

Enfoques Terapéuticos para la Fertilización

Pronóstico en la Mala Respuesta en la Fertilización *In Vitro*

University Medical Center Utrecht, Utrecht, Países Bajos. Pág. 3

Comparación de la Pureza y Características de las Gonadotrofinas Urinarias frente a los Productos Recombinantes

Merck Serono S.A, Ginebra, Suiza; y otros centros participantes. Pág. 5

Informe del Grupo de Diagnóstico Genético Preimplantatorio

UZ Brussels, Bruselas, Bélgica; y otros centros participantes. Pág. 7

Importancia de la Individualización de la Dosis de Hormona Foliculoestimulante para Iniciar la Fertilización *In Vitro*

Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia, Módena, Italia; y otros centros participantes. Pág. 10

Desarrollo de Métodos Analíticos y su Impacto en la Evaluación de las Gonadotrofinas Recombinantes

Serono International SA, Ginebra, Suiza; y otros centros participantes. Pág. 13

Normas para los Laboratorios de Fertilización *In Vitro*

European Society of Human Reproduction and Embryology, Bélgica; y otros centros participantes. Pág. 15

Comparación de la Efectividad y la Pureza de las Gonadotrofinas Generadas mediante Diversos Procesos de Manufactura

Hôpital Jean-Verdier, Bondy, Francia. Pág. 17

Sociedad Iberoamericana de Información Científica (SIIC)

Consejo Superior

Programa SIIC de Educación Médica Continuada (PEMC-SIIC)

Elías N. Abdala, Miguel Allevato, Sebastián Alejandro Alvano, Pablo Bazerque, Daniela Bordalejo, Oscar Bruno, Juan C. Chachques, Luis A. Colombato (h), Dalmo Correia Filho, Carlos Crespo, Carlos Damin, Jorge Daruich, Eduardo de la Puente, Raúl A. De Los Santos, Blanca Diez, Ricardo Drut, Juan Enrique Duhart, Roberto Elizalde,

Miguel Falasco[†], Germán Falke, Fernando Filippini, Pedro Forcada, Juan Gagliardi, Estela Raquel Giménez, María Esther Gómez del Río, Alcides Greca, Liliana Grinfeld[†], Vicente Gutiérrez Maxwell, Alfredo Hirschon Prado, Roberto Iérmoli, León Jaimovich, Miguel A. Larguía, Oscar Levalle, Daniel Lewi, Antonio Lorusso, Javier Lottersberger,

Carlos Nery Costa, Néstor P. Marchant, Olindo Martino, Jorge Máspero, Carlos Mautalén, Marcelo Melero, José María Méndez Ribas, José Milei, Alberto Monchablón Espinoza, Oscar Morelli, Amelia Musacchio de Zan, Angel Nadales, Roberto Nicholson, Beatriz Oliveri, Domingo Palmero, Omar J. Palmieri[†], Rodolfo Sergio Pasqualini,

Ricardo A. Pérez de la Hoz, Eduardo Pro, Guillermo Roccatagliata, Gonzalo Rubio, Graciela B. Salis, Oscar Daniel Salomón, Ariel Sánchez, Graciela Scagliotti, Elsa Segura, Norberto A. Terragno, Roberto Tozzini, Marcelo Trivi, José Vázquez, Juan Carlos Vergottini, Eduardo Vega, Alberto M. Woscoff, Roberto Yunes, Ezio Zuffardi.

Comité de Expertos en Obstetricia y Ginecología (OyG)

Lorenzo Abad Martínez, Carlos Abel, José Acosta, Vardeli Alves de Moraes, Francisco Arcia Romero, Vicente Renato Bagnoli, Carlos Barbosa Montenegro, Pedro Barri Ragué, José de Barros Leal, Susana Bassol Mayagoitia, Paulo Belfort, Edgardo Bernardello, Rodolfo Bértola, Roberto Bocanera, Ronald Bossemeyer, Manuel Calbis Pascual, Luiz Camano, Aroldo Fernando Camarco, José Camavena, Thelma Canto de Cetina, Angel Carranza, José Carrera Maciá, Florencio Casavilla, Francisco Chagas Oliveira, Sonia María Coelho, Rafael Comino, Enrique Coppolillo, Elsimar Coutinho, Pedro Daguere, Ana María Di Costanzo,

Gian Carlo Di Renzo, Jorge Dionisi, Néstor O. Dron, Enzo Dueñas, Roberto Julio Elizalde, Manuel Escudero Fernández, Marco Fábio Prata Lima, Ernesto Fabrè González, Anibal Faúndes, Mirta Fernández, Luiz Ferraz de Sampaio Júnior, Cícero Ferreira Fernandes, David Fusaro, Francisco E. Gago, Jaime de la Garza, Francisco González Gómez, Antonio González González, Jesús González Merlo, Jorge Gori, Hans Wolfgang Halbe, Mónica Graciela Heredia, José Hernández García, José Hernández Martínez, Gerardo Hernández Muñoz, Ada Beatriz Husulak, Javier Iglesias Guiu, Javier Inglesi, Carlos Jakob, Graciela

Keklikian, Eduardo Lane, Enrique H. R. Lastreto, Carlos Lavarello, Baltazar Lema, Marcelo Lemgruber, Leo Lencioni, Antonio Lorusso, Guillermo Lovazzano, Laurival de Luca, João Bosco Machado da Silveira, José María de Magalhaes Neto, Clelia H. Magaril, Daniel Mailand, Joao Carlos Mantese, Maribel Martínez Díaz, José María Méndez Ribas, Javier Moleón Alegre, Rosana E. Molina, Marta Murga, Teresita Emilia Mussin, José Antonio Nascimento Filho, J. Navarro Clemente, Bussamãra Neme, Alejandro Novo Domínguez, Silvia Oizerovich, Carlos Ortega Soler, María Celeste Osorio Wender, Sérgio Pereira

da Cunha, Rosires Pereira de Andrade, Bautista Pérez Ballester, Patricia Perfumo, Suzana Pessini, Rafael Pineda Araken Irere Pinto, Joao Pinto e Silva, Ernesto Plata Rueda, Miguel Prats Esteve, Edgardo Daniel Rolla, Alberto Roseto, Antonio Rubino de Azevedo, Maurício M. Sabino de Freitas, Antonio Salomao, Carlos Salvatore, Juan San Román Terán, Carlos Sánchez Basurto, José Savino Trezza, Graciela Scagliotti, Jorge Souen, Gustavo de Souza, Giuseppe Sperotto, Gerardo Strada Sáenz, Estela Pozzo Usandivaras de Cima, José Usandizaga, Segundo Valdano, J. Vanrell Díaz, Luiz Carlos Viana, Roberto Votta, Silvina Witis, Marcelo Zugaib.

Fuentes científicas (OyG)

Acta Ginecológica
Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica
Actualización Gineco Obstétrica
Agencia Sistema de Noticias Científicas (aSNC)
American Family Physician
American Journal of Clinical Nutrition
American Journal of Clinical Pathology
American Journal of Medicine
American Journal of Obstetrics and Gynecology
Annals of Internal Medicine
Annals of Pharmacotherapy
ANZJOG
Archives of Family Medicine
Archives of Internal Medicine
Archives of Medical Research
Archives of Pediatric & Adolescent Medicine
Arquivos da Maternidade Dr. Alfredo Costa
Artemis
Arthritis and Rheumatism
Arzneimittel Forschung (Drug Research)
Atherosclerosis
Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology
BMJ
Brazilian Journal of Infectious Diseases
British Medical Journal of Obstetrics and Gynaecology (ex-BJOG: An International Journal of Obstetrics and Gynaecology)
Bulletin du Cancer
Bulletin of the World Health Organization
Calcified Tissue International
Canadian Medical Association Journal
Cancer
Cancer Causes and Control
Chinese Medical Journal
Climacteric
Clinical Endocrinology
Clinical Infectious Diseases
Clinical Nutrition
Clinical Oncology
Clinical Therapeutics
Contemporary Obstetrics and Gynecology

Contraception
Critical Care Medicine
Current Obstetrics & Gynaecology Current Therapeutic Research
Current Women's Health Reports
Diabetes Care
Drug Safety
Drugs
Endocrine Reviews
European Journal of Clinical Nutrition
European Journal of Contraception and Reproductive Health Care
European Journal of Endocrinology
European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology
European Urology
Fertility and Sterility
Geriatrics
Gynaecology Forum
Gynecologic and Obstetric Investigation
Gynecologic Oncology
Gynecological Endocrinology
Hormone Research
Hospital Practice
Human Reproduction
Hypertension
Hypertension in Pregnancy
Infectious Diseases in Clinical Practice
International Journal of Cancer
International Journal of Epidemiology
International Journal of Fertility
International Journal of Gynecological Cancer
International Journal of Gynecological Pathology
International Journal of Obstetric Anesthesia
International Journal of Urogynecology and Pelvic Floor Dysfunction
International Urogynecology Journal
JAMA
Journal of Bone and Mineral Research
Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism
Journal of Clinical Oncology

Journal of Endocrinology
Journal of Family Planning and Reproductive Health Care
Journal of Formosan Medical Association
Journal of Human Hypertension
Journal of Infectious Diseases
Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine
Journal of Medical Ultrasound
Journal of Nutrition
Journal of Obstetrics and Gynaecology
Journal of Obstetrics, Gynecology and Neonatal Nursing
Journal of Pediatric Nursing
Journal of Perinatal Medicine
Journal of Perinatology
Journal of Reproductive Medicine
Journal of the American Association of Gynecologic Laparoscopists
Journal of the American Board of Family Practice
Journal of the Society for Gynecologic Investigation
Journal of Ultrasound in Medicine
Journal of Urology
Journal of Women's Health
Journal of Women's Health & Gender-Based Medicine
Kaohsiung Journal of Medical Sciences
Lancet
Maturitas
Mayo Clinic Proceedings
Médecine et Hygiène
Medicina Clínica
Medicina-Buenos Aires
Menopausal Medicine
Menopause
New England Journal of Medicine
New Zealand Medical Journal
Nutrition
Obstetrical and Gynecological Survey
Obstetricia y Ginecología Latino-Americana
Obstetrics & Gynecology

Obstetrics and Gynecology Clinics of North America
Osteoporosis International
Pediatrics
Perspectives on Sexual and Reproductive Health
Pharmacotherapy
Placenta
Plastic and Reconstructive Surgery
Postgraduate Medicine
Prenatal Diagnosis
Public Health
QJM
Radiotherapy and Oncology
Reproduction
Reviews in Endocrine & Metabolic Disorders
Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetricia
Revista Colombiana de Menopausia
Revista Colombiana de Obstetricia y Ginecología
Revista Cubana de Higiene y Epidemiología
Revista de Colposcopia
Revista de Obstetricia y Ginecología de Buenos Aires
Revista del Instituto Nacional de Cancerología
Revista Ginecología y Obstetricia de México
Revista Panamericana de Salud Pública
Salud(i)Ciencia
São Paulo Medical Journal
Scandinavian Journal of Infectious Diseases
Sexually Transmitted Diseases
Southern Medical Journal
Time of Implantation of the Conceptus and Loss of Pregnancy
Trabajos Distinguidos Cardiología
Trabajos Distinguidos Cirugía
Trabajos Distinguidos Clínica Médica
Trabajos Distinguidos Factores de Riesgo
Trabajos Distinguidos Pediatría
Toxicological Sciences
Ultrasound in Obstetrics and Gynecology
West Indian Medical Journal

Pronóstico en la Mala Respuesta en la Fertilización *In Vitro*

Resumen objetivo elaborado
por el Comité de Redacción Científica de SICC sobre la base del artículo
The Poor Responder in IVF: Is the Prognosis Always Poor? A Systematic Review

de
Oudendijk J, Yarde F, Broer S y colaboradores

integrantes de
University Medical Center Utrecht, Utrecht, Países Bajos

El artículo original, compuesto por 11 páginas, fue editado por

Human Reproduction Update

18(1):1-11, Ene 2012



Las mujeres con mala respuesta a la hiperestimulación ovárica para fertilización in vitro no son un grupo homogéneo, y el pronóstico de este tratamiento dependerá de ciertas características individuales, como su edad y el número de ovocitos obtenidos.

