Concurso de trabajos de investigación para médicos federados

I. Víctor Espinosa de los Reyes Sánchez

Trabajos de investigación básica presentados por escrito

INVESTIGACIÓN BÁSICA
Mampara I

El miometrio inhibe mecanismos de relajación en respuesta a hemorragia posparto

Mateu-Rogell P, Espino-y-Sosa S, Reyes-Chávez A, Ortega-Castillo V, Guzmán-Grenfell A.
Instituto Nacional de Perinatología.

ANTECEDENTES: La atonía uterina es causa del 70% de los casos de hemorragia posparto (HPP). La HPP activa cambios fisiológicos protectores para inhibir la pérdida sanguínea clasificados en: vasculares intrínsecos (trombosis, coagulación, activación endotelial, etc.) y extrínsecos (contracción miometrial e inhibición de su relajación). De estos los menos estudiados son los cambios biomoleculares adaptativos para inhibir la relajación del músculo liso. La S Nitrosoglutation reductasa (GSNOR) es una enzima relacionada a la pérdida de quiescencia uterina cuya actividad se asocia a parto pretérmino y al inhibir su actividad disminuye la fuerza de contracción uterina. El óxido nítrico es el relajante vascular más potente y tiene un efecto directo sobre la relajación del músculo uterino. La cuantificación de citrulina es considerada un marcador indirecto de la formación de óxido nítrico.
OBJETIVO: Evaluar el efecto de la HPP sobre la actividad local de la GSNOR y formación de NO inferido a través de la cuantificación de citrulina en músculo liso uterino.
MATERIALES Y MÉTODOS: Se trata de un estudio transversal comparativo realizado en el Instituto Nacional de Perinatología de febrero a julio del 2019. Ingresaron al estudio mujeres con indicación de interrupción del embarazo por vía abdominal, se tomó muestra de miometrio al hacer histerotomia previo a uso de uterotónicos y 10 minutos posteriores al alumbramiento de hombro anterior y uso de uterotónicos, se cuantificó hemorragia obtenida por método gravimétrico al final del evento obstétrico. Se realizó homogeneización en amortiguador Tris-EDTA (tris 50 mM, EDTA 0.5 mM a ph de 8.0 con tritón x 100 al 0.2%), se centrifugó (1100 rpm por 5 minutos). Se medio la actividad de la GSNOR (Liu L, 2001) y la concentración de L-citrulina (Knipp, 2000). Se realizó un análisis de correlación entre la actividad de la GSNOR, la concentración de L-citrulina y la HPP mediante prueba Rho de Spearman y se calculó coeficiente de determinación, se consideraron significativos valores de p menores de 0.05
RESULTADOS: Se analizaron 17 muestras de miometrio obtenidas de resoluciones mayores de 37 semanas, con hemorragias cuantificadas entre 416 y 2000 mL, no se reportaron complicaciones adicionales a hemorragia y no se detectaron patologías de base asociadas a alteraciones del tono muscular. Se observaron correlaciones significativas entre la HPP y la concentración de L-Citrulina previo a la infusión con oxitocina (p=0,54, p= 0,001) y posterior a la infusión con oxitocina (p=0,48, p=0,005). No se observó correlación entre la HPP y la actividad de GSNOR previo y posterior a la infusión con oxitocina.
CONCLUSIÓN: El presente estudio demuestra una disminución de la concentración de L-citrulina en el tejido muscular uterino, explicada por un bloqueo en la producción de óxido nítrico como respuesta adaptativa ante la hemorragia evento que no involucra la actividad enzimática de la GSNOR.

INVESTIGACIÓN BÁSICA
Mampara II

Incidencia de embarazo ectópico cervical en un hospital de tercer nivel

Andrés Marcial Poot, María Fernanda San Juan Córdova
Hospital Regional Puebla ISSSTE.

