
- Rojo Herrera Guadalupe (Ver Torres Lobatón Alfonso, Torres Rojo Alfonso, Hurtado Estrada Gabino, Román Bassaure Edgar. 2004;72: 466-74).
- Román Bassaure Edgar (Ver Torres Lobatón Alfonso, Rojo Herrera Guadalupe, Torres Rojo Alfonso, Hurtado Estrada Gabino. 2004;72: 466-74).
- Romero Gutiérrez Gustavo (Ver Martínez Ceja Carlos Armando, Ponce Ponce de León Ana Lilia, Ábrego Olvira Elvira. 2004;72:109-15).
- Romero Nava Luis Eduardo (Ver Velázquez Sánchez María del Pilar, Kunhardt Rasch Jorge Ralf. 2004;72:227-38).
- Romero Nava Luis Eduardo (Ver Velázquez Sánchez María del Pilar, Kunhardt Rasch Jorge Ralph. 2004;72:515-24).
- Romero Nava Luis Eduardo, (Ver Belmont Gómez Aurora, Vidal González Víctor Manuel. 2004;72: 550-60).
- Rosales Hernández Francisco Javier (Ver Martínez Abundis Guadalupe, Cano Ríos Pedro, González Hernández Sergio 2004;72: 525-30).
- Rougelot Robert E. 2004;72:656-8.
- Ruiz Anguas Julián (Ver Kably Ambe Alberto, Carballo Mondragón Esperanza, Corona de Lau Clara, Karchmer Krivitsky Samuel. 2004;72: 335-44).
- Ruiz Anguas Julián (Ver Kably Ambe Alberto, Carballo Mondragón Esperanza, Durán Monterrosas Leonor. 2004;72:637-44).
- Sáenz Flores Guadalupe (Ver Sagarnaga Durante Desirée, Delgado Monge Cecilia, Tufiño Olivares Edith, Levario Carrillo Margarita. 2004;72:445-9).
- Sagarnaga Durante Desirée (Ver Delgado Monge Cecilia, Sáenz Flores Guadalupe, Tufiño Olivares Edith, Levario Carrillo Margarita. 2004;72:445-9).
- Salazar Esquivel Edith Lucía (Ver Paredes López Adrián, Calzada Sánchez Leobardo. 2004;72:545-9).
- Salazar Juárez Carlos Miguel (Ver Mota Sanhua Vanesa, Neri Moreno Ma. del Carmen, Granja Posada Enrique, Kaufer Horwitz Martha, Valdés Ramos Roxana, Caraveo Enríquez Victoria, Ávila Rosas Héctor. 2004;72:561-9).
- Saldívar Rodríguez Donato (Ver Merino Ruiz Martha, Luna Aranda Hilda Magdalena, García Flores Rogelio, Vidal Gutiérrez Oscar, Morales Martínez Felipe Arturo, Sordia Hernández Luis, Vázquez Méndez Juana. 2004;72:602-10).
- Saldívar Rodríguez Donato (Ver Merino Ruiz Martha, Luna Aranda Hilda Magdalena, Morales Martínez Arturo, Vidal Gutiérrez Oscar. 2004;72:239-46).
- Salgado Jacobo Magda Icel (Ver Leglisce Cisneros Daniel, Gómez Rivera Jorge Alberto, Ayala Ruíz Aquiles R. 2004;72:361-4).
- Sánchez Ambríz Silvia (Ver Peralta Pedrero María Luisa, Basavilvazo Rodríguez Ma. Antonia, Cruz Avelar Agles, Guzmán Ibarra María de los Ángeles, Martínez García María del Carmen. 2004;72:57-62).
- Sánchez Contreras Jesús (Ver Rojas Mora Elizabeth, Hernández Vivar Luis Edmundo, Risco Cortés Roberto José, Pulido Olivares Víctor Hugo. 2004;72:135-41).
- Sánchez Hernández Gabriela (Ver González Pedraza Avilés Alberto, Ponce Rosas Raúl Efrén. 2004;72: 68-75).
- Sánchez Solís Víctor (Ver Ochoa Rueda Senia Suyapa, Barros Delgadillo Juan Carlos, Paredes Chávez Fernando Cecilio, Barroso Villa Gerardo, Villalobos Acosta Sergio, Osorio Caballero Mauricio, Gaviño Gaviño Fernando. 2004;72:619-27).
- Sánchez Solís Víctor (Ver Paredes Chávez Fernando Cecilio, Barros Delgadillo Juan Carlos, Ochoa Rueda Senia Suyapa, Barroso Villa Gerardo, Villalobos Acosta Sergio, Osorio Caballero Mauricio, Gaviño