Introducción

La hiperestimulación ovárica controlada mejoró la disponibilidad del número de ovocitos y, en consecuencia, las tasas de embarazo de los tratamientos de fertilización *in vitro* (FIV) luego de los primeros procedimientos, en los que se tomaban ovocitos únicos producidos en ciclos ováricos espontáneos. Luego de 40 años de los primeros tratamientos, aún hay mujeres con mala respuesta a la estimulación ovárica y se obtienen pocos ovocitos, por lo que el número de embriones disponibles para la transferencia y las tasas de embarazo son bajas. La prevalencia de mala respuesta es del 5.6% al 35.1%, según la definición utilizada, y existe controversia en cuanto a la tasa de embarazo en estas mujeres.

Se cree que la causa de la mala respuesta es el menor número de folículos que responden a la hormona foliculoestimulante (FSH), generalmente debido a la menor reserva ovárica. En algunas mujeres, la mala respuesta se relaciona con la exposición subóptima a las gonadotropinas, como la relacionada con la obesidad, o con la presencia de subtipos del receptor de FSH que reducen su sensibilidad a las gonadotropinas exógenas. Por lo tanto, no todas las mujeres con mala respuesta son similares en cuanto a la calidad de los ovocitos, y sería importante poder identificar aquellas con mejor pronóstico para proseguir o no con la FIV. El objetivo de la presente revisión fue evaluar el valor pronóstico de ciertas características de las pacientes y las pruebas de reserva ovárica sobre las tasas de embarazo en mujeres con mala respuesta a la hiperestimulación ovárica.

Métodos

Se realizó una búsqueda sistemática en bases de datos informatizadas de estudios en los que hubiera escasa respuesta a la estimulación ovárica llevada a cabo para procedimientos de FIV o inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI, por su sigla en inglés), con información sobre la probabilidad de embarazo en ese ciclo o los posteriores y descripción de caracte-

terísticas de los pacientes: edad, índice de masa corporal (IMC), pruebas de reserva ovárica (idealmente concentración de FSH, recuento de folículos antrales y hormona antimülleriana) y tratamientos concomitantes. No existe una única definición para la mala respuesta, puesto que algunos autores la relacionan con el número de ovocitos obtenidos, el número de folículos presentes al finalizar la estimulación ovárica, el pico de estradiol luego de la estimulación o combinaciones de estos parámetros. Se incluyeron estudios que tomaran cualquiera de estas definiciones, pero no factores pronósticos como edad materna avanzada o FSH elevada previa. Se excluyeron las revisiones y los informes de casos. Se extrajo la información de las investigaciones y se realizó un metanálisis para analizar el valor predictivo de estas características sobre el embarazo.

Resultados

De 1448 resultados de la búsqueda inicial, se identificaron 19 artículos completos potencialmente útiles: en seis se informaban las tasas de embarazo de mujeres con mala respuesta, en comparación con aquellas con buena respuesta a la estimulación; en diez se describía la influencia de la edad materna sobre la tasa de embarazos en aquellas con mala respuesta, y en una investigación se evaluaba el efecto del IMC en el pronóstico de la mala respuesta. En un estudio se informaba el efecto del valor basal de FSH sobre el pronóstico del embarazo, y en cuatro se analizó la tasa de embarazo según el número de ovocitos obtenidos, mientras que en cinco artículos se evaluaron las tasas en ese ciclo ovárico (con mala respuesta) y los posteriores. En tres investigaciones se utilizaron modelos multivariados de predicción de resultados del embarazo. Los valores de corte de FSH y edad, así como la definición de mala respuesta, fueron diferentes entre los distintos estudios, por lo que no fue posible comprar o sumar los datos, pero se analizaron por separado las mujeres con mala respuesta y aquellas con respuesta adecuada a la estimulación. No se identificaron trabajos que informaran el

pronóstico de la mala respuesta en mujeres según el tabaquismo, la hormona antimülleriana, el número de folículos antrales o el volumen ovárico.

Se observó que las tasas de embarazo en las mujeres con baja respuesta era del 7.6% al 17.5%, en comparación con el 25.9% al 36.7% en aquellas con buena respuesta a la hiperestimulación (con un total de 14 338 pacientes, sin corrección por la heterogeneidad de los estudios, el promedio fue de 14.8% contra 34.5% en esos grupos, respectivamente). Se halló una tendencia a mayor edad en las mujeres con mala respuesta, si bien no hubo suficiente información individual para realizar un análisis multivariado. En diez estudios se analizó la edad materna, y en cinco de ellos la menor tasa de embarazo en las mujeres con mala respuesta de mayor edad fue significativa. En una investigación, la tasa de embarazo fue del 23.0% en las mujeres ≤ 36 años, en comparación con el 12.0% en las mayores de esa edad ($p < 0.0001$). Las tasas de embarazo en las mujeres con mala respuesta de mayor edad fueron del 1.5% al 12.7%, en comparación con el 13.0% al 35% en aquellas con mala respuesta de menor edad. En un estudio se verificó que la tasa de embarazo en pacientes con IMC > 30 kg/m² era del 4.5%, frente al 23% en aquellas con IMC < 30 kg/m², con distribución similar de edad. En un análisis de 163 mujeres con mala respuesta se halló significativamente menores tasas de embarazo si la concentración basal de FSH era mayor de 12.0 UI/l, frente a aquellas con niveles adecuados (4.0% contra 14.8%, respectivamente), incluso tras ajustar los resultados por la edad materna. La tasa de embarazo en las mujeres con un único ovocito obtenido luego de la estimulación fue muy baja en tres estudios sobre este tema (0% a 2.3%), mientras que cuando había dos ovocitos esta tasa fue del 4.3% al 15.2% y aumentó cuando se obtenían ≥ 3 células de este tipo (hasta 22% cuando se obtenían cinco ovocitos o 28% si había 13 ovocitos disponibles). En los estudios que evaluaron los ciclos siguientes se observaron menores tasas de embarazo en las mujeres en las que se predijo que habría mala respuesta (del 7% al 9% en el segundo ciclo al 0% en el tercero, con una tasa acumulada en el segundo y el tercero del 11.5% al 19%), a diferencia de la mala respuesta no predicha (tasas del 11% al 22% en el segundo ciclo a 21% al 25% en el tercero, con una tasa acumulada del 25.9% al 47%). En una investigación, las tasas de embarazo fueron cada vez mayores hasta el tercer ciclo (9.5% a 12%), pero luego se redujeron al 10.2% y 7.2% en el cuarto y quinto, respectivamente (con una tasa acumulada del 16.7%). En un estudio de 1699 mujeres sometidas a dos ciclos de FIV sucesivos (y 898 con tres ciclos sucesivos), se detectó que la tasa de embarazo en el segundo ciclo era del 9.5% si se habían obtenido 1 o 2 ovocitos en el primer ciclo, mientras que este porcentaje era del 16.5%

si había 3 a 4 gametas disponibles. Independientemente del número de ovocitos obtenidos en el segundo ciclo, la tasa de embarazo en el tercero fue baja (media de 7.3%) cuando en el primero se habían tomado 1 a 3 células. En una última investigación se halló que en el 54% de las mujeres, la respuesta baja inicial era seguida por una respuesta normal en al menos un ciclo, aunque la tasa de embarazo fue de sólo el 10.1% por ciclo. Sólo en el 2.5% de las mujeres se halló baja respuesta ovárica persistente.

Discusión y conclusiones

La presente revisión sistemática de la bibliografía indica que la mala respuesta se asocia con menor tasa de embarazo, en comparación con la respuesta adecuada, pero que existen varios factores relacionados con el pronóstico. En las mujeres con mala respuesta en las que el pronóstico sea relativamente bueno no se debería limitar el número de ciclos de FIV, mientras que en aquellas con peor pronóstico se sugiere desalentar la realización de más ciclos. El efecto de la edad de la mujer sobre la calidad y el número de ovocitos podría explicar la peor respuesta en las de mayor edad, y en ellas el pronóstico sería peor en comparación con las mujeres con mala respuesta de menor edad. El menor número de ovocitos obtenidos en los ciclos también se relacionó con peor pronóstico (si bien no se pudo analizar el efecto de la edad sobre este fenómeno en este estudio, pero en investigaciones previas parecían ser independientes), así como la obesidad y los niveles basales altos de FSH.

Los autores concluyen que las mujeres con mala respuesta a la hiperestimulación ovárica para FIV no son un grupo homogéneo, por lo que el pronóstico de este tratamiento dependerá de ciertas características, como su edad y el número de ovocitos obtenidos.

Copyright © Sociedad Iberoamericana de Información Científica (SIIC), 2017
www.siicsalud.com

Acceda a este artículo en siicsalud	
	Código Respuesta Rápida (Quick Response Code, QR)
	Datos adicionales de los autores, palabras clave, patrocinio, conflictos de interés, especialidades médicas, autoevaluación. www.siicsalud.com/dato/resiic.php/153467

Comparación de la Pureza y Características de las Gonadotrofinas Urinarias frente a los Productos Recombinantes

Resumen objetivo elaborado

por el Comité de Redacción Científica de SIIC sobre la base del artículo

Analytical Identification of Additional Impurities in Urinary-Derived Gonadotrophins

de

Bassett R, Lispi M, Dorsselaer A y colaboradores

integrantes de

Merck Serono S.A, Ginebra, Suiza; y otros centros participantes

El artículo original, compuesto por 14 páginas, fue editado por

Reproductive BioMedicine Online

19(3):300-313, Sep 2009



El surgimiento de las gonadotrofinas recombinantes es un hito en la terapia de estimulación ovárica. El presente trabajo comparó los resultados de pruebas analíticas realizadas en preparados urinarios frente a gonadotrofinas recombinantes, buscando demostrar las ventajas de unos sobre otros.

Introducción

En los años '60 surgieron las gonadotrofinas comerciales, las cuales, actualmente, se utilizan para la estimulación ovárica en ciclos de inducción ovulatoria o durante la reproducción asistida. Desde su aparición, estas proteínas terapéuticas experimentaron mejoras en lo que respecta a su calidad y consistencia, como consecuencia del desarrollo de técnicas analíticas y tecnología de manufactura.

Estas proteínas, inicialmente se obtenían de extractos crudos de la orina de embarazadas y posmenopáusicas, y el contenido de gonadotrofinas era sólo del 2% al 5%. El desarrollo de técnicas de purificación y de la tecnología de producción permitió elaborar hormona foliculoestimulante (FSH) con una pureza mayor del 95%, y más aún, generar gonadotrofinas recombinantes que alcanzan una pureza mayor del 99%.

A pesar de los avances mencionados, los productos urinarios presentan diversas proteínas, como factor de crecimiento epidérmico (*epidermal growth factor*; EGF), y neurotoxina derivada de los eosinófilos (*eosinophil-derived neurotoxin*; EDN). El uso de herramientas analíticas que permiten una evaluación fisicoquímica de las gonadotrofinas en presencia de otras proteínas, es fundamental para conseguir eliminar las impurezas y mantener la integridad de la FSH y la hormona luteinizante (LH). En este contexto, hoy es posible evaluar la integridad molecular, la pureza y la consistencia de las gonadotrofinas con elevada sensibilidad, mediante la aplicación de nuevas tecnologías proteómicas de alta resolución.

En el presente estudio se evaluó la pureza y calidad de las formulaciones comerciales disponibles de gonadotrofinas urinarias purificadas, y se compararon con las preparaciones de FSH humana recombinante (r-hFSH), mediante una aproximación analítica global.

Métodos

En el presente estudio se utilizaron entre 19 y 30 viales de seis lotes comerciales de gonadotrofina menopáusica humana derivada de orina (*urinary human menopausal gonadotrophin*, u-HMG,) de 75 UI, y entre 14 y 73 viales de tres lotes comerciales de FSH humana derivada de orina (u-FSH) de 75 UI. Ambos productos son fabricados como un polvo liofilizado, por lo que cada vial se acompañó de un diluyente estéril (1 ml de cloruro de sodio al 0.9%). También se obtuvieron, para cada dosis (300 UI/0.5 ml, 450 UI/0.75 ml y 900 UI/1.5 ml), entre 17 y 28 cartuchos de un lote comercial de r-hFSH) directamente del fabricante.