ANTECEDENTES: El embarazo ectópico, es definido por el Colegio Americano de Ginecología y Obstetricia como aquel embarazo que ocurre fuera de la cavidad uterina. En el caso de los embarazo ectópicos tubarios, de acuerdo a estadística oficial nacional su incidencia va del 1 al 2%, mencionando que su prevalencia va en aumento. Asimismo, se ha señalado que existe un aumento de la frecuencia del embarazo ectópico en el mundo, de hasta 5 veces más comparada con la década de los 70, implicando en el 2004 entre el 5 y 12% de las muertes maternas en el mundo. En nuestro país se establece que es responsable del 10% de la mortalidad materna, siendo una tercera parte, ectópicos recidivantes. Por lo comentado es importante tener en cuenta la gran morbilidad y mortalidad que implica para una paciente ser portadora de una patología como el embarazo ectópico, siendo mucho más importante en el contexto del embarazo del embarazo ectópico cervical, el cual es infrecuente y reviste un mayor riesgo de morbilidad y mortalidad para la mujer.
OBJETIVO: Establecer la incidencia de embarazo ectopico cervical en relación a la presentación del total de embarazos ectopicos.
MATERIALES Y MÉTODOS: Se realizó un estudio observacional, transversal, retrospectivo y descriptivo de un periodo de 20 meses, desde 01 de diciembre de 2017 a 31 de Julio de 2019, de todas las pacientes atendidas en nuestro

centro de tercer nivel y referencia, Hospital Regional Puebla, perteneciente al Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los Trabajadores del Estado, y que egresaron con diagnóstico de embarazo ectópico tubárico, cervical ó abdominal, sin embargo, se otorgó un interés especial en aquellos embarazos con diagnóstico histopatológico de embarazo ectópico cervical. Se utilizó estadística descriptiva para variables cualitativas empleando la prueba χ^2. Se encontraron dos casos de embarazo ectópico cervical, se presentan los casos detallados a continuación.

RESULTADOS: Hallamos un total de 25 embarazos ectópicos en un periodo de 20 meses, de los mismos 23 se documentaron como embarazos ectópicos tubáricos, 2 embarazos ectópicos cervicales y un embarazo ectópico abdominal. Del análisis estadístico aplicado a las variables cualitatitativas empleando la prueba de χ^2 no se encontraron valores estadísticamente significativos, respecto a la población en general que fue de 808 nacidos vivos, sólo el 3.09% representan embarazos ectópicos, de este mismo porcentaje, se establece que, el 88% de los embarazos ectópicos serán tubáricos, 8% serán ectópicos cervicales, y un 4% representarán ectópicos abdominales; por lo tanto 8 de cada 100 embarazos ectópicos atendidos en nuestro hospital resultarán, en embarazo un embarazo ectópico cervical (ver figura 4). Por lo tanto, deducimos que de acuerdo a l presente estudio, en nuestro hospital, se presenta un embarazo ectópico cervical cada 10 meses.

En cuanto a los grupos de edad podemos observar que los embarazos ectópicos son más frecuentes en la cuarta década de la vida (ver figura 5). De acuerdo a la paridad es posible observar que en las pacientes en las que se observa una mayor presencia de embarazo ectópicos es, en las primigestas, seguidas de las mujeres con un tercer embarazo (ver figura 6). Sin embargo, en las dos pacientes en las que se documentó la presencia de un embarazo ectópico cervical, se puede apreciar la presencia de más de 4 embarazos, presentando ambas el antecedente de instrumentaciones uterinas en más de dos ocasiones, así como el antecedente de cesárea previa en ambas. A partir de los datos comentados, se evidencia que existe una tasa muy por encima de embarazos ectópicos cervicales, en nuestro hospital a lo calculado para la literatura internacional consultada.

CONCLUSIÓN: Dentro de todas la localizaciones posibles y existentes en el embarazo ectópico, el cervical reviste una preocupación muy importante por el ginecólogo, esto debido las posibilidades actualmente existentes son muy variadas, pero sin existir actualmente una definida como preferible o ampliamente recomendada, sobre todo en aquellas mujeres que desean preservar su fertilidad, esto debido a la baja incidencia de la patología y a la gran posibilidad de hemorragia incoercible y de difícil control, en caso del desarrollo de la misma.

