



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

**THE AMERICAN BRITISH COWDRAY MEDICAL CENTER, I.A.P.
DEPARTAMENTO DE GINECOLOGIA Y OBSTETRICIA**

***"Frecuencia de Marcadores Genéticos para
Trombofilia en Mujeres con Fertilización in Vitro
Fallidos"***

TESIS DE POSGRADO
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN:

GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA

T

PRESENTA:

DR. ROLANDO ALVAREZ VALERO



PROFESOR TITULAR DEL CURSO:
DR. HECTOR HUGO BUSTOS LOPEZ
PROFESOR ADJUNTO:
DR. GABRIEL ROJAS POCEROS
ASESOR DE TESIS:
DR. CARLOS NAVARRO MARTINEZ
DR. PEDRO ALBERTO VALERO ORIGEL

México, DF.

OCTUBRE DEL 2006



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

THE AMERICAN BRITISH COWDRAY MEDICAL CENTER, I.A.P.

JEFE DE LA DIVISION DE ENSEÑANZA E INVESTIGACION:

DR. JOSE JAVIER ELIZALDE GONZALEZ

PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE ESPECIALIZACION EN GINECOLOGIA Y OBSTETRICIA:

DR. HECTOR HUGO BUSTOS LOPEZ

PROFESOR ADJUNTO DEL CURSO DE ESPECIALIZACION EN GINECOLOGIA Y OBSTETRICIA:

DR. GABRIEL ROJAS POCEROS

JEFE DEL DEPARTAMENTO DE GINECOLOGIA Y OBSTETRICIA;

DR. ROBERTO ALMANZA MARQUEZ

DIRECTOR DE TESIS:

DR. CARLOS NAVARRO MARTINEZ

DR. PEDRO ALBERTO VALERO ORIGEL

CON AGRADECIMIENTO INFINITO A:

DIOS

MIS PADRES

MIS HERMANOS

LOS ABUELOS

MI FAMILIA

PROFESORES

AMIGOS Y COLEGAS

LAS PERSONAS QUE SIN CONOCER ME HAN AYUDADO

DEDICATORIA

A MI PAIS,

A SU GENTE,

POR SU FUTURO

Y

POR BRINDARLES LO QUE HE RECIBIDO.

ÍNDICE

	Página
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	4
III. ANTECEDENTES	20
IV. JUSTIFICACIÓN	21
V. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	21
VI. HIPOTESIS ALTERNA	22
VII. OBJETIVOS	22
VIII. MATERIAL Y MÉTODOS	22
IX. RESULTADOS	24
X. DISCUSIÓN	25
XI. CONCLUSIONES	27
XII. TABLAS Y GRÁFICOS.	28
XIII. REFERENCIAS	30
XIV. ANEXOS	33

RESUMEN

La Fertilización in Vitro es uno de los últimos pasos tecnológicos en la medicina reproductiva. Posteriormente y después de varios intentos fallidos, se inicia el estudio tardío de etiología accesorias que pueden influir de forma adversa en el éxito de estas técnicas. Lo anterior implica gastos excesivos, frustración y disminución en la posibilidad de éxito conforme para el tiempo. Posterior a la relación causa-efecto precisa, realizada en torno a la participación de los anticuerpos antifosfolípidos en la implantación y desarrollo placentario, se inicio el estudio de las trombofilias, hasta llegar al análisis de las mutaciones precisas que predisponen a estas patologías.

OBJETIVO. Describir la frecuencia y relaciones de los marcadores genéticos para trombofilias en un grupo de pacientes con Fecundación in Vitro fallida.

MATERIAL Y METODOS: Se estudiaron un grupo de 20 mujeres con diagnóstico de infertilidad, sometidas a Fertilización in Vitro en las cuales el tratamiento propuesto no tuvo éxito y se les realizó un análisis genético para determinar la presencia de marcadores genéticos para trombofilias heredadas. Se utilizaron variables numéricas y categóricas, las cuales se resumieron como mediana e intervalos intercuantiles, así como, frecuencias y porcentajes.

RESULTADOS: De las pacientes estudiadas la media de edad fue de 34 años [32-37] y fueron sometidas a 2 FIV [1-4]. El 40% del grupo presentó factor masculino alterado y en un 10-20% alteración de factores tubario, uterino, ovárico y peritoneal. El 95% de las pacientes presentaron marcadores genéticos para trombofilias heredadas y en un 85% presentaron dos o más mutaciones. La mutación más frecuente en nuestra población fue la de hiperhomocisteinemia en un 90%, seguida de PAI-1 en un 80%. Las mutaciones fueron predominantemente heterocigotas en un 70-75% y homocigotas el restante.

DISCUSION: Acorde a la literatura, la relación entre marcadores genéticos para trombofilia y Fecundación in Vitro fallido varían entre el 20 y 68%. Los valores obtenidos en nuestros resultados no pueden ser extrapolados a la población general, debido a la limitante principal de este estudio que es la n. La relación causal es suficiente para establecer medidas diagnósticas y terapéuticas de forma temprana en este grupo de pacientes.