- Gaviño Fernando. 2004;72:645-55).
- Santos Haliscak Roberto (Ver Leal Almeida Manuel, Saucedo de la Llata Eric, Batiza Resendiz Víctor, Galache Vega Pedro, Hernández Ayup Samuel. 2004;72:116-9).
- Santos Haliscak Roberto (Ver Saucedo de la Llata Eric, Moraga Sánchez María Rosa, Batiza Reséndiz Víctor, Galache Vega Pedro, Hernández Ayup Samuel. 2004;72:53-56).
- Saucedo de la Llata Eric (Ver Leal Almeida Manuel, Batiza Resendiz Víctor, Santos Haliscak Roberto, Galache Vega Pedro, Hernández Ayup Samuel. 2004;72:116-9).
- Saucedo de la Llata Eric (Ver Moraga Sánchez María Rosa, Batiza Reséndiz Víctor, Santos Haliscak Roberto, Galache Vega Pedro, Hernández Ayup Samuel. 2004;72:53-56).
- Saucedo Renata (Ver Zárate Arturo, Morán Carlos, Hernández Marcelino. 2004;72:283-6).
- Septién José Manuel. 2004;72:125-31.
- Silva Maciel Carlos Alejandro (Ver Pérez Molina J. Jesús, Cobián López Blanca Edith. 2004;72:142-9).
- Solórzano Santos Fortino (Ver Villaseñor Sierra Alberto, Morales Velázquez Patricia, Palacios Saucedo Gerardo. 2004;72:103-8).
- Sordia Hernández Luis (Ver Merino Ruiz Martha, Luna Aranda Hilda Magdalena, García Flores Rogelio, Vidal Gutiérrez Oscar, Morales Martínez Felipe Arturo, Saldívar Rodríguez Donato, Vázquez Méndez Juana. 2004;72:602-10).
- Souza y Machorro Mario. 2004;72:475-86.
- Téllez Márquez Alejandro (Ver Ramírez Torres Nicolás, Basavilvazo Rodríguez María Antonia, Robles Robles Germán, Lemus Rocha Roberto, Hernández Valencia Marcelino. 2004;72:500-7).
- Teppa Garrán Alejandro (Ver Terán Dávila José. 2004;72:76-84).
- Terán Dávila José (Ver Teppa Garrán Alejandro. 2004;72:76-84).
- Tlatilpa Vega Itzel (Ver Linares Segovia Benigno, Cervantes Villarreal Enrique, Amador Licon Norma. 2004;72:570-4).
- Tomasso Giselle (Ver Colomar Mercedes, Belizán María, Cafferata María Luisa, Labandera Ana, Althabe Fernando, Belizán José M. 2004;72:455-65).
- Torres Gómez Luis Guillermo (Ver Angulo Vázquez José, Ramírez García Andrés, Vargas González Alejandro, Cortés Sanabria Laura. 2004;72:400-6).
- Torres Lobatón Alfonso (Ver Rojo Herrera Guadalupe, Torres Rojo Alfonso, Hurtado Estrada Gabino, Román Bassaure Edgar. 2004;72: 466-74).
- Torres Rojo Alfonso (Ver Torres Lobatón Alfonso, Rojo Herrera Guadalupe, Hurtado Estrada Gabino, Román Bassaure Edgar. 2004;72: 466-74).
- Tovar Rodríguez José María (Ver Islas Cruz Gaudencio, Vite Vargas José Alfredo, Hernández Marín Imelda, Aguirre Ramírez Antonio, Ayala Ruíz Aquiles R. 2004;72:345-8).
- Tovar Rodríguez José María (Ver Málaga Correa Yanet R, Hernández Marín Imelda, Ayala Aquiles R. 2004;72:247-50).
- Tufiño Olivares Edith (Ver Sagarnaga Durante Desirée, Delgado Monge Cecilia, Sáenz Flores Guadalupe, Levario Carrillo Margarita. 2004;72:445-9).
- Vadillo Ortega Felipe (Ver Estrada Gutiérrez Guadalupe, Reyes Trejo Raquel, Maida Claros Rolando, Beltrán Montoya Jorge. 2004;72:611-8).
- Vadillo Ortega Felipe (Ver Vega Sánchez Rodrigo, Estrada Gutiérrez Guadalupe, Cérbul Vázquez Arturo, Beltrán Montoya Jorge. 2004;72:593-601).
- Valdés Ramos Roxana (Ver Mota Sanhua Vanesa, Salazar Juárez Carlos Miguel, Neri Moreno Ma. del Carmen, Granja Posada Enrique, Kaufer Horwitz Martha, Caraveo Enríquez Victoria, Ávila Rosas Héctor. 2004;72:561-9).
- Valdespino Castillo Víctor E (Ver Valdespino Gómez Víctor M. 2004;72:29-38).
- Valdespino Gómez Víctor M (Ver Valdespino Castillo Víctor E. 2004;72:29-38).
- Valle RF (Ver Molina Sosa A, Galván Espinosa H, Gabriel Guzmán J. 2004;72:166-9).
- Vargas González Alejandro (Ver Angulo Vázquez José, Ramírez García Andrés, Torres Gómez Luis Guillermo, Cortés Sanabria Laura. 2004;72:400-6).
- Vázquez Méndez Juana (Ver Merino Ruiz Martha, Luna Aranda Hilda Magdalena, García Flores Rogelio, Vidal Gutiérrez Oscar, Morales Martínez Felipe Arturo, Sordia Hernández Luis, Saldívar Rodríguez Donato. 2004;72:602-10).
- Vega Sánchez Rodrigo (Ver Estrada Gutiérrez Guadalupe, Cérbul Vázquez Arturo, Beltrán Montoya Jorge, Vadillo Ortega Felipe. 2004;72:593-601)