Es importante comentar que dentro de los antecedentes de nuestras pacientes que desarrollaron embarazos ectópicos cervicales, que ambas contaban con más de 4 gestaciones y antecedente de 3 o más abortos. También debemos poner especial atención en que ambas pacientes contaban con evacuaciones uterinas a base de legrado uterino instrumentado, estableciendo como factor de riesgo este procedimiento sobre la cavidad endometrial, y obligándonos a realizarnos las siguientes preguntas ¿es el legrado uterino repetitivo un factor de riesgo para el desarrollo de embarazos ectópicos cervicales? ¿es preferible utilizar el manejo médico del aborto y/o aspiración manual endouterina, como método para disminuir la incidencia de esta patología? ¿es la operación cesárea un factor de riesgo para el desarrollo de embarazos ectópicos cervicales? Todos estos cuestionamientos deben ser resueltos bajo la luz de la medicina basada en evidencias y bajo estudios de mayor nivel de evidencia, población y duración. Es necesario comentar que en nuestra institución no se ha dado el beneficio de procedimientos quirúrgicos conservadores, esto debido a la falta de acceso a la cirugía de mínima invasión, sin embargo, es algo que debe ser tomado en cuenta por todos los ginecólogos, dentro de las posibilidades de manejo de esta enfermedad; al atender estos casos, siempre debemos tener en mente, la alta posibilidad de muerte en la mujer.

INVESTIGACIÓN BÁSICA
Mampara III

Efecto de la eliminacion de espermatozoides positivos para anexina V mediante separación magnética (MACS) en parejas con infertilidad masculina (teratozoospermia)

Lucía Daniela García-Montes, Gonzalo Robledo-Trejo, Ana Paula Machargo-Gordillo, Alexia Álvarez-Lozano, Gerardo Barroso-Villa

División de Salud Reproductiva, Instituto de Salud Reproductiva e Infertilidad, NASCERE, Ciudad de México.

ANTECEDENTES: La expresión de marcadores apoptósicos tempranos como la translocación de fosfatidilserina en la membrana plasmática, se asocia con embriones de mala calidad y resultados subóptimos en las tasas de fertilización, implantación y embarazo. La separación

magnética de espermatozoides no apoptóticos por anexina-V es una opción simple, rápida, económica y altamente específica.
OBJETIVO: Demostrar que la eliminación de espermatozoides con procesos tempranos de apoptosis mediante separación magnética (MACS) puede mejorar los resultados reproductivos en parejas con diagnóstico de infertilidad dependiente del factor masculino (teratozoospermia).
MATERIALES Y MÉTODOS: Estudio prospectivo, aleatorizado, triple ciego y controlado. Se incluyó un total de 200 parejas infértiles dependientes del factor masculino (teratozoospermia) con indicación de ICSI, las cuales fueron aleatorizadas en grupo 1 (muestra espermática únicamente capacitada con el método de swim-up) y grupo 2 (muestra espermática capacitada mediante swim-up con MACS-ANMB). Posteriormente, todas las muestras se sometieron a ICSI, como técnica de fertilización. Finalmente, todos los embriones obtenidos se analizaron hasta la etapa de blastocisto y todas las transferencias se realizaron en la misma etapa. Se utilizó la prueba t de Student y la prueba Chi cuadrada. Se calculó el riesgo relativo para los resultados binomiales con un IC de 95%. El error alfa fue ajustado menor de 5% (p= <0.05) a dos colas fue considerado como significativo. Este estudio se realizó en el Centro de Reproducción Asistida Arcos, Nascere, en la Ciudad de México, entre el periodo de Junio 2012 a Marzo 2017.
RESULTADOS: Se obtuvieron diferentes resultados entre ambos grupos: tasa de fertilización del 40.8% (IC 95%, 27.4-65.0) vs 45.2% (IC 95%, 14.7-69.0) p=0.04, embriones en día 3 de 97.3% (IC 95%, 89.7 -100) vs 98.9% (95% IC, 96.8-100) NS, la calidad media de los embriones en día 3 fue de 2.9 (95% IC, 2.8-3.0) vs 2.9 (95% IC, 2.9-3.0) NS, embriones en día 5 de 61.2% (95% 51.7-70.6) vs 48.8% (95% IC, 30.2-66.6) p=0.02, calidad de embriones en día 5 de 2.8 (95% IC, 2.6-3.1) vs 3.4 (95% IC, 3.3 -3.6) p=0.001, porcentaje de embriones arrestados 32.9% (95% IC, 23.5-42.3) vs 49.9% (95% IC, 36.8-63.0) p=0.04, tasa de implantación de 25.5% (95% IC, 12.7-67.1) vs 12.5% (95% IC, 6.2-32.8) p=0.001, tasa de embarazo del 51.1% (95% IC, 25.5-65.7) vs 26.1% (95% IC, 13.3-34.2) p=0.001 y tasa de nacidos vivos de 24.5% (95% IC, 12.2-72.0) vs 9.5% (95% IC, 4.7-27.9) p=<0.0001 en el grupo 2 versus el grupo 1, respectivamente.
CONCLUSIÓN: El emplear espermatozoides capacitados mediante Swim-up y MACS-ANMB para la ICSI en hombres con teratozoospermia, incrementa las tasas de fertilización, implantación, embarazo y nacido vivo.