CONCLUSIONES: Estudios prospectivos, randomizados, con una n mayor y controlados deben ser diseñados para determinar con precisión la participación de cada mutación en el fallo del tratamiento con FIV, así como, establecer las medidas terapéuticas precisas.

I. INTRODUCCIÓN.

Lograr un embarazo en la edad reproductiva puede parecer un evento lógico y esperado, pero no lograrlo ha sido un serio obstáculo para la felicidad de miles de seres humanos en el transcurso de la historia de la humanidad. El deseo de tener un hijo y trascender en la especie forma parte de nuestros valores fundamentales, y no verlo realizado puede provocar serios conflictos internos en el ánimo de la pareja.

En un año, de cada cien parejas que tienen relaciones sexuales dos o tres veces por semana, setenta y cinco, concebirán siempre y cuando no usen métodos anticonceptivos. Diez parejas más lograrán el embarazo el año siguiente, pero las otras quince presentarán un problema de fertilidad. A estas últimas es a las que, en la actualidad, se les pueden ofrecer recursos de alta tecnología como la Fertilización in Vitro (FIV), para lograr un embarazo (1).

Hoy en día, y con el avance de la medicina en este campo, hablamos de la pareja como una unidad con capacidad gestatoria. Por lo anterior, previo a recurrir a la alta tecnología, se realiza un extensivo estudio de la pareja y a técnicas reproductivas ascendentes en complejidad y costos.

La Fecundación in Vitro es una de las técnicas más complejas en medicina de la reproducción, que requiere de una infraestructura compleja, manejo multidisciplinario por sub-especialistas y es reservada al final de la escala de técnicas reproductivas ofrecidas a la pareja, previo a la adopción.

En el año de 1978 se logró el nacimiento de Louise Brown, concebida gracias a la técnica de la Fertilización in Vitro y la Transferencia de Pre-embiones (TPE); este hecho representó la culminación de años de intensa labor de investigación de los doctores Edwards y Steptoe en Inglaterra.

Este evento marcó el inicio de una etapa en el tratamiento de infertilidad, brindando la posibilidad de embarazo a las parejas que previamente solo observaban, sin solución, perdido su proyecto de familia.

El procedimiento de FIV-TPe consiste en:

- a) estimulación ovárica para inducir desarrollo folicular múltiple, ya que las tasas de embarazo son más altas con la transferencia de más de un pre-embrión

- b) en el momento apropiado, se lleva a cabo la captura (aspiración) de ovocitos maduros, ya sea por laparoscopia o por métodos que emplean visualización ultrasonográfica

- c) fertilización en el laboratorio de cultivo, coincubando ovocitos y espermatozoides durante un periodo de 12 a 48 horas

- d) después de 48 a 72 horas de la fertilización in Vitro, los pre-embiones son transferidos a la cavidad uterina por medio de un catéter a través del cervix, y la implantación del pre-embrión se inicia en los siguientes 2 a 3 días; la detección del embarazo será posible dentro de las 2 semanas que siguen a la transferencia.

Aunque la FIV y la TPe no representan más que la aplicación de técnicas sofisticadas a la medicina reproductiva, el hecho de que se encuentren relacionadas con un evento tan significativo y trascendental para la continuidad de la especie humana, esto es, la fertilización, ha despertado grandes inquietudes y cuestionamientos éticos para la humanidad. Lamentablemente, no todas estas interrogantes pueden ser resueltas de manera uniforme y satisfactoria, ya que dentro de las diversas sociedades existen marcadas diferencias en sus escalas de valores morales y conceptos éticos. En el consenso general, sin embargo, la FIV-TPe implica procedimientos técnicos aceptables y justificados para el tratamiento de ciertas formas de infertilidad, bajo criterios muy estrictos de inclusión y análisis detallado de la pareja a tratar (Valero, A.).

En la actualidad, la tasa de embarazos con empleo de estas técnicas oscila entre el 20-25% por ciclo de tratamiento, cifra que lleva a una tasa acumulativa de embarazo de aproximadamente 50-60% después de 4 intentos (1).

Con el empleo de estos procedimientos, la incidencia de anomalía congénita es mínima (2-3%) y similar a la presentada por la población general (1).

En promedio una tercera parte de las parejas (35%), que son sometidas a Fertilización in Vitro, logran embarazo. En las parejas restantes sucede una alteración durante la implantación o en las fases posteriores del embarazo, que les impedirán ciclos de FIV finalmente exitosos.

Acorde con la literatura, para incluir a una paciente dentro del grupo de FIV fallido, debió de someterse a cuatro o más ciclos de FIV. En nuestro medio debido a los costos prácticamente inalcanzables que tiene el acceso a alta tecnología y la edad cada vez mayor de las pacientes sometidas a estas técnicas, su estudio completo se indica con la primera falla a FIV, antecedentes de pérdida gestacional recurrente o pérdida tardía de embarazos previos (9).