En un gel bis-tris prefabricado de poliacrilamida al 4% a 12% se realizó una electroforesis. Además, se ejecutó un análisis mediante *Western blot* luego de separar las proteínas por medio de electroforesis en gel de dodecil sulfato de sodio-poliacrilamida (*sodium dodecyl sulphate-polyacrylamide gel electrophoresis*, SDS-PAGE). También se realizó una evaluación mediante isoelectroenfoque, y se determinó el contenido total de proteínas en las preparaciones mediante el ensayo de Bradford.

Por otro lado, se realizó un bioensayo de FSH *in vivo*, en el cual cada muestra se evaluó independientemente por triplicado, y la actividad de FSH se evaluó con el método de Steelman y Pohley, asociado con el incremento del peso ovárico en las ratas. Además, se realizó una cromatografía líquida de exclusión de tamaño de alto rendimiento (*size exclusion-high performance liquid chromatography*; SE-HPLC), así como una cromatografía líquida en fase inversa de alto rendimiento (*reverse phase-high performance liquid chromatography*, RP-HPLC). Por último, las muestras fueron evaluadas mediante espectrometría de masa (MS).

Resultados

Todas las preparaciones de u-HMG, u-FSH y rFSH mostraron una banda de proteínas de aproximadamente 22 kD en la electroforesis en gel bis-tris 4% a 13% con tinción de plata, la cual se asoció con las subunidades alfa reducidas de la FSH, la LH y la gonadotropina coriónica humana (HCG), así como con las subunidades beta de FSH. En los lotes de u-HMG se observó también una banda de 33 kDa, la cual se vinculó con la subunidad beta de la HCG. También se verificó en los lotes de u-HMG y u-FSH múltiples bandas de proteínas con peso mayor de 36 kDa, las cuales no se encontraron al evaluar la rFSH.

En el análisis por *Western blot* se observaron tres bandas principales en las muestras de u-HMG y sólo una en las muestras de rFSH, al utilizar anticuerpos policlonales frente a la molécula de FSH completa, y con reactividad cruzada con LH. La banda de aproximadamente 22 kDa corresponde a las cadenas reducidas alfa y beta de la FSH, mientras que las bandas adicionales de 20 y 33 kD, presentes en las muestras de u-HMG, se asociaron con la LH y la HCG, respectivamente. Por otro lado, las bandas con peso molecular mayor de 50 kD se relacionaron con agregados de FSH.

Al realizar el *Western blot* con anticuerpos monoclonales específicos para la subunidad beta de FSH, se confirmó que las bandas de 22 kDa eran atribuibles a la FSH. Por otro lado, al conjugar anticuerpos policlonales frente a HCG y un anticuerpo monoclonal frente a LH, se confirmó que en los lotes de u-HMG las bandas de 20 y 33 kDa correspondían con las subunidades beta de HCG y LH, respectivamente.

Al evaluar los perfiles de isoformas de u-HMG, u-FSH y rFSH, se observó que las preparaciones urinarias presentaron un rango de isoformas de 3.0 a 5.2 pl, mientras que en la preparación recombinante fue de 3.5 a 6.0 pl.

El contenido total de proteínas promedio, registrado mediante el ensayo de Bradford, fue de 11.85 y 76.7 µg para los lotes de u-HMG y rFSH, respectivamente. Por otro lado, la variabilidad entre los lotes de u-HMG fue del 24.6%, mientras que para la rFSH fue de tan sólo el 2.9%.

En los lotes de u-HMG se evaluó el contenido de proteína FSH promedio mediante RP-HPLC, y la cantidad de proteína FSH promedio por contenedor fue de 7.49 µg. Al estudiar las muestras de u-FSH, la cantidad de proteína FSH promedio fue de 6.65 µg por contenedor, mientras que fue de 48.90 µg/ml en los lotes de rFSH.

Los valores promedio de inmunoreactividad de FSH, registrados mediante un inmunoensayo, fueron 36.9 UI/ml, 39.1 UI/ml y 398.5 UI/ml para u-HMG, u-FSH y rFSH, respectivamente.

Se observó que la bioactividad promedio de la FSH fue de 64 UI y de 66 UI, para la u-HMG y la u-FSH, en orden respectivo. No se realizó esta evaluación *in vivo* para rFSH, ya que es posible encontrar los resultados en publicaciones previas.

En los lotes de u-HMG, el contenido promedio de LH fue de 0.47 UI y el de HCG de 11.3 UI. Por otro lado, al analizar la u-FSH se observó que el contenido promedio de LH y de HCG fue de 0.0089 UI y de 0.035 UI, respectivamente.

En las muestras de u-FSH y de u-HMG no se detectó EGF, mientras que la EDN se encontró en todos los lotes evaluados.

Mediante SE-HPLC se evaluó la pureza de los lotes de u-FSH y rFSH, y se detectaron proteínas de alto peso molecular en 2 lotes de u-FSH, pero en ninguno de rFSH.

Los niveles promedio de gonadotropinas oxidadas fueron del 49.0%, 51.0% y 1.6%, para los lotes de u-HMG, u-FSH y rFSH, en orden respectivo, según se demostró mediante RP-HPLC.

La presencia de subunidad beta de HCG se confirmó en ambos lotes de u-HMG y no se identificaron proteínas no gonadotropinas de los productos urinarios. Las proteínas más abundante en los lotes de u-HMG fueron los inhibidores de serina proteasa plasmática, la proteína de unión al factor similar a la insulina 7 (IGF-BP7), la alfa 2 antiplasmina y la apolipoproteína 2.

Discusión y conclusiones

El análisis por *Western blot* demostró que la preparación recombinante contenía FSH exclusivamente, mientras que las preparaciones derivadas de orina presentaban diversas bandas no-FSH. También se observó una mayor pureza, un perfil de isoformas más uniforme y un menor nivel de oxidación en los productos recombinantes.

Tanto los lotes de u-HMG como los de u-FSH presentaron proteínas no gonadotropinas contaminantes, como por ejemplo IGF-BP7, inhibidor de la elastasa de leucocitos, inhibidor de la serina proteasa plasmática y glucoproteína zinc-alfa 2. La EDN, un contaminante común de las preparaciones comerciales de gonadotropinas, se encontró tanto en u-FSH como en u-HMG; sin embargo, no se halló EGF en ninguna de las dos preparaciones.

Al evaluar la composición de los preparados, se confirmó que la u-HMG se compone principalmente de FSH y HCG, mientras que la u-FSH sólo presentó pequeñas cantidades de LH y HCG.

Por otro lado, las preparaciones urinarias de gonadotropinas tuvieron un perfil de isoformas más ácido que las recombinantes. El control del material crudo es el principal obstáculo para mejorar la calidad de los productos derivados de orina.

Los autores concluyen que los desarrollos recientes de técnicas analíticas de laboratorio permiten una evaluación más detallada de las preparaciones de gonadotropinas utilizadas para la estimulación folicular. También se demostró que la u-HMG y la u-FSH se encuentran altamente oxidadas y contienen concentraciones variables de proteínas derivadas de orina. Por último, los investigadores plantean que, contrariamente a lo observado en los productos urinarios, las gonadotropinas recombinantes contienen FSH pura, sin proteínas derivadas de la orina y con un bajo nivel de oxidación.

Copyright © Sociedad Iberoamericana de Información Científica (SIIC), 2017
www.siicsalud.com

Acceda a este artículo en siicsalud



Código Respuesta Rápida
(Quick Response Code, QR)

Datos adicionales de los autores, palabras clave, patrocinio, conflictos de interés, especialidades médicas, autoevaluación.
www.siicsalud.com/dato/resiic.php/153359

Informe del Grupo de Diagnóstico Genético Preimplantatorio

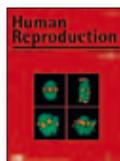
Resumen objetivo elaborado
por el Comité de Redacción Científica de SIIC sobre la base del artículo
**ESHRE PGD Consortium Data Collection XIII: Cycles from January to December 2010
with Pregnancy Follow-Up to October 2011**

de
de Rycke M, Belva F, Coonen E y colaboradores

integrantes de
UZ Brussels, Bruselas, Bélgica; y otros centros participantes

El artículo original, compuesto por 27 páginas, fue editado por

Human Reproduction
30(8):1763-1789, Ago 2015



Hubo una reducción del 6% en el número de ciclos de diagnóstico genético preimplantatorio en comparación con años previos, en parte por la reducción de las pesquisas genéticas preconceptionales. Se estima que la sensibilidad de la reacción en cadena de la polimerasa para el diagnóstico preimplantatorio de enfermedades monogénicas es del 99.2%.

Introducción y métodos

El grupo de diagnóstico genético preimplantatorio (DGP) de la *European Society of Human Reproduction and Embryology* (ESHRE) fue establecido en 1997 con el fin de diseñar guías, promover las mejores prácticas clínicas y recolectar información sobre los ciclos, los embarazos, los partos y los niños producto de DGP. Se publicaron hasta la fecha cuatro normativas sobre distintos aspectos del DGP: organización de los centros asistenciales, pruebas basadas en hibridación por fluorescencia *in situ* (FISH, por su sigla en inglés), estudios basados en amplificación y biopsias. Se publicaron, además, 12 colecciones de datos de todas las aplicaciones actuales del DGP, incluidas las enfermedades monogénicas, la caracterización del HLA, el estudio de anomalías cromosómicas, la pesquisa genética preimplantatoria (PGP) y la selección de sexo por causa social; luego de 10 años de informes se presentó un resumen de la información. En el presente artículo se resumen los datos obtenidos en el año 2010, con seguimiento de embarazos y neonatos hasta octubre de 2011.

Se solicitó a los centros participantes que presentaran sus informes sobre los ciclos de DGP, los embarazos y los nacidos por esta técnica por separado, y se excluyeron aquellos con información incompleta. Se definieron los embarazos clínicos como la presencia de 1 o más corazones fetales en la semana 6 de gestación, la tasa de implantación como el número de corazones fetales cada 100 embriones transferidos y la tasa de partos como el porcentaje de embarazos que finalizaron en partos por cada procedimiento de obtención de ovocitos (ODO) o de transferencia de embriones.

Resultados

Sólo se incluyó la información de centros con membresía completa del grupo (62 instituciones), puesto que pueden ofrecer datos de todos los aspectos del DGP. De un total de 5780 ciclos

(hasta ODO) en el período considerado, 5651 llegaron a biopsias: en 4250 se cortó la zona pelúcida por láser, y el momento de la biopsia fue el estadio de división (previo a la formación del blastocisto) en 4526 embriones. En 5192 casos se realizaron inyecciones intracitoplasmáticas de espermatozoides (ICSI, por su sigla en inglés) y 48 fueron llevados a cabo para la selección de sexo por causa social (< 1% de los casos, con un total informado de 705). De 1071 ciclos hasta ODO con información completa que fueron realizados por anomalías cromosómicas estructurales de algún progenitor, 64 incluyeron pesquisa de aneuploidías, en 13 se hizo además DGP por FISH y en 2, DGP por enfermedades monogénicas. En dos casos se realizó DGP para rearrreglos cromosómicos complejos. En el 60% de los casos la causa era la translocación recíproca presente en alguno de los padres (con una proporción similar de portación según el sexo), y de los ciclos realizados por translocaciones robertsonianas (28% de los casos), la tasa de portación en hombres duplicaba a la de las mujeres. La presencia de derivados con información de los cromosomas 13 y 14 fue la principal forma de translocación robertsoniana en hombres (61%), y es un hallazgo asociado con infertilidad masculina (la tasa en este grupo era del 70%). El 47% de los ciclos por anomalías cromosómicas estructurales fue realizado en pacientes infértiles, con una tasa del 35% (para portadoras de sexo femenino) al 70% (en los hombres) en presencia de translocaciones robertsonianas. La media de la edad materna fue de 33 años, y en el 82% de los ciclos hasta ODO se realizó ICSI para la fertilización. El 96% de los ciclos hasta ODO progresó hasta estadios pasibles de biopsia, y se usó láser para cortar la zona pelúcida en el 77% de los casos. En el 89% de los ciclos se aspiraron blastómeros de embriones en estadio de división, que fueron analizados por FISH en el 93% de los casos y por hibridación genómica comparada por *array* (aCGH, por su sigla en inglés) o reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en el 6% y 1%, respectivamente. Se

obtuvieron un total de 13 211 ovocitos (media de 12.3 por ciclo), de los cuales el 61% fue fertilizado (hasta la observación de 2 pronúcleos), y el 77% de los embriones resultantes (6209 de 8042) fue sometido a biopsia. En 5810 de los 6149 embriones con biopsias exitosas fue posible obtener resultados diagnósticos, y sólo el 24% de éstos fue considerado transferible (el 68% fue transferido y el 18%, congelado). Este porcentaje fue más bajo en pacientes con translocaciones recíprocas: 19% y 16% para portadores varones o mujeres, respectivamente. De los 1070 ciclos hasta ODO realizados por esta indicación, sólo el 62% resultó en transferencias de embriones (entre el 49%, para mujeres con translocaciones recíprocas, y el 80% en portadores de deleciones), en 261 ciclos hubo pruebas de gonadotrofinas positivas y en 206 se constataron latidos fetales (19% por ODO y 31% por transferencia de embriones). En el grupo de mujeres con translocaciones recíprocas, la tasa de latidos positivos por ODO fue del 12%, debido al bajo porcentaje de embriones transferibles disponibles. La tasa de implantación general en este grupo fue del 26% (entre el 22%, para hombres con translocaciones robertsonianas, y el 33%, en mujeres con translocaciones recíprocas) y la tasa de partos del 15% por ODO y del 25% por transferencia embrionaria. Se identificaron 10 abortos espontáneos y 31 embarazos clínicos fueron perdidos en el seguimiento.