INVESTIGACIÓN BÁSICA
Mampara IV

Leptina, factor de crecimiento endotelial vascular, metaloproteinasas (MMPs) y NO2 /NO3: ¿Cómo impactan en el microambiente intrafolicular?

Gerardo Barroso Villa, Carlos Valdespín Fierro, Alexia Álvarez Lozano, Rosaura Ávila Lombardo, Lucía Daniela García Montes
División de Salud Reproductiva, Instituto de Salud Reproductiva e Infertilidad, NASCERE, Ciudad de México.

ANTECEDENTES: Existe una relación entre la selección folicular por dominancia y los biomarcadores intrafoliculares, la variación de estos tendrá consecuencias directas en las características de madurez, calidad ovocitaria y potencial de fertilización. Se conocen diferentes biomarcadores intrafoliculares que interactúan durante el proceso de reclutamiento, diferenciación y selección del folículo dominante, entre ellos destacan leptina, el factor de crecimiento vascular endotelial, metaloproteinasas y óxido nítrico.
OBJETIVO: Determinar si existe correlación entre los niveles de concentración de los principales biomarcadores metabolómicos [leptina, factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), metaloproteinasas (MMPs) y NO2-/NO3-] en el líquido intrafolicular con los resultados reproductivos.
MATERIALES Y MÉTODOS: Durante el periodo de abril-2016 a abril-2018 un total de 150 casos fueron evaluados para la selección, sólo 60 casos cumplieron con los criterios de inclusión (edad materna avanzada ≥40 años, CFA<5-7 folículos y HAM<1.1 ng/mL) las parejas fueron aleatorizadas en una proporción 1:1:1 en el grupo A (corifolitropina alfa) o B (rFSH/uhMG) o C (rFSH/rLH). Finalmente, cuando ≥2 folículos alcanzaron un diámetro ≥17mm por ultrasonografía endovaginal, se aplicó una dosis única de 250mcg de rhCG para desencadenar la ovulación. La técnica de ácido bicinconínico se utilizó para medir las proteínas totales; las MMPs se determinaron por zimografía; y, NO2-/NO3-, VEGF y leptina se cuantificaron utilizando el método E.L.I.S.A. Se realizaron las siguientes pruebas para analizar los resultados: la prueba ANOVA y, las cualitativas se analizaron con la prueba exacta de Fisher, y la correlación de Spearman (p=<0,05 se consideró como estadísticamente significativo).
RESULTADOS: En el grupo A se evidenció una menor concentración de Pro-MMP- 2 (6136 vs 8593 vs 26550; p=<0.0001); por el contrario, en el grupo C se de-

mostró un aumento drástico de las concentraciones de leptina (10.6 vs 6.8 vs 1175; p=<0.0001), VEGF (13.6 vs 3.39 vs 49; p=<0.0001), Pro-MMP-2 (6136 vs 8593 vs 26550; p=<0.0001) y, NO2-/NO3- (0.6 VS 0.5 VS 17.6; p=<0.0001). Se sugiere que los niveles de leptina y VEGF pueden ser favorables durante el proceso de estimulación ovárica, los niveles de Pro-MMP-2, MMP-9 y NO2-/NO3- se correlacionaron con un efecto negativo tanto en la reserva ovárica como en los ciclos de estimulación ovárica, colocando a la Pro-MMP-2 como un biomarcador de pobre respuesta ovárica.