Se han estudiado múltiples factores que influyen para obtener resultados adversos en FIV, entre estos se encuentran; edad, paridad, evolución de embarazos previos, alteraciones hormonales, número de folículos antrales previos a la estimulación ovárica, características-receptividad endometrial, calidad de los gametos, características del pre-embrión y técnicas de manipulación-transferencia de pre-embiones (2).

Recientemente se han asociado múltiples casos de FIV fallidos con la presencia de trombofilias heredadas y adquiridas. Entre estas las más estudiadas desde hace cuatro años son: mutación del Factor V Leiden, mutación de Metilentetrahidrofolato reductasa, mutación del gen de protrombina, deficiencia de antitrombina III, polimorfismo del Antígeno Plaquetario Humano I, mutación de Apolipoproteína B, deficiencia de Proteína C y S, como factores heredados. Entre los adquiridos encontramos al síndrome antifosfolípidos, anticoagulante Lúpico y Anticardiolipina (4).

La presencia o tendencia trombofílica, aparte de FIV fallida, se ha relacionado con aborto de repetición, pérdida tardía del embarazo, restricción del crecimiento intrauterino y preeclampsia. Múltiples teorías se han desarrollado para explicar la etiopatogenia del fenómeno, entre ellas, receptividad endometrial deficiente alterando los fenómenos de vascularización e invasión trofoblástica, así como, trombosis de los capilares deciduales indispensables para mantener la gestación.

A pesar de que la relación precisa aun no es del todo clara, el conocimiento causal de lo anterior; justifica la solicitud del panel ampliado para detección de trombofilias y el posterior manejo terapéutica en las pacientes con detección de factores de riesgo, sometidas a FIV (8).

II. MARCO TEÓRICO.

CONCEPTOS BASICOS

Fertilidad Humana y Reproducción Asistida

La humanidad ha intentado alterar su potencial reproductivo desde tiempos inmemorables. La investigación científica sobre la fisiología de la concepción data de los tiempos de Aristóteles.

La concepción de un Ser Humano es un fenómeno trascendental, que afecta los intereses de los padres, la comunidad, la religión y el estado.

La Fertilización in Vitro representa una faceta de la ciencia medica en la reproducción humana y abre las puertas de nuevas líneas de investigación científica. Esto genera muchas interrogantes éticas, las cuales, deben ser escrupulosamente analizadas por comités éticos bien conformados, para así, tomar decisiones clínicas prácticas y moralmente aceptables (6).

La fertilidad se define como la capacidad de una pareja de concebir en un periodo de 12 meses, por lo tanto, infertilidad es la capacidad disminuida de lograrlo. En contraste con la esterilidad, no es un estado irreversible. Si tomamos un grupo de parejas de entre 15-44 años, aproximadamente el 13%-15% serán reportadas como infértiles (1).

El potencial de fertilidad es medido por la capacidad de una pareja para lograr un embarazo en cada ciclo menstrual, o mejor dicho, fecundabilidad. En una pareja sana este es del 25%, si este embarazo llega a término y se obtiene un producto vivo, se llama, fecundidad.

La fecundabilidad en una pareja con capacidad fértil disminuida varía desde 0% a 15%. Este grupo de pacientes son las que eventualmente solicitaran atención por un medico especialista en reproducción.

Desafortunadamente, no todos los embarazos terminan con un producto vivo. Muchos de estos, se pierden rápidamente, después de la implantación. Los términos embarazo oculto y embarazo químico se utilizan con frecuencia para describir estas pérdidas tempranas. De todos los embarazos, no finaliza en promedio el 30%, incluyendo a los antes descritos (6).

Existen múltiples causas de infertilidad, las cuales, se pueden abreviar en seis grandes grupos:

Anormalidades en la producción de ovocitos maduros y sanos.

Transporte alterado del ovulo, esperma o producto de la concepción.

Anormalidades en el proceso implantatorio e interacción endometrial.

Alteraciones en la producción espermática.

Otras condiciones inmunológicas o sistémicas que alteran los anteriores.

Idiopáticas.

2. Fertilización in Vitro

El desarrollo de técnicas de reproducción asistida ha avanzado con el paso del tiempo, desde la mas antigua con la inseminación artificial heterologa, realizada de forma empírica a lo largo de la historia, pasando por la inseminación artificial homologa intrauterina hasta la fertilización in Vitro tradicional, transferencia intratubaria de gametos, transferencia intratubaria de cigotos, inseminación subzonal de espermatozoides, disección parcial de la zona precluida, la inyección espermática

intracitoplasmática, cultivo secuencial asistido, criopreservación o vitrificación de gametos y tejido germinal, de embriones y recientemente el diagnóstico genético preimplantación.