En cuanto al DGP por enfermedades ligadas al cromosoma X, se realizaron 108 ciclos hasta ODO, en el 78% de los casos se llevó a cabo ICSI, la tasa de corte por láser fue del 80% y se aspiraron células en el estadio de división en el 96% de los casos. En el 12% de los ciclos se usó PCR para el diagnóstico, mientras que en los restantes, FISH. Se obtuvieron un total de 1294 ovocitos (media de 12.0 por ODO), con una tasa de fertilización del 73% de los 1132 ovocitos inseminados y una proporción de biopsias del 74% de los 821 embriones resultantes. En 564 de las 594 biopsias exitosas hubo diagnóstico, y el 32% de los embriones resultaron ser transferibles (esto se llevó a cabo en 118 de estos 178, con una tasa del 74% de ciclos por ODO). Se identificó embarazo bioquímico en 33 ciclos y latidos fetales en 23 (21% y 29% por ODO y por transferencia embrionaria, respectivamente), con una tasa de implantación del 23%. La tasa de partos fue del 19% y 25% por ODO y transferencia embrionaria, en ese orden, y se constataron dos abortos espontáneos; un embarazo se perdió en el seguimiento.

Se realizaron 1574 ciclos hasta ODO por enfermedades monogénicas (las mismas que en informes previos), y en el 99% de los ciclos hasta ODO se llevó a cabo ICSI; el método diagnóstico fue la PCR en el 90% de los casos, la amplificación del genoma completo en el 6% y la aCGH en el 3%. En el 75% de los ciclos se usó láser para la biopsia, que en el 93% de los casos se hizo el día 3 de la división celular del embrión (en el 2% de los casos se efectuó biopsia de blastocisto), y en 43% y 37% de los casos se realizaron pruebas genéticas sobre uno o dos blastómeros, respectivamente, con una tasa de toma de cuerpos polares o trofoectodermo del 6%. De 19 941 complejos de cúmulo y ovocito recogidos en total (con un promedio de 12.7 por ciclo hasta ODO), fueron fertilizados 76% (7.9 por ciclo) de los ovocitos maduros inseminados (10.4 por ciclo). El 80% de estos embriones fueron sometidos a biopsia, y la tasa de éxito fue del 98%; hubo diagnóstico en el 91% de los casos (5.8 cada 6.4 embriones adecuados para biopsia) y se consideraron transferibles el 43% de los embriones (2.5 por ciclo). De 1543 procedimientos de DGP llevados a cabo, el 81% resultó en transferencias de embriones (1.3 por ciclo, con 0.7 reservados para criopreservación). Las pruebas de gonadotrofinas fueron positivas en 537 ciclos, y en 446 hubo latidos positivos

Tabla 1. Evolución del embarazo.

	Nº de embarazos	Nº de corazones fetales	
Embarazos	1503		
Sólo ciclos de FISH	922		
Sólo ciclos de PCR	467		
aCGH	43		
PCR + amplificación del genoma completo	50		
PCR + aCGH	16		
FISH + aCGH	2		
FISH + PCR	3		
Embarazos subclínicos	293		
Embarazos clínicos (con latidos fetales)	1210	1468	
Únicos	967	967	
Gemelos dobles	228	456	
Gemelos triples	15	45	
Pérdida del seguimiento durante el primer trimestre	35	47	
Pérdida en el primer trimestre			
Aborto espontáneo	131	142	
Interrupción del embarazo	2	2	
Pérdida de gemelos	0	19	
- De gemelos dobles a embarazos únicos		16	
- De gemelos triples a dobles		1	
- De gemelos triples a embarazos únicos		2	
Reducción de embarazos múltiples	0	7	
De gemelos triples a dobles		1	
De gemelos dobles a embarazos únicos		2	
De gemelos triples a embarazos únicos		4	
Embarazos persistentes > 12 semanas	1042	1251	
Pérdidas en el segundo trimestre			
Aborto espontáneo	11	12	
Interrupción del embarazo	5	6	
Pérdida de gemelos	0	4	
Pérdida del seguimiento durante el segundo o tercer trimestre	44	55	
Partos	982	1174¹	1152²
Únicos	797	797	787
Gemelos dobles	178	356	345
Gemelos triples	7	21	20

¹ Nacidos vivos y muertos² Nacidos vivos

(28.0% por ODO y 36% por transferencia embrionaria) de 522 corazones fetales (la tasa de implantación fue del 27%). La tasa de partos fue del 24% por ODO y del 31% por transferencia embrionaria, con un 10% de abortos espontáneos y 22 embarazos perdidos en el seguimiento .

Se llevaron a cabo 2979 ciclos de pesquisa genética preimplantatoria (6% menos que en el informe previo), con una media de edad materna de 39 años. La principal indicación para este procedimiento fue la edad materna avanzada (36%), seguida por el fracaso repetido en la implantación (15%), los abortos a repetición (14%), el factor masculino grave (9%) y otras causas. Una proporción pequeña de parejas optaron por esta alternativa al usar ovocitos donados o sin indicaciones médicas claras. En 2072 de las 2978 biopsias, éstas se realizaron en el estadio de división, en el 75% de los casos se cortó el embrión con láser y en el 4% de los ciclos se usó aCGH (en la mayoría de los restantes se utilizó FISH). De 26 166 ovocitos inseminados, se fertilizó un 73%, y de 15 068 embriones sometidos a biopsia exitosamente hubo diagnóstico en 14 548 (56% de los ovocitos inseminados y 96% de los sometidos a biopsia). De éstos, el 31% era transferible, se realizó este procedimiento en el 72% (14% fue congelado), hubo 762 pruebas de gonadotrofinas positivas y 594 ciclos con latidos positivos, con una tasa de embarazo clínico por ODO del 20% y del 30% por transferencia embrionaria. Se identificaron 430 partos, con 39 embarazos perdidos en el seguimiento. En total, de 2979 ciclos desde la ODO hubo 2012 transferencias embrionarias, con una tasa de partos del 14% por ciclo desde la ODO y del 21% por transferencia embrionaria; la tasa de abortos espontáneos fue del 18%.

Se informaron en total 1503 embarazos en este período, con 982 partos, 22 nacidos fallecidos y 1152 nacidos vivos. De los 1210 ciclos que resultaron en embarazos con latidos positivos, hubo información de 1131 embarazos y se constataron 121 complicaciones. En el 39% de los nacimientos, el método de finalización fue cesárea, y en 150 casos no se registró si eran partos o cesáreas. El diagnóstico genético fue confirmado durante el embarazo en 251 casos, o luego del nacimiento en 388 casos. El 52% de los casos fue evaluado en forma posnatal para descartar malformaciones congénitas, complicaciones neonatales o muerte perinatal, y las primeras se detectaron en 8 nacidos únicos y 4 gemelos (además hubo 6 malformaciones leves, la mitad en niños nacidos de embarazos múltiples). La tasa de embarazos múltiples fue del 20%, y se informaron 3 casos con errores en el diagnóstico. Uno de éstos presentaba síndrome de X frágil, identificado durante el embarazo; era un feto femeni-

no portador, producto de un ciclo en el que se transfirieron 3 de 5 embriones considerados normales; se decidió interrumpir el embarazo luego del diagnóstico prenatal. Se consideró que la causa había sido un error en la toma del embrión al momento de la transferencia. Un segundo error en el diagnóstico fue el caso de una pesquisa genética preimplantatoria por edad materna avanzada y abortos espontáneos a repetición con FISH para nueve cromosomas; luego de estudiar una célula de día 3 (con resultado normal), se constató trisomía 21 mediante diagnóstico prenatal y se interrumpió el embarazo. El tercer caso se sometió a DGP por FISH del primer y segundo cuerpo polar por abortos a repetición, y al nacimiento se detectó trisomía 21. El análisis de todos los centros reveló un promedio de tasa de embarazo clínico del 22%, sin relación con el número de ciclos llevados a cabo en cada institución.

Discusión y conclusiones

El presente informe reveló una reducción del 6% en el número de ciclos de DGP en comparación con años previos, en parte por la reducción de las pesquisas genéticas preconcepcionales (esto podría deberse a varios ensayos clínicos en los que se observó que no era beneficioso realizarlas en forma rutinaria cuando se hacía FISH en estadio de división). Se cree que uno de los errores en el diagnóstico se debió a la transferencia de un embrión incorrecto, por lo que se recomendó reforzar los controles para mejorar la calidad del centro de fertilidad. Los otros casos podrían deberse a mosaïcismo cromosómico o errores técnicos. Se estima que la sensibilidad de la PCR para el diagnóstico preimplantatorio de enfermedades monogénicas es del 99.2%.

Copyright © Sociedad Iberoamericana de Información Científica (SIIC), 2017
www.siicsalud.com

<i>Acceda a este artículo en siicsalud</i>	
	Código Respuesta Rápida <i>(Quick Response Code, QR)</i>
	Datos adicionales de los autores, palabras clave, patrocinio, conflictos de interés, especialidades médicas, autoevaluación. www.siicsalud.com/dato/resic.php/153468

Importancia de la Individualización de la Dosis de Hormona Foliculoestimulante para Iniciar la Fertilización *In Vitro*

Resumen objetivo elaborado

por el Comité de Redacción Científica de SIIC sobre la base del artículo

Development of a Nomogram Based on Markers of Ovarian Reserve for the Individualisation of the Follicle-Stimulating Hormone Starting Dose in Vitro Fertilisation Cycles

de

La Marca A, Papaleo E, Volpe A y colaboradores

integrantes de

Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia, Módena, Italia; y otros centros participantes

El artículo original, compuesto por 9 páginas, fue editado por

BJOG an International Journal of Obstetrics and Gynaecology

119(10):1171-1179, Sep 2012



En mujeres con una cantidad elevada de folículos viables, la administración de dosis altas de hormona foliculoestimulante puede generar una respuesta ovárica excesiva y aumentar el riesgo de síndrome de hiperestimulación ovárica. En consecuencia, es fundamental individualizar la dosis al iniciar la fertilización in vitro.

Introducción y objetivos

La administración de hormona foliculoestimulante (FSH) durante los ciclos de reproducción asistida tiene el objetivo de aumentar el reclutamiento y el crecimiento de múltiples folículos. La sensibilidad a la FSH exógena determinará la cantidad de folículos inducidos. En mujeres con una cantidad elevada de folículos viables, la administración de dosis altas de FSH puede generar una respuesta ovárica excesiva y aumentar el riesgo de síndrome de hiperestimulación ovárica (SHO). Para escoger la dosis apropiada de FSH es necesario predecir con exactitud la producción de ovocitos generada por la estimulación ovárica máxima. Si se predice que la respuesta ovárica será excesiva, la dosis inicial de FSH debería ser inferior a la administrada para obtener una estimulación máxima.