- Velázquez Sánchez María del Pilar (Ver Gorbea Chávez Viridiana, Kunhardt Rasch Jorge R. 2004;72:628-36).
- Velázquez Sánchez María del Pilar (Ver Romero Nava Luis Eduardo, Kunhardt Rasch Jorge Ralf. 2004;72:227-38).
- Velázquez Sánchez María del Pilar (Ver Romero Nava Luis Eduardo, Kunhardt Rasch Jorge Ralph. 2004;72:515-24).
- Vidal González Víctor Manuel (Ver Romero Nava Luis Eduardo, Belmont Gómez Aurora. 2004;72: 550-60).
- Vidal Gutiérrez Oscar (Ver Merino Ruiz Martha, Luna Aranda Hilda Magdalena, García Flores Rogelio, Morales Martínez Felipe Arturo, Sordia Hernández Luis, Saldívar Rodríguez Donato, Vázquez Méndez Juana. 2004;72:602-10).
- Vidal Gutiérrez Oscar (Ver Merino Ruiz Martha, Luna Aranda Hilda Magdalena, Morales Martínez Arturo, Saldívar Rodríguez Donato. 2004;72:239-46).
- Villalobos Acosta Sergio (Ver Paredes Chávez Fernando Cecilio, Barros Delgadillo Juan Carlos, Ochoa Rueda Senia Suyapa, Barroso Villa Gerardo, Sánchez Solís Víctor, Osorio Caballero Mauricio, Gaviño Gaviño Fernando. 2004;72:645-55).
- Villalobos Acosta Sergio (Ver Ochoa Rueda Senia Suyapa, Barros Delgadillo Juan Carlos, Paredes Chávez Fernando Cecilio, Barroso Villa Gerardo, Sánchez Solís Víctor, Osorio Caballero Mauricio, Gaviño Gaviño Fernando. 2004;72:619-27).
- Villanueva Egan Luis Alberto (Ver Bohórquez Barragán María Elena, Alanís López Patricia. 2004;72: 394-9).
- Villanueva Luis Alberto (Ver Collado Peña Susana. 2004;72:150-61).
- Villanueva Luis Alberto (Ver Collado Peña Susana. 2004;72:273-8).
- Villarreal Peral Claudia (Ver Olvera Gracida Leonardo, Hernández Olazábal Juan Pablo. 2004;72:365-8).
- Villaseñor Sierra Alberto (Ver Morales Velázquez Patricia, Palacios Saucedo Gerardo, Solórzano Santos Fortino. 2004;72:103-8).
- Vite Vargas José Alfredo (Ver Islas Cruz Gaudencio, Hernández Marín Imelda, Aguirre Ramírez Antonio, Tovar Rodríguez José María, Ayala Ruíz Aquiles R. 2004;72:345-8).
- Zamora Mata Lilia (Ver De la Torre Vega José Pío X, Amador Licon Norma, Morales Ramos Alan El Jach. 2004;72: 23-26).
- Zárate Arturo (Ver Basavilvazo Rodríguez María Antonia, Díaz Quiroz Alfonso, Lemus Rocha Roberto, Ángeles Victoria Leobardo, Hernández Valencia Marcelino. 2004;72:10-15).
- Zárate Arturo (Ver Castelazo Rico Germán, Molotla Xolalpa Donaji, Basavilvazo Rodríguez María Antonia, Ángeles Victoria Leobardo, Hernández Valencia Marcelino. 2004;72:493-9).
- Zárate Arturo (Ver Morán Carlos, Hernández Marcelino, Saucedo Renata. 2004;72:283-6).
- Zayas Jaime Francisco Javier (Ver Elizondo Alanís Luis Jaime, Gaxiola Cueto Marco Antonio, Aragón Meras Esperanza. 2004;72:16-22).
- Zenteno Garduño Genaro. 2004;72:287-94.



GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA DE MÉXICO

Instrucciones para los autores

Ginecología y Obstetricia de México (Ginec 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 inglés. 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 de acuerdo con los Requisitos Uniformes para los Manuscritos Enviados a Revistas Biomédicas, desarrollados por el Comité Internacional de Editores de Revistas Médicas, cuyas versiones más recientes se publican (en español) en Ginecología y Obstetricia de México (febrero y septiembre de 2003).

El envío del manuscrito implica que es un trabajo no publicado, excepto como resumen, y que no será enviado simultáneamente a ninguna otra revista. Los manuscritos 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 y señalando el crédito respectivo. Los manuscritos no serán devueltos, por lo que se recomienda que el autor conserve una copia completa.

Ginecología y Obstetricia de México somete los artículos recibidos al proceso de revisión por pares abierta, por lo que cada trabajo es revisado al menos por dos árbitros experimentados.

Para la preparación de manuscritos, se ha integrado una lista de cotejo que el autor deberá seguir puntualmente antes de enviar su trabajo (Página 546). Ginecología y Obstetricia de México se reserva el derecho de hacer las modificaciones que considere pertinentes de acuerdo con su línea editorial. Los manuscritos que no se apeguen a estos lineamientos, serán rechazados y se devolverán al autor.

El manuscrito deberá ir acompañado de la cesión de derechos de autor, que se incluye en la página 548 (Favor de fotocopiarla y anexarla al manuscrito).

Lista de cotejo para los autores

Por favor, marque con una cruz cada apartado que vaya cubriendo los requisitos especificados.

Preparación general del manuscrito

- ☐ Preparar original y tres copias completas, escritas a doble espacio, en papel blanco, tamaño carta, con márgenes de 2.5 cm. Usar letra Arial, tamaño 11. Acompañar el manuscrito de la versión electrónica en disquete o en CD. Todas las hojas irán numeradas, de preferencia en el ángulo superior derecho. La extensión final del manuscrito debe ser de 10 a 20 cuartillas más cuadros y figuras.
- ☐ Cada sección del manuscrito irá en hoja separada: título, resúmenes, artículo (estructurado según el tipo de trabajo), referencias, cuadros, figuras (con sus respectivos pies).
- ☐ Las fotografías serán originales, acompañadas de una copia tamaño carta. En caso de enviarlas en archivo electrónico, deberán ser en formato tif, a 300 dpi, en disquete o CD independiente del archivo de texto general del trabajo.