De las técnicas antes mencionadas y bajo el escrutinio de sus resultados, solo algunas de ellas son de práctica común en la actualidad. La Fertilización in Vitro es la sumatoria de técnicas que dan por resultado la obtención de un ovocito maduro y espermatozoides capacitados, que en el laboratorio de cultivo se genera un oviducto artificial en donde ocurrirá la fertilización y posteriormente el producto de la concepción es transferido a la cavidad endouterina.

Indicaciones

Al inicio, fue creada para resolver casos en donde la corrección de la patología de las salpinges, no era posible. Actualmente se ha expandido el horizonte terapéutico de la FIV, siendo sus indicaciones las siguientes:

-Enfermedad Tubaria.

Demostrada por histerosalpingografía (HSG).

Corroborada por Laparoscopia.

-Endometriosis

Antecedente de inseminación no exitosa.

Fracaso en el tratamiento.

-inseminación no exitosa

Al menos 4 intentos.

-Factor masculino

Oligozoospermia

Astenozoospermia

Teratozoospermia

Anticuerpos antiespermatozoide

-Esterilidad de causa no determinada sin respuesta a tratamiento previo e inseminación artificial.

Selección de pacientes

El resultado de este procedimiento, depende en gran medida, de que los pacientes incluidos cumplan una serie de análisis que les permitan ser candidatos a esta técnica.

Entre ellos encontramos:

Espermatobioscopia (OMS)

Espermocultivo

Detección de anticuerpos anti-espermatozoide

Perfil hormonal ginecológico completo

Ultrasonido pélvico

Histerosalpingografía

Pruebas serológicas para HIV, Chlamydia, Mycoplasma, Hepatitis, Toxoplasma, Rubéola y Sífilis.

Detección de enfermedades crónico-degenerativas

Estimulación ovárica controlada

Se han propuesto diferentes protocolos de inducción de ovulación, para lograr el crecimiento folicular múltiple y capturar un mayor número de ovocitos, que si fertilizan, darán lugar a un embrión.

La tasa de éxito se ha incrementado mediante el uso de fármacos destinados a este propósito. Entre los que encontramos al citrato de clomifeno, gonadotropinas y FSH recombinante principalmente.

Los esquemas actuales incluyen a los análogos agonista y antagonista de GnRH, para evitar los picos no deseados de LH y por consiguiente cancelar el menor número de ciclos posible.

La maduración de los folículos se realiza mediante la evaluación ultrasonográfica de su crecimiento hasta alcanzar 18mm de diámetro y evaluación en promedio cada tercer día de estradiol sérico. En este momento se administra la gonadotropina coriónica humana (1, 6).

Captura ovular

Una vez administrada la gonadotropina coriónica humana pasadas entre 24 a 36 hs, se realiza la punción folicular. En un inicio la punción folicular para la captura de los óvulos se realizaba por laparoscopia, pero con la introducción del USG endo-vaginal de alta definición en tiempo real, la técnica de aspiración es por técnica endo-vaginal, bajo sedación endovenosa.

Se debe ser cuidadoso con las presiones a las que se aspira el folículo, las cuales deben encontrarse en el rango de 20 a 50 mmHg.

Una vez aspirado el líquido folicular, inmediatamente son trasladados con el embriólogo, para la identificación ovular y clasificación.

Laboratorio de cultivo y coincubación

En un ciclo natural, los ovocitos son liberados en un estadio de metafase II, pero en un ciclo artificial, depende totalmente del éxito de la inducción. Las características de un ovulo maduro son un diámetro de 110 a 115 micrómetros; grosor de zona pelúcida entre 15 y 20 micrómetros; color típico y homogéneo del contenido citoplasmático; forma regular y corona radiada en expansión.

La clasificación del estado de madurez ovular es indispensable para determinar el tiempo promedio que debe transcurrir desde la obtención de los ovocitos hasta la inseminación.

La FIV emplea la coincubación de gametos con un promedio de 100000 espermatozoides por mililitro de medio de cultivo; la cantidad de espermatozoides se adecua a las características de la muestra espermática y a la cantidad de volumen de medio de cultivo.

En promedio del total de ovocitos obtenidos, el 30% son inmaduros y no co-incubables.

De los que son viables, al inseminarlos, la primera barrera que debe atravesar el espermatozoide en las siguientes tres horas es la corona radiada, seguida de la zona pelúcida. Esta zona está constituida por glicoproteínas (ZP1, ZP2 y ZP3), las cuales inducen la reacción acrosomal y la secreción de una proteasa llamada acrosina que degrada las glicoproteínas de la zona pelúcida. Esto en conjunto con el movimiento flagelado de la cola del espermatozoide, logra abrirse paso en la zona pelúcida, hasta fusionar la membrana acrosomal interna con la capa de microvellosidades del ovocito y posteriormente se fusiona con la membrana plasmática del mismo (27).