La elección de la dosis de FSH a administrar en el primer ciclo de fertilización *in vitro* (FIV) es empírica y generalmente se estima según la edad de la paciente. Este método puede perfeccionarse si se consideran otras variables ya que la edad no es un factor predictor significativo de respuesta ovárica. Según los datos disponibles, la combinación de la edad, el recuento de folículos antrales (RFA), el volumen ovárico, los datos ecográficos y el tabaquismo puede ser útil para escoger la dosis de FSH durante la FIV. Otros autores propusieron la consideración de la edad, el índice de masa corporal (IMC), el nivel sérico de FSH y el RFA. Ambos modelos fueron validados y su aplicación se asoció con una disminución de la respuesta ovárica anormal y de la necesidad de ajustar la dosis durante el tratamiento y con un aumento de la frecuencia de respuesta ovárica adecuada.

La hormona antimülleriana (AMH) fue destacada como un factor hormonal para la predicción de la respuesta ovárica excesiva o insuficiente ante la estimulación con FSH. Esta glicoproteína es secretada por los folículos antrales pequeños,

preantrales y primarios y su nivel sérico se correlaciona con el recuento ecográfico de folículos antrales y con la cantidad de ovocitos recuperados en los ciclos de FIV. Dada su utilidad, la AMH es considerada por diferentes autores como el marcador de primera elección para evaluar la respuesta ovárica durante la FIV. Su medición puede ser beneficiosa para escoger la dosis de FSH para cada paciente.

El presente estudio se llevó a cabo con el objetivo de evaluar la posibilidad de elaboración de un normograma sobre la base de las características de las pacientes y del nivel de AMH que permita estimar la dosis inicial de gonadotropina endógena a administrar durante la FIV.

Pacientes y métodos

Los autores analizaron la base de datos correspondiente a la información clínica recolectada en forma prospectiva sobre los ciclos de FIV realizados en el Hospital Universitario de Módena, Italia, entre 2005 y 2010. Los ciclos incluidos fueron los correspondientes al primer intento de fertilización en mujeres con ciclos regulares, de hasta 40 años de edad. Todas habían recibido tratamiento con un agonista de la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) y una dosis inicial de FSH de 225 UI/día durante los primeros días de tratamiento. La aplicación de criterios de inclusión y exclusión resultó en la selección de 346 mujeres, el 47% de las cuales había presentado un ciclo fallido de inseminación antes de iniciar la FIV.

El agonismo GnRH tuvo lugar mediante el uso de leuprorelina. Una vez alcanzada la desensibilización hipofisaria se inició el tratamiento con FSH recombinante en dosis de 225 UI/día. Una vez que los folículos alcanzaron 18 mm o más, se aplicó una dosis de 10 000 UI de gonadotropina coriónica humana por vía intramuscular. Transcurridas 34 a 36 horas tuvo lugar

la aspiración folicular. La toma de muestras de sangre tuvo lugar en horario matutino, el día 3 del ciclo, antes de administrar cualquier droga. La medición del nivel de AMH sérica se realizó mediante ensayoinmunoensayo.

El parámetro principal de evaluación fue la sensibilidad ovárica, es decir la cantidad de ovocitos recuperados según la dosis inicial de FSH. La evaluación de las variables predictivas de la cantidad de ovocitos recuperados por unidad de FSH tuvo lugar mediante un análisis de regresión múltiple. Las variables significativas fueron utilizadas para elaborar el modelo final y definir la dosis óptima de FSH para alcanzar una respuesta satisfactoria.

Resultados

Se incluyeron 346 ciclos correspondientes a mujeres de 35.1 ± 3.3 años. En el 95% de las pacientes fue posible recuperar ovocitos. La media de ovocitos recuperados fue 9.4. La realización de un análisis de regresión univariado y multivariado tuvo lugar mediante la inclusión de la cantidad de ovocitos por unidad de FSH como variable dependiente, y la edad, el IMC, el tabaquismo, el nivel de FSH y el nivel de AMH el día 3 del ciclo como variables independientes.

La sensibilidad ovárica se relacionó con todas las variables analizadas, aunque la edad y el nivel de AMH y FSH fueron las

variables estadísticamente significativas. El modelo elaborado dio cuenta del 30% de la variabilidad de la sensibilidad ovárica. Según lo observado, la cantidad de ovocitos recuperados por unidad de FSH en mujeres de la misma edad disminuiría al reducirse el nivel basal de AMH y aumentar el nivel sérico de FSH. Tanto la edad como el nivel sérico de AMH fueron los factores predictores más significativos de sensibilidad ovárica. El modelo elaborado permitió crear un normograma de dosis de FSH que puede utilizarse en la práctica clínica (Figura 1).

Debido a las dificultades potenciales relacionadas con la evaluación del nivel sérico de FSH el día 3 del ciclo, los autores propusieron un modelo simplificado elaborado de acuerdo con la edad y el nivel de AMH. La precisión de este último modelo (Figura 2), es inferior en comparación con la precisión del modelo que incluye las 3 variables, lo cual debe considerarse a la hora de escoger cuál de ellos aplicar. No obstante, la medición de la AMH puede tener lugar en forma independiente del ciclo menstrual, lo cual constituye una ventaja en la práctica clínica. El modelo que incluyó las 3 variables permitió predecir una dosis inicial de FSH menor de 225 UI en el 29.7% de las mujeres. Al evaluar a las mujeres según la edad, dicho porcentaje fue del 55.1% y el 25.9% ante una edad menor o igual o mayor de 35 años, respectivamente.

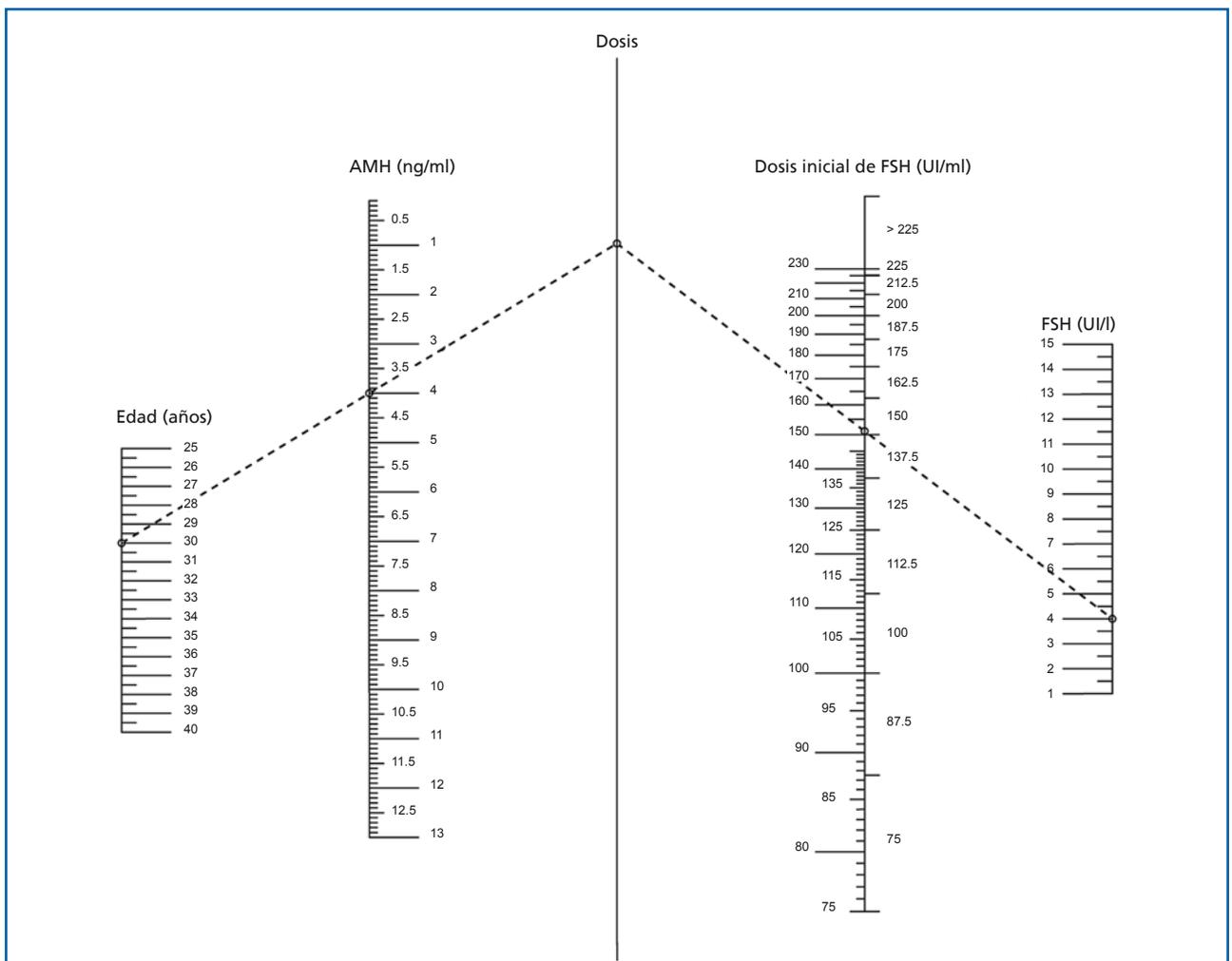


Figura 1. Normograma de 3 variables para el cálculo de la dosis inicial de FSH.

Este normograma se basa en la edad de la paciente, la AMH y la FSH séricas. En el ejemplo, para una mujer de 30 años con valores de AMH de 4 ng/ml y de FSH de 4 UI/l, la dosis inicial de FSH es de 152 UI/día. Como el sistema de administración de la FSH está basado en dosis de 12.5 UI, se observa, a la derecha de la columna de la dosis inicial de FSH, la equivalencia (150 UI/día para el ejemplo). Factor de conversión de la AMH: 1 ng/ml = 7.143 pmol/l.

AMH, hormona antimülleriana; FSH, Hormona foliculoestimulante

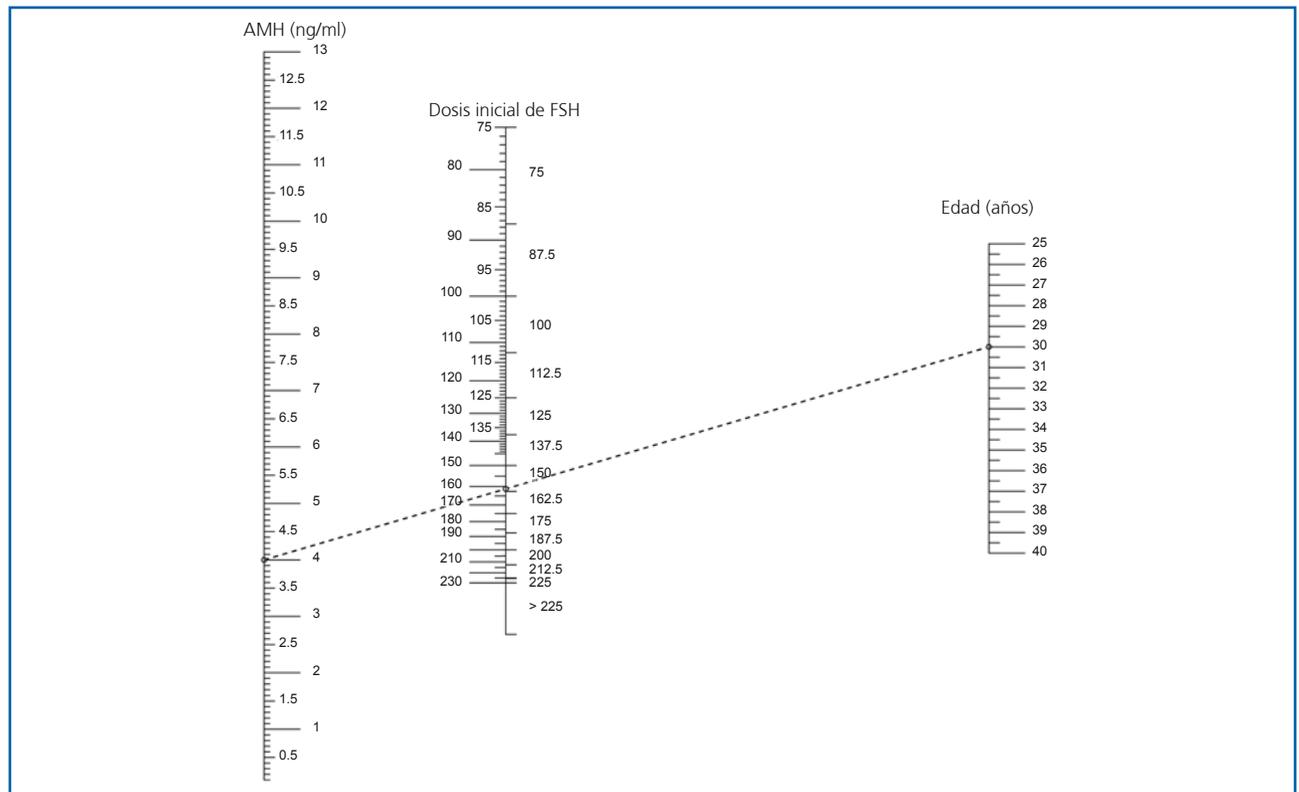


Figura 2. Normograma de 2 variables para el cálculo de la dosis inicial de FSH.