CONCLUSIÓN: El uso de inductores de la ovulación impacta directamente en el microambiente intrafolicular las diferencias en la expresión de los biomarcadores en el líquido folicular se correlacionan con la competencia del ovocito humano; por lo tanto, el perfil metabolómico del líquido intrafolicular puede demostrar ser una técnica importante en la selección de gametos.

INVESTIGACIÓN BÁSICA
Mampara V

ADN circulante en el medio de cultivo durante el desarrollo embrionario; el nuevo diagnóstico genético preimplantacional de aneuplodías

Gerardo Barroso Villa, María Eugenia Pöo Lanillo, Lucía Daniela García Montes, Ana Paula Machargo Gordillo, Rosaura Ávila Lombardo

División de Salud Reproductiva, Instituto de Salud Reproductiva e Infertilidad, NASCERE, Ciudad de México.

ANTECEDENTES: Estudios recientes han informado de la existencia de ADN libre de células embrionarias en los medios de cultivo, con hallazgos que varían ampliamente entre distintos grupos de investigadores, lo que abre una nueva era de posibilidades para las pruebas genéticas no invasivas de aneuplodías.

OBJETIVO: Nuestro objetivo fue analizar las tasas de concordancia, falsos positivos y falsos negativos de acuerdo con el número y tipo de aneuploidías encontradas en el ADN embrionario de los medios de cultivo en comparación con los resultados de la biopsia de trofoectodermo.

MATERIALES Y MÉTODOS: Estudio piloto, prospectivo y comparativo, realizado en el Centro de Reproducción Arcos, Nascere, en la Ciudad de México, durante el mes de noviembre del 2018, que incluyó 20 blastocistos. Las biopsias de blastocistos se realizaron el día 5 (10 blastocistos), el día 6 o 7 (10 blastocistos). Los medios de cultivo embrionario se recolectaron individualmente de cada blastocisto justo antes de la biopsia de trofoectodermo, sin ninguna manipulación previa del embrión. Tanto los medios de cultivo como las biopsias de trofoectodermo se analizaron mediante secuenciación de próxima generación utilizando el kit Ion ReproSeq PGS (ThermoFisher Scientific) con un protocolo modificado para mejorar la eficiencia de amplificación.

RESULTADOS: Se obtuvieron resultados informativos en 17 de los 20 medios de cultivo (85% de amplificación exitosa general): 70% de amplificación exitosa en medios de cultivo de los blastocistos del día 5 y amplificación del 100% de los blastocistos del día 6/7. La tasa general de concordancia entre las biopsias de trofoectodermo y los medios de cultivo en términos de diagnóstico de aneuploides o euploides fue del 55%: 30% para el día 5 y 80% para los blastocistos del día 6/7. En cuanto a las discrepancias, sólo se observaron 2 falsos negativos en los medios de cultivo en comparación con la biopsia de trofoectodermo (tasa de falsos negativos del 1% para el día 5 y 1% para los blastocistos del día 6/7). Los dos casos fueron claramente el resultado de la contaminación con ADN materno. En los dos casos, sólo se observó un cromosoma aneuploide. Hubo 3 falsos positivos: 30% para el día 5 y 0% para los embriones del día 6/7.

CONCLUSIÓN: Se alcanzaron altas tasas de concordancia con la prueba genética no invasiva de aneuploidías, principalmente en embriones del día 6/7. La mayor incidencia de fallas de amplificación y falsos positivos fueron en el día 5, lo que sugiere que la baja concentración de ADN embrionario en los medios explica los resultados más pobres.