Al entrar el espermatozoide al citoplasma del ovocito, se reinicia la meiosis, experimentando una reacción cortical de despolarización de la membrana con posterior exocitosis de gránulos corticales, generando el bloqueo de la poliespermia.

En este momento se inicia la evaluación de la fertilización entre 16 a 18 hs post-inseminación; con la formación de los pronúcleos, posterior al avance del ovocito desde metafase II a telofase II, expulsando el segundo cuerpo polar. Los pronúcleos migran hasta el centro del ovocito para encontrarse, gracias a la compleja formación de microtúbulos aportados por el aster del espermatozoide. Los cromosomas de cada pronúcleo se aparean (singamia) y fusionan, dando lugar al cigoto. La co-incubación prolongada es embrio-tóxica, debido a la liberación de radicales libres y enzimas proteolíticas por parte de los espermatozoides (1).

Con la formación del cigoto se reestablece la diploidia, el sexo genético y se marca el inicio del desarrollo embrionario.

Un ovocito fertilizado normalmente presenta dos pronúcleos, dos cuerpos polares, forma esférica regular, citoplasma homogéneo sin indicio de necrosis manifestado en forma de zonas oscuras. La frecuencia de cigotos poliespermicos es del 2% con ovocitos maduros y del 30% con ovocitos inmaduros.

Una vez logrados los embriones, se intenta seleccionar aquellos con alto potencial de desarrollo. Con este objetivo varios autores han diseñado métodos para la evaluación morfológica de embriones, desde estadio de cigotos hasta blastocisto. Aquellos morfológicamente adecuados y con desarrollo cronológico adecuado, presentan una tasa de implantación notoriamente mayor.

Transferencia de embriones

Este procedimiento ha tomado cada vez mayor importancia en el proceso de la FIV. Primero seleccionando un número menor de embriones a transferir (no más de tres) y el momento adecuado posterior a la fertilización; controlando las presiones, localización exacta del catéter y embriones dentro del útero.

Algunos autores recomiendan catéteres muy especializados para evitar contaminación o estimulación de contracciones uterina; otras series no muestran diferencia entre las tasas de embarazo al utilizar diferentes medicamentos, catéteres o técnicas de transferencia.

Resultados de FIV

La tasa de éxito ha ido en incremento conforme mejoran los medios de cultivo y se detectan nuevos factores en la selección de pacientes que influyen directamente en algunos de los procesos de los cuales depende la FIV. Entre estos factores se ha agregado recientemente la detección de marcadores genéticos para trombofilia, motivo de esta tesis y que abordaremos a detalle más adelante (11).

La tasa de embarazo por ciclo varía entre el 25-35%, de estos, la tasa de malformaciones es similar a la población general. La tasa de abortos es del 20% y de embarazo ectópico del 5%.

No podemos dejar de mencionar la posibilidad de embarazo múltiple, la cual es del 1.4% si se transfiere un solo embrión, 14.6% para dos, 26.9% para tres, 35.9% para cuatro y 41.1% para cinco.

Finalmente la tasa de embarazos clínicos por FIV se relaciona con 70% de nacimientos con productos vivos. Una tercera parte de estos embarazos viables, se acompañan de parto pretérmino y existe mayor frecuencia de prematuridad, complicaciones obstétricas, bajo peso al nacer y mortalidad in útero.

Entre las complicaciones mas temidas encontramos en primer término el embarazo de alto orden fetal, seguido por el síndrome de hiperestimulación ovárica y las relacionadas con la captura de los ovocitos.

En las pacientes sometidas a FIV; un grupo menor, se realizan tres o mas intentos fallidos. Anteriormente se atribuían estas perdidas únicamente al tipo de inducción de la ovulación, calidad embrionaria y manipulación de los gametos. Hoy en día se sabe que existen innumerables factores propios y ajenos a la pareja que influyen en una FIV exitosa, como son:

Factores embrionarios (6)

Crecimiento in Vitro

métodos de selección adecuados

técnica de transferencia adecuada

Preparación de la zona con micro perforaciones

Criopreservacion correcta

Utilización de gametos y embriones por donación

Factores maternos y paternos

Edad materna

Tiempo de infertilidad

Calidad espermática

Tipo de estimulación ovárica

Pobres respondedoras
Alteraciones de la fase lútea
características ultrasonográficas del endometrio
Flujos uterinos corroborados por Doppler
Historia obstétrica previa
Mujeres receptoras o sin gonadas
Donación embrionaria
Factores ambientales
Factores inmunológicos
Factores genéticos
Factor embriotóxico
Genotipo HLA DQ alfa y beta.
Estados hipercoagulables

En la actualidad y en nuestro medio, debido a los altos costos en el acceso a la alta tecnología, se justifica iniciar un abordaje diagnóstico más amplio de forma más temprana, para indagar sobre las causas antes mencionadas, guiados por la historia particular de cada pareja.