Este nomograma se basa en la edad de la paciente y los valores de AMH sérica. En el ejemplo, para una mujer de 30 años con valores de AMH de 4 ng/ml, la dosis inicial de FSH es de 160 UI/día. Como el sistema de administración de la FSH está basado en dosis de 12.5 UI, se corrige a 150 UI/día, para el ejemplo. Factor de conversión de la AMH: 1 ng/ml = 7.143 pmol/l.

AMH, hormona antimülleriana; FSH, Hormona foliculoestimulante

Discusión

De acuerdo con los resultados obtenidos y en coincidencia con lo informado en estudios anteriores, la respuesta ovárica a la FSH depende principalmente de la edad y del nivel de reserva ovárica. Los autores observaron que la sensibilidad ovárica puede predecirse en forma significativa al considerar la edad y el nivel de AMH y de FSH. Según se propuso en el presente estudio, la modulación de la respuesta ovárica a la FSH requiere, en primer lugar, conocer la descarga folicular. Esto se relaciona con características como la edad y la reserva ovárica.

La modulación de la respuesta ovárica debe incluir la definición precisa de la dosis inicial de FSH. No obstante, la cantidad de folículos reclutables será determinante, en tanto que el aumento de la dosis de FSH no resulta eficaz para prevenir la respuesta ovárica negativa en mujeres con antecedentes de respuesta insuficiente. En el presente estudio se elaboró un normograma a partir de la definición de la cantidad de ovocitos a recuperar. Dicha cantidad fue 9 debido a que se correspondió con la media de ovocitos obtenidos en el estudio. Además, 9 es la cantidad media dentro de lo normal, que oscila entre 5 y 14 ovocitos.

El uso del normograma para estimar la dosis inicial de FSH puede acotar la distribución de las respuestas ováricas alrededor de un valor medio, con lo cual disminuiría la cantidad de mujeres que presenten una respuesta ovárica inadecuada. Dado que la variabilidad de la reserva ovárica es considerable, el uso de una dosis fija y estandarizada de FSH no resulta adecuado ya que puede resultar en una estimulación ovárica excesiva o insuficiente, según las características de cada mujer. En este sentido, se informó que la mayoría de los casos de SHO pueden prevenirse mediante la disminución de la dosis inicial de FSH en mujeres con una cantidad elevada de folículos reclutables. El

uso de antagonistas de la GnRH en mujeres con riesgo de SHO también es una opción a considerar.

Los autores concluyen que la respuesta ovárica a la estimulación controlada depende de la edad y de la cantidad de folículos reclutables. Este último parámetro puede evaluarse al medir el nivel de AMH y FSH. La predicción de la cantidad máxima de folículos a obtener mediante la estimulación ovárica máxima permite modular la respuesta durante los ciclos de FIV. En consecuencia, los médicos pueden regular la dosis de FSH de acuerdo con la cantidad de ovocitos que se desean reclutar. El normograma creado por los autores puede aplicarse en forma simple en la práctica clínica.

En última instancia, individualizar la dosis de gonadotropinas de acuerdo con la reserva ovárica tendría un efecto favorable sobre el índice de nacidos vivos y el costo del tratamiento. De todos modos, es necesario validar el algoritmo en diferentes poblaciones de pacientes y efectuar estudios aleatorizados que permitan confirmar los resultados en una población más numerosa de pacientes.

Copyright © Sociedad Iberoamericana de Información Científica (SIIC), 2017
www.siicsalud.com

Acceda a este artículo en siicsalud



Código Respuesta Rápida
(Quick Response Code, QR)

Datos adicionales de los autores, palabras clave, patrocinio, conflictos de interés, especialidades médicas, autoevaluación.

www.siicsalud.com/dato/resiic.php/153366

Desarrollo de Métodos Analíticos y su Impacto en la Evaluación de las Gonadotrofinas Recombinantes

Resumen objetivo elaborado
por el Comité de Redacción Científica de SIIC sobre la base del artículo
**Continued Improvements in the Quality and Consistency of Follitropin Alfa,
Recombinant Human FSH**

de

Bassett R, Driebergen R

integrantes de

Serono International SA, Ginebra, Suiza; y otros centros participantes

El artículo original, compuesto por 9 páginas, fue editado por

Reproductive BioMedicine Online

10(2):169-177, Feb 2005



Durante las últimas décadas, se observaron grandes avances en las formulaciones farmacéuticas de las gonadotrofinas. En el presente trabajo, se evalúan las distintas formas de FSH recombinante humana, haciendo hincapié en los beneficios que aportan los nuevos métodos analíticos.

Introducción

En la década de 1930 comenzaron a utilizarse las gonadotrofinas para el tratamiento de la infertilidad, asociadas con el descubrimiento de la hormona foliculoestimulante (FSH) y la hormona luteinizante (LH), así como con nuevos trabajos realizados sobre el eje hipotálamo-ovárico. Tanto el suero de yeguas preñadas como la hipófisis de seres humanos *post mortem* fueron las primeras fuentes de estas hormonas. Sin embargo, su uso cesó como consecuencia de preocupaciones sobre la seguridad de estos preparados. Posteriormente, comenzaron a utilizarse gonadotrofinas derivadas de la orina, las cuales demostraron ser eficaces para la estimulación ovárica y bien toleradas. En la década de 1990 surgieron las gonadotrofinas recombinantes, las cuáles son consideradas hoy como el método de referencia.

En el transcurso de los últimos 40 años, los avances tecnológicos se asociaron con mejoras en la actividad específica, la pureza, la degradación y el contenido de impurezas de estos agentes. La gonadotrofina menopáusica humana (hMG) fue la primer gonadotrofina urinaria, la cual, además de contener FSH y actividad LH, presentaba una mezcla de diversas proteínas. Las mejoras tecnológicas llevaron a la producción de FSH urinaria altamente purificada (u-FSH-HP) y FSH recombinante humana (rhFSH), las cuales presentan mayor pureza y especificidad que la u-FSH.

En lo que respecta a la LH, recientemente surgió una preparación exclusivamente de LH recombinante humana (rhLH), la cual permite a los médicos no sólo tener un mejor control del tratamiento del ciclo, sino también cerciorarse que la administración exógena de LH se realice sólo en las pacientes que la necesitan, como aquellas con hipogonadismo hipogonadotrófico o con mayor edad reproductiva.

Actualmente, tanto en los preparados urinarios como en los recombinantes el contenido de gonadotrofinas se evalúa mediante bioensayos *in vivo* en animales. Sin embargo, se encuen-

tran disponibles métodos fisicoquímicos más precisos para evaluar las gonadotrofinas, producto de las mejoras analíticas recientes.

Brindar una perspectiva histórica del desarrollo de las gonadotrofinas, evaluar el impacto de la falta de evaluación del contenido de rhFSH en preparados comerciales, así como comparar la consistencia analítica de la folitropina alfa *filled by mass* (FbM) con la folitropina beta, otra presentación de la rhFSH disponible en el mercado, fueron los principales objetivos del presente trabajo.

Perspectiva histórica

Durante los últimos 40 años se observaron muchos avances en lo que respecta a la fabricación de las gonadotrofinas. En 1962 comenzó a comercializarse la primera gonadotrofina derivada de la orina, la hMG, la cual contenía un relación fija 1:1 de FSH y LH. A pesar de lo mencionado, la concentración de gonadotrofinas era muy baja, ya que variaba entre 2% y 5%. En 1983 surgió otro producto derivado de la orina, la u-FSH, en la cual se registró una pureza de aproximadamente el 5%. Ya en 1993 se consiguió aumentar la pureza a aproximadamente el 95%, con la aparición de la u-FSH-HP.

En 1995 salió al mercado la primera rhFSH, denominada folitropina alfa, la cual fue seguida por la folitropina beta. El contenido de FSH en estas preparaciones recombinantes se evalúa en bioensayos *in vivo* en ratas. Más aún, las pruebas en animales se encuentran desaconsejadas cuando existen soluciones alternativas. La información sobre los lotes de rhFSH fabricados entre 1999 y 2003, así como de los lotes de folitropina alfa FbM producidos en 2003, se encuentra en el presente artículo.

Materiales y métodos

En el presente trabajo se evaluaron analíticamente los lotes fabricados entre 1997 y 2004 de rhFSH, folitropina alfa, y foli-

tropina alfa FbM 75 UI, producidos entre 2003 y 2004. También se utilizaron 10 lotes de otra preparación de rhFSH, la folitropina beta, para realizar estudios comparativos. Por un lado, se efectuó una cromatografía líquida de exclusión de tamaño de alta eficacia (*size-exclusion high-performance liquid chromatography*; SE-HPLC) para evaluar el contenido de proteína rhFSH. También se evaluó la actividad biológica de la rhFSH mediante bioensayos *in vivo* en ratas hembra de 21 días de edad. Con el objetivo de determinar la distribución del patrón de isoformas se utilizó la técnica de electroisofoco (EIE), y para evaluar el grado de sialilación de la rhFSH se realizó un mapeo de glucanos. Por otro lado, se efectuó una HPLC inversa (RP-HPLC) para evaluar las formas oxidadas de rhFSH alfa. Por último, se utilizó una electroforesis en gel de dodecilsulfato de poliácridamida (SDS-PAGE) para evaluar el contenido de subunidades disociadas y la misma técnica permitió evaluar el contenido de agregados.

Resultados

FSH recombinante humana, folitropina alfa, principio activo

Se utilizó la técnica de SE-HPLC para determinar el contenido de proteínas y se realizaron bioensayos para establecer la actividad biológica. La relación entre ambos definió la actividad específica. Al analizar esta información, se observa que la actividad específica de la folitropina alfa presenta una distribución normal y que es estable a lo largo de varios años desde su manufactura. La actividad específica fue de 13 645 UI/mg durante el período de 7 años, con una variabilidad del 8.5% y un promedio de masa de proteínas de 5.50 μ g.

El EIE de la rhFSH demostró 7 bandas con valores de pl entre 4.20 y 5.05. También se observaron 5 bandas menores con valores entre 5.25 y 6.30 pl, y una banda menor con un pl de 4.1. Es decir, una consistencia en la distribución de las isoformas a lo largo de los 4 años de producción.

El mapeo de glucanos demostró que los glucanos disialilados fueron los más frecuentes (promedio 49.5 ± 1.3), seguidos por los monosialilados (promedio 24.1 ± 2.1), trisialilados (16.0 ± 1.8), y tetrasialilados (promedio 4.7 ± 1.3). Los glucanos neutros fueron 5.7 ± 1.4 del total.