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

- ☐ **Título completo.** Limitado a un renglón, no utilizar abreviaciones (en español y en inglés).
- ☐ **Título corto.** Para cornisas, limitado a la tercera parte de un renglón (o 45 caracteres).
- ☐ **Autores.** Nombre completo y apellidos de todos los autores. Adscripción de los autores. Lugar donde fue realizado el trabajo. Se consideran autores quienes contribuyeron al diseño del estudio, análisis de datos y redacción del manuscrito.
- ☐ **Abreviaturas.** Utilizar las de aceptación universal. En caso de recurrir a abreviaturas no convencionales, se incluirán en una lista, en orden alfabético.

Resúmenes

- ☐ Resumen en español, 200 a 250 palabras. Si el trabajo se presta al formato estructurado deberá ir en la secuencia de: objetivos, material (o pacientes) y método, resultados y conclusiones. En el resumen no se emplearán abreviaturas ni se citarán referencias. Incluirá de tres a diez palabras clave, siguiendo la nomenclatura del MESH.
- ☐ Abstract (Resumen en inglés). Con las mismas características del resumen en español (incluyendo palabras clave en inglés). Los trabajos que no incluyan Abstract, serán devueltos, sin revisión.

Instructivo para autores

Texto

- ☐ Estructurado de acuerdo con las características del trabajo: introducción, objetivo, material y método, resultados, comentario, conclusiones, referencias bibliográficas.
- ☐ Describir los métodos estadísticos utilizados.
- ☐ Los fármacos y químicos deberán citarse por su nombre genérico.

Referencias bibliográficas

Las referencias no excederán de 10 y deberán incluir trabajos publicados en **Ginecología y Obstetricia de México**.

- ☐ Citar las referencias en la secuencia en que aparecen en el texto, utilizando números arábigos entre paréntesis, 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 serán las que utiliza el Index Medicus.

Ejemplos

Artículos en revistas

Hernández M, Cuéllar Estrada J, Levorio Carrillo M. Corioangioma gigante de la placenta: Informe de un caso. Ginec Obstet Mex 2001; 69: 439-42.

Libros

Velásquez Jones L. Redacción del escrito médico. 4a. edición. México: Ediciones médicas del Hospital Infantil de México Federico Gómez; 1999. p. 109.

Capítulos en libros

Velásquez Jones L. Referencias. En Velásquez Jones L. Redacción del escrito médico. 4a. edición. México: Ediciones médicas del Hospital Infantil de México Federico Gómez; 1999. p. 97-116.

Cuadros y figuras

- ☐ Cada uno en hoja separada, numerados según el orden en que aparecen en el texto.

Contribución de los autores

Junto con el manuscrito, el autor principal deberá describir, en una página por separado, la participación de cada uno de los autores (delante del nombre de cada colaborador, anotar el o los números que describan su contribución. Ejemplo: Dr. Alfonso Álvarez 1, 2, 6).

1. Conceptualización y diseño
2. Adquisición de una parte importante de datos
3. Análisis e interpretación de datos
4. Redacción del manuscrito
5. Revisión crítica del manuscrito
6. Asesoría estadística
7. Dar fundamento al proyecto o estudio
8. Supervisión (responsabilidad de todos los aspectos del proyecto o estudio)
9. Otras (especifique)
Lo anterior será publicado al final de cada artículo como *Contribución de los autores*.

Envío

Datos personales del primer autor: Nombre, cargo, domicilio, teléfono, correo electrónico y fax.

Todos los manuscritos deberán ser enviados a:
Revista Ginecología y Obstetricia de México

Calle de Nueva York Número 38
Colonia Nápoles. México, D.F.
C.P. 03810. MÉXICO