Uno de las pruebas diagnósticas que se deben realizar es la presencia de marcadores genéticos para estados hipercoagulables secundarios a trombofilias heredadas y adquiridas. En las pacientes con pérdida recurrente del embarazo se han detectado con una frecuencia de hasta el 12% por arriba de los casos controles. Por lo anterior y debido a la facilidad terapéutica es conveniente analizar a detalle la relación entre estos y la falla en FIV.

3. Estados Hipercoagulables

El término hemostasia y coagulación sanguínea son una serie de complejos mecanismos fisiológicos finamente calibrados para evitar finalmente la pérdida de sangre.

La hemostasia consta de los siguientes componentes:

Espasmo vascular

Agregación plaquetaria

Activación del sistema de coagulación

Proliferación de tejido fibroso

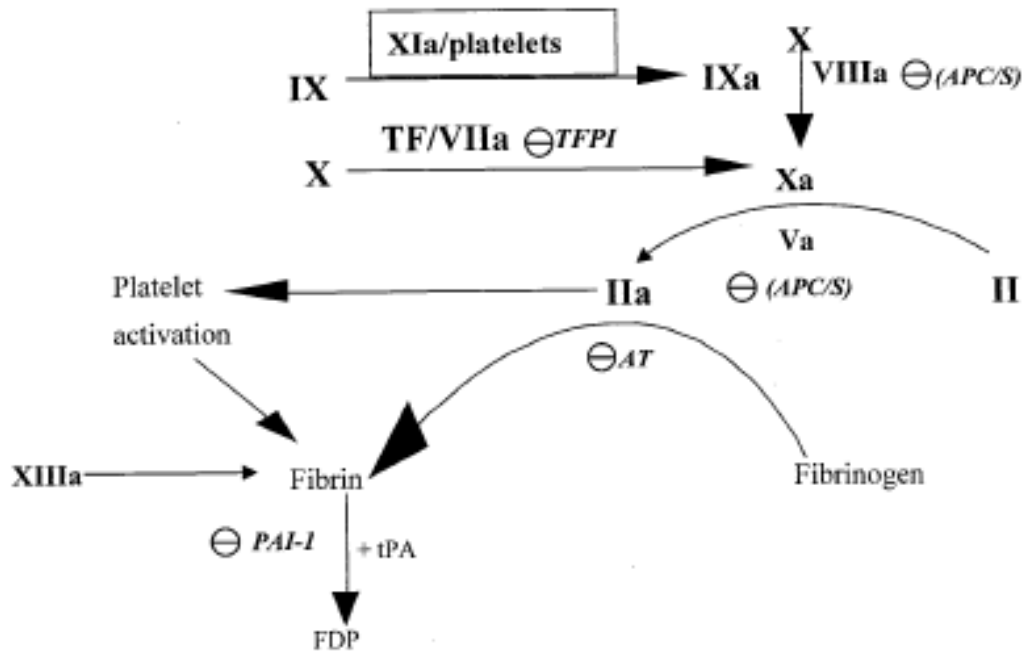
En la sangre y los tejidos se han descrito más de 50 componentes involucrados en los procesos de coagulación. Las sustancias que la favorecen se conocen como procoagulantes y a las que lo evitan, se nombran anticoagulantes. En los estados hipercoagulables, por deficiencia o exceso, los factores procoagulantes se activan erróneamente y anulan secundariamente a los anticoagulantes, generando un desequilibrio mortal para la unidad feto-placentaria. El resultado neto es la formación de un complejo de sustancias activadas promoviendo la formación de protrombina, catalizándolo a trombina. Esta última actuando como enzima para convertir el fibrinógeno a fibrina, construyendo una red para plaquetas, células sanguíneas y plasma que tienen como objetivo final el coágulo (16).

Un coágulo anormal que aparece en un vaso sanguíneo, recibe el nombre de trombo. El estado hipercoagulable o trombofílico es aquella predisposición genética o adquirida a la formación de trombos o generar coágulos de forma anormal y antifisiológica.

Activación Fisiológica y Control de la Hemostasis

El primer activador de la cascada de coagulación es el factor tisular (FT), una glicoproteína de membrana expresada en todo el organismo, excepto en el endotelio. Después de la lesión, el FT se pone en contacto con el factor VII. Este complejo FT/VII se une a los fosfolípidos de membrana en la presencia de iones de calcio para iniciar la formación del coágulo. Una vez iniciada la coagulación el factor VII es completamente activado por la trombina a F-VIIa, el cual es 100 veces más potente. El complejo FT/VIIa convierte el factor X en Xa (vía extrínseca) o lo activa al factor X por medio del factor IXa en unión con su cofactor VIIIa (vía intrínseca). El FT también puede ser regulado por el inhibidor del FT, uniéndose a TF/VIIa/Xa e inhibiendo rápidamente la formación de trombos por esta vía.