En 173 lotes, fabricados entre 2000 y 2003, se evaluó la degradación de la rhFSH folitropina alfa mediante la evaluación de las cantidades relativas de subunidades alfa oxidadas, de subunidades libres disociadas y de agregados. El análisis demostró que los lotes contenían un promedio de 1.6% subunidades alfa oxidadas, menos del 3% de subunidades disociadas y menos del 1% de agregados. Esto significa que la molécula presentó altos grados de pureza y bajos niveles de rhFSH degradada.

Folitropina alfa FbM, 75UI

Mediante la técnica de SE-HPLC se demostró que el promedio de proteínas, en los 30 lotes evaluados de folitropina alfa FbM, fue de 6.1 μ g por vial, mientras que la variabilidad entre los lotes fue del 1.6%.

Con el objetivo de determinar la degradación de la folitropina alfa FbM, se evaluaron las cantidades relativas de subunidades alfa oxidadas, subunidades libres disociadas y agregados, con lo que se observaron valores del 1.7%, menos del 5% y menos del 2%, respectivamente. Se evaluó un total de 9 lotes para determinar el patrón de isoformas y la cuantificación relativa de folitropina alfa FbM. Los resultados demostraron una elevada consistencia del patrón de isoformas.

Folitropina beta, solución para inyección

Para evaluar la calidad relativa y la consistencia de la producción, se evaluaron 10 lotes de folitropina beta, otra preparación

comercial de rhFSH. La evaluación del nivel de degradación de la rhFSH en la solución de folitropina beta demostró que el porcentaje de subunidades alfa oxidadas fue de entre el 3.5% y el 5.3%, mientras que el nivel de subunidades disociadas fue menor del 3%.

Por otro lado, la actividad específica varió entre 7230 y 10 392 UI/mg, con un promedio de actividad específica de 9396 UI/mg; esto resulta en una actividad más variable y con menor bioactividad que la folitropina alfa FbM.

En el mapeo de glucanos se observó un patrón similar al registrado con la folitropina alfa. Los glucanos disialilados fueron los más frecuentes ($45.1\% \pm 0.8\%$), seguidos por los monosialilados, los trisialilados y los tetrasialilados. Los glucanos neutros fueron del $4.6\% \pm 0.8\%$.

Al evaluar el patrón de isoformas mediante EIE, se observó variabilidad individual entre los distintos lotes de folitropina beta. También se verificó un perfil menos consistente de isoformas básicas.

Discusión y conclusiones

En el presente trabajo se evaluó la consistencia fisicoquímica del proceso de fabricación de rhFSH durante un período de 7 años. La observación de una actividad específica consistente permitió la evaluación del contenido de rhFSH mediante el método de SE-HPLC. Por lo mencionado, se puede plantear que existen técnicas fisicoquímicas alternativas para evaluar el contenido de rhFSH; sin embargo, la aproximación analítica no se utiliza para evaluar el contenido de rhFSH en la forma farmacéutica final, sino que se evalúa mediante bioensayos en ratas.

Contrariamente a lo observado en las preparaciones de gonadotropinas derivadas de orina, el presente estudio demostró la elevada pureza de la rhFSH. En este contexto, existen diversos estudios que evaluaron las repercusiones clínicas de las mejoras fisicoquímicas asociadas con la folitropina alfa FbM. En ellos, se demostró que esta formulación mejora la consistencia de la estimulación ovárica, así como el control del desarrollo folicular, la calidad de los embriones y la implantación.

Los autores concluyen que el proceso de fabricación de la rhFSH para la folitropina alfa FbM ha resultado en una preparación de FSH pura, con bajas formas degradadas y con un perfil de isoformas consistente. Los investigadores también mencionan que la introducción de la evaluación mediante SE-HPLC permite medir el contenido de rhFSH en la folitropina alfa FbM, sin la necesidad de bioensayos *in vivo* en ratas. Por último, plantean que la evaluación analítica de las formas farmacéuticas comercialmente disponibles de rhFSH demostró que la folitropina FbM es la más consistente de las rhFSH, en lo que respecta al contenido de proteínas.

Copyright © Sociedad Iberoamericana de Información Científica (SIIC), 2017
www.siicsalud.com

Acceda a este artículo en siicsalud



Código Respuesta Rápida
(Quick Response Code, QR)

Datos adicionales de los autores, palabras clave, patrocinio, conflictos de interés, especialidades médicas, autoevaluación.
www.siicsalud.com/dato/resiic.php/153362

Normas para los Laboratorios de Fertilización *In Vitro*

Resumen objetivo elaborado
por el Comité de Redacción Científica de SIIC sobre la base del artículo
Revised Guidelines for Good Practice in IVF Laboratories (2015)

de
de los Santos M

integrante de
European Society of Human Reproduction and Embryology, Bélgica; y otros centros participantes

El artículo original, compuesto por 12 páginas, fue editado por
ESHRE Pocket Guideline
2015



Se presentan las normas revisadas para la práctica adecuada de los laboratorios de fertilización *in vitro* de 2015, que representan una versión actualizada de las publicadas en 2008.

Introducción

Se presentan las normas revisadas para la práctica adecuada de los laboratorios de fertilización *in vitro* (FIV) de 2015, que fueron elaboradas por un grupo de 10 embriólogos pertenecientes a la *European Society of Human Reproduction and Embryology* (ESHRE), representantes de diferentes países europeos, ámbitos y niveles de experiencia. El objetivo de las normas fue tratar los aspectos clave de los laboratorios de FIV, para brindar apoyo continuo a los especialistas que trabajan en ellos y, en consecuencia, contribuir con la mejora en la atención de los pacientes. Se trataron aspectos tales como el personal y la dirección de los laboratorios, la calidad de los procedimientos, la seguridad del laboratorio, la identificación de los pacientes, la trazabilidad de las células reproductivas, los consumibles, la manipulación de los materiales biológicos, la recolección de los ovocitos, la preparación del espermatozoides, la inseminación de los ovocitos, la clasificación de la fertilización, el cultivo y la transferencia de los embriones, la criopreservación, el plan de emergencia y la metodología.

Personal y dirección de los laboratorios de FIV

El personal es uno de los componentes más importantes del laboratorio de FIV y su número refleja el número de ciclos realizados por año. Como orientación aproximada, los centros que realizan hasta 150 recolecciones de ovocitos y ciclos de criopreservación por año, deben tener un mínimo de 2 embriólogos clínicos calificados. Este número inicial puede aumentar dependiendo del número de tratamientos, la complejidad de los procedimientos, las técnicas y las tareas llevadas a cabo en cada laboratorio. También, deben considerarse otras áreas como la administración, el entrenamiento, la educación, el control de calidad y la comunicación. La organización jerárquica depende de la cantidad de personal. Los centros más grandes pueden delegar las responsabilidades a diferentes niveles (supervisores, embriólogos clínicos, técnicos de laboratorio y personal administrativo). En cuanto a la dirección, debe ser ejercida por un profesional con calificaciones reconocidas y experiencia en la embriología clínica

y las ciencias médicas o biológicas, con un mínimo de 6 años de experiencia documentada en el campo de la embriología humana y, preferentemente, con certificación de la ESHRE. Los embriólogos clínicos representan la primera línea de participación en la práctica clínica diaria. Los embriólogos clínicos con 3 años de experiencia pueden aspirar a la obtención de la certificación de embriólogo clínico de la ESHRE, mientras que aquellos con mayores calificaciones académicas y 6 años de experiencia pueden aplicar para la certificación de embriólogo clínico principal.

Control de calidad

Según las directrices y recomendaciones europeas, es obligatorio adherir a un sistema de control de calidad. Los requerimientos abarcan la organización, la gestión, el personal, el equipamiento y los materiales, las instalaciones, la documentación, los registros y la revisión de calidad.

Seguridad del laboratorio

Los laboratorios de FIV deben tener funcionalidades adecuadas para minimizar cualquier efecto perjudicial sobre las células reproductivas y asegurar una práctica apropiada. Los laboratorios deben estar adyacentes al quirófano donde se realizan los procedimientos. Es necesario optimizar las condiciones ambientales, asegurando una buena calidad del aire que debe estar sujeto al control de los componentes orgánicos volátiles que son tóxicos para el embrión, y la implementación de filtros de aire particulado de alta eficiencia (HEPA, por su sigla en inglés). Se recomienda la presión positiva para minimizar la contaminación del aire. Los procedimientos que involucran la manipulación de gametos o embriones deben ser realizados en un ambiente controlado. Según las directivas de la Unión Europea, el procesamiento de células y tejidos debe ser realizado en un ambiente de grado A según la *Good Manufacturing Practice*, con un trasfondo de por lo menos un grado D. El laboratorio debe contar con el equipamiento apropiado, con todos los componentes esenciales requeridos para FIV. Las instalaciones para criopreservación de-

ben localizarse de modo racional y seguro fuera, pero cerca del laboratorio, y con acceso visible al interior. La ventilación debe ser adecuada y es necesaria la instalación de alarmas que detecten la disminución de oxígeno. Las unidades de criomacernamiento deben ser monitorizadas continuamente y equipadas con sistemas de alarma que detecten cada cambio en el rango de temperatura o en los niveles de nitrógeno líquido. Durante la manipulación del material, el personal debe utilizar dispositivos de protección. Todas las técnicas de reproducción asistida (TRA) comprenden la manipulación de material biológico y conllevan un riesgo potencial de transmisión de enfermedades al personal o al material biológico de otros pacientes (contaminación cruzada), por lo que deben establecerse los procedimientos de seguridad personal y para evitar la contaminación cruzada según las regulaciones de seguridad nacionales y europeas. Todos los líquidos corporales, como sangre, líquido folicular o semen deben ser tratados como potencialmente contaminados y proveer las medidas de protección apropiadas para el personal de laboratorio para asegurar las condiciones asépticas para los tejidos, los gametos y los embriones.

Identificación de pacientes y trazabilidad de sus células reproductivas

Este paso es fundamental en los TRA y cada laboratorio de FIV debe tener un sistema preciso y eficaz para identificar inequívocamente, rastrear y localizar las células reproductivas durante cada procedimiento.

Consumibles

Las especificaciones de los materiales y reactivos deben seguir las regulaciones nacionales y europeas.

Manipulación de los materiales biológicos

La manipulación de los materiales biológicos debe ser fácil, simple y eficaz y debe realizarse preferentemente en cabinas de flujo laminar, con técnicas asépticas en todas las etapas. Deben tomarse las medidas necesarias para asegurar que los ovocitos y embriones sean mantenidos con una temperatura, pH y osmolaridad apropiadas durante el cultivo y la manipulación. La exposición a la luz, las sustancias tóxicas o la radiación perjudicial debe minimizarse. La trazabilidad debe confirmarse en todas las oportunidades.

Recolección de los ovocitos

La recolección de los ovocitos es un procedimiento especialmente sensible y debe prestarse especial atención a la temperatura y el pH, y a la manipulación rápida y eficiente. El tiempo entre la recolección de los ovocitos y el cultivo de los ovocitos lavados debe ser mínimo. No se recomienda la exposición prolongada de los ovocitos al líquido folicular. Debe utilizarse equipamiento adecuado para mantenerlos con una temperatura cercana a los 37°C. Deben controlarse los aspirados foliculares para detectar la presencia de ovocitos y debe minimizarse la exposición a la luz.

Preparación del espermatozoides

Antes de realizar un ciclo de TRA, se requiere por lo menos un análisis del semen según los protocolos descritos por la Organización Mundial de la Salud. La preparación del espermatozoides se recomienda para proponer la técnica más adecuada de inseminación. Los objetivos de la preparación del espermatozoides comprenden: la eliminación de plasma, detritos y contaminantes seminales, la concentración de los espermatozoides con motilidad progresiva y no seleccionar a los espermatozoides morfológicamente anormales.

Inseminación de los ovocitos

Los ovocitos pueden ser inseminados por FIV convencional o por inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI).

Clasificación de la fertilización

Todos los ovocitos inseminados con FIV convencional o sometidos a ICSI deben examinarse para detectar la presencia de pronúcleos y cuerpos polares a las 16 a 18 horas siguientes a los procedimientos. Los embriones transferibles son aquellos derivados de ovocitos con 2 pronúcleos.