En la superficie de las plaquetas recién agregadas, la coagulación se puede mantener por medio de la transformación de la protrombina en trombina con el factor XIIa y XI a. También el factor Xa con su cofactor el Va, realiza la misma función generando finalmente monómeros de fibrina que al unirse con el factor activador de trombina XIIIa, forman un coagulo estable (24).



Debido a que la anticoagulación mediada por el inhibidor del FT puede ser rápidamente superada por el factor XIa, se requiere inhibir la actividad del factor IXa y Xa. De esta función se encargan la proteína C y S, inactivando al factor VIIIa y Va, cofactores indispensables de IXa y Xa (17).

Ambas proteínas se producen en el hepatocito y son dependientes de vitamina K para carboxilar sus dominios de glutamina, presentes en los sitios de unión de las membranas. La vida media es de 8 hs para la PC y de 48 hs para la PS.

El anticoagulante endógeno mas eficiente es el sistema de la antitrombina, gracias a sus propiedades inhibitorias contra la trombina, también inactiva eficazmente al factor Xa, IXa y VII a. La actividad de la antitrombina es potenciada de 5000 a 40000 veces por la acción de la heparina .

Finalmente la fibrinolisis previene la formación excesiva de coágulos, mediante el Inhibidor de la Activación del Plasminógeno (PAI-1), activa a la plasmina para la degradación de la fibrina.

Adaptaciones Maternas Inducidas por el Embarazo en la Hemostasia y Fibrinolisis

El efecto neto de las adaptaciones al embarazo en los procesos hemostáticos, anticoagulantes y fibrinolíticos es un incremento potencial del riesgo tromboembólico y exacerbación de las manifestaciones clínicas en los casos con trombofilias heredadas.

El embarazo se asocia con un incremento entre 20-200% en los niveles de fibrinógeno y factores II, VII, VII, X y XII; no se alteran los niveles de factores V y IX. En contraste, los niveles de anticoagulantes endógenos prácticamente no se incrementan, la proteína C y la antitrombina permanecen constantes y la actividad de la proteína S disminuye notoriamente. Más allá, la inmunoreactividad y la actividad del factor inhibidor de Plasminógeno incrementan más de tres veces durante el embarazo. La sumatoria de eventos antes descritos, inducidos por el embarazo, promueve la formación, extensión y estabilidad de los fenómenos tromboembólicos (26).

Patofisiología de las Trombofilias Heredadas

Trombofilia es definida como la tendencia a la trombosis. La asociación entre mutaciones trombofilicas específicas y pérdida recurrente del embarazo, FIV fallidas y pronóstico obstétrico pobre, es reciente (20).

A excepción del síndrome antifosfolipido, el papel de otro tipo de trombofilias heredadas en los defectos hemostáticos y pronóstico reproductivo, como relación causa-efecto bien conocidas, aun no ha sido demostrado (5).

Existe evidencia para justificar el estudio y tratamiento de las pacientes con sospecha de estos fenómenos, como a continuación se menciona (18):

Histológicamente el hallazgo de microtrombosis vasculares e infartos placentarios se han relacionado específicamente con determinados defectos trombofilicos (19).

Estudios prospectivos han demostrado un incremento en la prevalencia de trombofilias heredadas en pacientes con perdida recurrente del embarazo.

El inicio de tratamiento trombo profiláctico temprano se relaciona con tasas más altas de recién nacidos vivos.

Estudios retrospectivos demuestran el incremento del riesgo con la relación de efectos adversos en el embarazo y falla en la implantación adecuada con múltiples defectos trombofilicos.

Estudios longitudinales relacionan anomalías hemostáticas semanas antes de la perdida temprana del embarazo.

La relación de mujeres con estados pro-trombóticos conocidos y una mayor incidencia de falla reproductiva.

-Síndrome Antifosfolípidos

La familia de los anticuerpos antifosfolípidos (AFL), son una familia de inmunoglobulinas que reaccionan con los fosfolípidos aniónicos. Entre estas se encuentran los anticuerpos anticardiolipina, antifosfatidilsérina, ácido antifosfatítico, antifosfatidilinositol, antifosfatidilcolina, antifosfatidiletanolamina y reagina.

Estas inmunoglobulinas, reaccionan variablemente con sus diferentes isótopos y generando finalmente infartos placentarios extensos secundarios al decremento en anexina V.

El papel de la anexina V es generar un efecto antitrombótico entre el trofoblasto y el endotelio vascular. El AFL induce una disminución en los niveles de anexina V en la superficie del trofoblasto, generando trombosis (12).

También se ha relacionado con una disfunción endotelial caracterizada por el incremento en los niveles del factor Von Willebrand y del factor activador del Plasminógeno, incrementando así la formación de trombina.

En conjunto, los dos mecanismos, generan una implantación trofoblástica defectuosa e insuficiente para establecer y mantener la circulación materno-fetal.