Cultivo de los embriones y transferencia

Para optimizar el desarrollo embrionario, deben minimizarse las fluctuaciones de las condiciones de cultivo; especialmente, deben mantenerse condiciones adecuadas de pH y temperatura para proteger la homeostasis de los embriones durante el cultivo y la manipulación.

Criopreservación

La criopreservación es posible para los gametos, los embriones y los tejidos. Pueden utilizarse diferentes estrategias de criopreservación como el congelamiento lento y la vitrificación, según el tipo de material biológico. Para el semen, el método de elección es el congelamiento lento, mientras que para los ovocitos es la vitrificación. Para los embriones en estadio de división o blastocistos se informaron altas tasas de éxito con la vitrificación, aunque para los primeros o los embriones pronucleares se obtienen también buenos resultados con los métodos de congelamiento lento. Para los tejidos, el método de elección es el congelamiento lento, pero una opción es la vitrificación del tejido ovárico.

Plan de emergencia

Como parte del plan de emergencia general de las clínicas, todos los laboratorios de FIV deben elaborar e implementar procedimientos específicos en el caso de un fallo excepcional de infraestructura e instalaciones de origen natural o humano. Los planes de emergencia describen las acciones necesarias (en orden de importancia) para la seguridad del personal y los pacientes, la protección de los materiales humanos frescos y criopreservados y la limitación del daño al equipamiento y los registros médicos.

Conclusión

El comité directivo del grupo de interés especial de embriología de la ESHRE estableció la necesidad de actualizar las normas revisadas para la práctica adecuada en los laboratorios de FIV publicadas en 2008. Luego de la aprobación del Comité Ejecutivo de la ESHRE, se designó a un grupo para la elaboración de la guía. Dado que la información disponible para los temas tratados es escasa, no se efectuó ninguna evaluación formal de la evidencia científica. Se tuvieron en cuenta las recomendaciones del EUTCD y documentos recientes, así como manuales y consensos.

Copyright © Sociedad Iberoamericana de Información Científica (SIIC), 2017
www.siicalud.com

Acceda a este artículo en siicalud	
	Código Respuesta Rápida <i>(Quick Response Code, QR)</i>
	Datos adicionales de los autores, palabras clave, patrocinio, conflictos de interés, especialidades médicas, autoevaluación. www.siicalud.com/dato/resiic.php/153475

Comparación de la Efectividad y la Pureza de las Gonadotrofinas Generadas mediante Diversos Procesos de Manufactura

Resumen objetivo elaborado
por el Comité de Redacción Científica de SIIIC sobre la base del artículo
Gonadotrophins – Filled-by-Mass versus Filled-by-Bioassay

de
Hugues J-N, Durnerin IC

integrantes de
Hôpital Jean-Verdier, Bondy, Francia

El artículo original, compuesto por 6 páginas, fue editado por
Reproductive BioMedicine Online
10(2):185-190, Mar 2005



Las tecnologías de reproducción asistida experimentaron grandes avances en el transcurso de los últimos años. En este contexto, el proceso de producción de gonadotrofinas fue evolucionando de manera acelerada. El presente estudio comparó los lotes de gonadotrofinas evaluados mediante bioensayos frente a los producidos mediante técnicas de llenado por peso.

Introducción

Conseguir embarazos mediante procedimientos seguros y en un período limitado, es el principal objetivo de la estimulación ovárica. Tanto los ciclos de estimulación como la edad de la mujer, el tipo de infertilidad y el protocolo utilizado impactan en el número de ovocitos recuperados, y se asocian con tasas de nacimientos menores que las esperadas en las tecnologías de reproducción asistida. También es importante considerar el impacto en la estimulación ovárica vinculado con el tipo de preparación de gonadotrofina utilizada.

Con el objetivo de mejorar la congruencia de la respuesta ovárica y reducir el riesgo de cancelación de ciclos, hoy es posible utilizar preparaciones de gonadotrofinas rigurosamente reproducibles (folitropina alfa llenada por peso [FbM; *filled by mass*]), con el fin de conseguir un manejo más eficiente de los ciclos, aumentar la efectividad y disminuir el riesgo de eventos adversos.

Proceso de manufactura y nuevas preparaciones de hormona foliculoestimulante

La identificación de la relación entre la estructura y la función de las moléculas de gonadotrofinas, en búsqueda de formular preparaciones adecuadas de hormona foliculoestimulante (FSH), fue intensa durante los últimos 20 años. Los intentos constantes de disminuir los riesgos asociados con las preparaciones de gonadotrofinas y mejorar la seguridad y la eficacia, llevó al desarrollo de nuevos productos elaborados mediante tecnologías recombinantes. Por ejemplo, el paso de fuentes hipofisarias a urinarias y, finalmente, a recombinantes de FSH, llevó a mejoras en la pureza de las preparaciones y en la eficacia, y disminuyó la incidencia de efectos adversos.

En el proceso de producción de gonadotrofinas recombinantes, los genes que codifican las subunidades alfa y beta de FSH en los seres humanos son transfectadas por medio de la expresión de un plásmido en células mamarias. Posteriormente, se realizan procesos de purificación mediante cromatografía y ultrafiltrado. El paso final en la producción de FSH recombinante es la calibración del producto final para su uso clínico. Hasta hace poco tiempo, este último se realizaba mediante bioensayos, en los cuales se administraban 75 UI de FSH por 3 días a ratas, luego estos animales se sacrificaban y se medía el peso de sus ovarios. Este proceso presenta una elevada variabilidad y depende de los animales utilizados y de las habilidades de los técnicos. Así, el contenido de FSH en cada ampolla se calibra como de 75 UI pero puede variar entre 60 y 94 UI.

Un inconveniente de los bioensayos es la falta de congruencia entre los lotes. Por ejemplo, el análisis bioquímico y biológico de diferentes lotes de gonadotrofinas menopáusicas humanas (HMG) puede variar ampliamente, lo que impacta negativamente en los resultados clínicos.

Con el objetivo de mejorar la actividad específica y asegurar un perfil de isoformas de folitropina alfa congruente, en el año 2000 se incorporó un nuevo método para la calibración del producto final: el proceso de FbM. En un total de 309 lotes, fabricados entre 1997 y 2003 se evaluó la actividad específica promedio, la cual fue de 13 645 UI/mg, con una variabilidad del 8.5%. La presencia o la ausencia de ácido siálico en los residuos glucosilados son las responsables de las diferentes isoformas de la molécula. Mediante separación cromatográfica es posible identificar diferentes isoformas de preparaciones de FSH recombinante, la cual cumple un papel crítico en la bioactividad de éstas.

Al evaluar el perfil de isoformas en diferentes lotes de folitropina alfa FbM, se observó una elevada congruencia. La variabilidad del contenido de proteínas de la folitropina alfa FbM en más de 30 lotes fue de $\pm 1.6\%$, lo que es significativamente menor que la variabilidad de $\pm 12\%$ en las evaluaciones de FSH recombinante mediante bioensayos. Mediante este proceso de manufactura, la folitropina alfa presenta un perfil muy congruente y bien definido de isoformas. Este nuevo método recientemente descrito ofrece la posibilidad de dispensar de los bioensayos, los cuales representaban el estándar europeo.

Impacto clínico del proceso de FbM

El proceso de FbM representa una nueva forma de calibración que permite mejorar la consistencia de la respuesta ovárica, según demostraron diversos estudios que evaluaron el impacto clínico de esta formulación. Por un lado, Hugues y colaboradores, con el objetivo de confirmar la relevancia clínica del perfil de isoformas, evaluaron la efectividad y seguridad de la administración de esta nueva formulación de FSH. Comparar la congruencia de la respuesta ovárica al administrar FSH FbM o por bioensayos fue el principal criterio de valoración del trabajo. El diseño del estudio fue prospectivo y a doble ciego, y se utilizó un protocolo usual de un agonista de hormona liberadora de gonadotropina (GnRH). La cohorte se conformó por mujeres de menos de 38 años de edad, con función ovárica normal, a las cuales se les administró FbM ($n = 66$) o llenado por bioensayo ([FbIU; *filled by bioessay*]) ($n = 65$). Para lograr la maduración final del ovocito se administró una dosis de 10 000 UI de HCG urinaria (u-HCG) y luego se procedió a la recuperación. El estudio demostró que ambas preparaciones produjeron una estimulación ovárica significativa, se generó un número elevado de folículos de tamaño grande y mediano, y las concentraciones plasmáticas de estradiol fueron similares al administrar la HCG. En lo que respecta al criterio de valoración primario, se observó que la formulación FbM aportó un efecto terapéutico más congruente al compararlo con la formulación de FbIU. También en el análisis estadístico de la congruencia de los lotes, en la mayoría de los parámetros la folitropina alfa FbM fue más congruente que la FbIU. En lo que respecta a las tasas de embarazos clínicos, la folitropina alfa FbM presentó una congruencia estadísticamente superior que la FbIU. Por lo mencionado, puede concluirse que si bien la eficacia global es comparable, la congruencia en la respuesta ovárica es superior cuando se utilizan lotes de FbM.

Así, por lo mencionado, el número de ovocitos y embriones es un fuerte predictor del embarazo y la congruencia de la respues-

ta al tratamiento es fundamental. En la práctica clínica, la mayor ventaja de las formulaciones de FbM se asocia con la muy baja variabilidad en el contenido de FSH entre los lotes, ya que permite un ajuste más eficaz de las dosis. Por otro lado, la reducción en la necesidad de ajuste de dosis y en el riesgo de cancelación por hiporrespuesta o hiperrespuesta, son beneficios adicionales asociados con la administración de dosis óptimas.

En mujeres que reciben tratamiento por anovulación crónica, la FbM presenta ventajas aún mayores, ya que la dosis de inicio de FSH debe ser precisa, con el objetivo de evitar el desarrollo multifolicular y los embarazos múltiples. En este contexto, se plantea que los problemas en la inducción de la ovulación son los principales responsables de los embarazos gemelares o triples en protocolos de estimulación ovárica.

Es posible un mejor ajuste de la dosis de inicio mediante las formulaciones FbM, según planteó el presente trabajo. Esta situación se asocia con diversas ventajas, como la menor necesidad de ajuste de dosis, la disminución en la duración del tratamiento y en las dosis de FSH y un menor riesgo de cancelación o hiperestimulación.

Conclusión

Los autores concluyen que los procesos de producción mediante tecnologías de ADN recombinante aseguran la producción de una folitropina alfa altamente purificada y congruente. También mencionan que la nueva calibración mediante el proceso de FbM garantiza que la dosis de FSH pueda ser independiente de los bioensayos. Por último, en la práctica clínica, el uso de folitropina alfa FbM ofrece una dosis más precisa y una respuesta ovárica más congruente.

Copyright © Sociedad Iberoamericana de Información Científica (SIIC), 2017
www.siicsalud.com

Acceda a este artículo en siicsalud



Código Respuesta Rápida
(Quick Response Code, QR)

Datos adicionales de los autores, palabras clave, patrocinio, conflictos de interés, especialidades médicas, autoevaluación.
www.siicsalud.com/dato/resic.php/153471



Sociedad Iberoamericana de
Información Científica (SIIC)

Rosa María Hermitte
Directora PEMC-SIIC

SIIC, Consejo de Dirección:
Edificio Calmer, Avda. Belgrano
430 (C1092AAR),
Buenos Aires, Argentina
Tel.: +54 11 4342 4901
comunicaciones@siicsalud.com
www.siic.info

Los textos de Artículos Destacados (AD) fueron seleccionados de la base de datos SIIC Data Bases.

Los artículos de AD fueron resumidos objetivamente por el Comité de Redacción Científica de SIIC. El contenido de AD es responsabilidad de los autores que escribieron los textos originales. Los médicos redactores no emiten opiniones o comentarios sobre los artículos que escriben. Prohibida la reproducción total o parcial por cualquier medio o soporte editorial sin previa autorización expresa de SIIC. Impreso en la República Argentina, febrero de 2017. Colección Artículos Destacados (AD), Registro Nacional de la Propiedad Intelectual en trámite. Hecho el depósito que establece la Ley N° 11723.