-Mutación del Factor V Leiden

Es una mutación en el nucleótido 1691, 1229 y 1702 en el décimo exón del gen del factor V que tiene como resultado la sustitución de la glutamina por la arginina en la posición 506 del polipéptido. Esta sustitución impide la función de la PC y la PS para la inactivación del factor Va.

Esta alteración es heredada de forma autonómica dominante y la heterocigosidad de la mutación esta presente en el 20-40% de las mujeres no embarazadas con enfermedad tromboembólica. La homocigosidad es rara e incrementa el riesgo de tromboembolismo cien veces. El porcentaje de pacientes embarazadas con enfermedad tromboembólica atribuible a factor V Leiden es de aproximadamente el 40%. La tasa neta de riesgo de tromboembolismo durante el embarazo, secundario a factor V Leiden en la paciente asintomática es del 0,2% (3,14).

La evidencia actual sugiere una asociación entre factor V Leiden; con pérdida temprana del embarazo, pérdidas tardías, retraso en el crecimiento intrauterino, desprendimiento placentario y pre-eclampsia severa.

-Mutación del Gen de Protrombina

La mutación en el promotor del gen de la protrombina o factor II, presente en el 2-3% de la población Europea, permite un incremento en los niveles de la misma en un 150-200%, con el secundario incremento en el riesgo de trombosis.

La mutación se relaciona con el 17% de los eventos tromboembólicos durante el embarazo. Pero en una portadora asintomática el riesgo es solo del 0,5%.

La alteración de este gen se ha relacionado pérdida recurrente del embarazo, pre-eclampsia, desprendimiento placentario y retraso del crecimiento intrauterino severo (22).

-Mutación del Gen PAI-1

La región promotora de este gen contiene al menos dos pares de alélos conocidos como 4G y 5G. Estos incrementan cinco veces los niveles circulantes de PAI-1 en pacientes homocigotos. Es relativamente común e incrementa de forma moderada el riesgo de tromboembolismo, pérdida recurrente del embarazo, pre-eclampsia y parto pretérmino (22).

-Mutación del Factor XIII

Factor XIII o factor estabilizante de la fibrina. Se produce una polimerización terminoterminal de monómeros de fibrina con una longitud de una tercera parte de la molécula superponiéndose entre fibrillas vecinas laterales independientemente de la presencia de trombina. El factor XIII se halla en el plasma y en las plaquetas, pero sólo en cantidades muy pequeñas en el suero. No es dializante, es termolábil. Los compuestos inactivadores de sulfhidrilo inhiben esta actividad. Tiene una semi-desintegración biológica entre cuatro y siete días, y se necesita en cantidades muy pequeñas para formar enlaces cruzados de fibrina.

La deficiencia de este factor se ha relacionado con trastornos hemorrágicos severos diagnosticados al nacimiento.

La alteración estructural del dominio V34L se ha relacionado con aborto de repetición e infertilidad masculina (22, 25).

-Mutación del B-fibrinógeno

Está demostrado que los niveles plasmático de fibrinógeno (Fbg.) están regulados genéticamente, pero la proporción en que esta regulación afecta los niveles de fibrinógeno plasmático es controvertida. Utilizando un modelo matemático denominado análisis familiar por path se determina que la genética podría explicar hasta un 50 % de la variación en los valores plasmáticos mientras que estudios en gemelos han sugerido que el medio ambiente tiene mayor influencia en los niveles plasmáticos y sugieren un máximo de 30% para los factores genéticos. Una alta proporción de esta variación esta determinada por el polimorfismo genético del fibrinógeno; el gen que codifica para la cadena α es el mas estudiado porque la velocidad de síntesis de esta cadena es el paso limitante en la síntesis de fibrinógeno. Así, se han determinado numerosos polimorfismos (-455G/A,-148C/T,

ACLI,-854g/A, Arg 448 Lys, R/K448) que están asociados a altos niveles plasmáticos de Fgb. y mostraron asociación mínima con pérdida recurrente del embarazo.

Una posible explicación para esta pérdida de consistencia podría ser la variación en asociaciones alélicas entre las mutaciones puntuales conocidas y las mutaciones potencialmente patogénicas pero no identificadas aún, localizadas en el cluster Genético del fibrinógeno (22).

-Mutación del MTHFR (Hiperhomocisteinemia)

La mutación MTHFR altera la cistationina B-sintetasa del metabolismo de los folatos, causando hiperhomocisteinemia, la cual es transmitida de forma autonómica dominante para la forma heterocigota y autonómica recesiva para la forma homocigota.

La hiperhomocisteinemia es un factor de riesgo para la enfermedad coronaria y se asocia con mayor frecuencia a casos de infartos de miocardio, pero se ha relacionado recientemente a complicaciones obstétricas como pre-eclampsia, aborto, retardo en el crecimiento intrauterino, y mortinatos; en estos casos la incidencia de trombofilia sobrepasa el 50%. En las pacientes que cursan con síndrome de hiperestimulación ovárica, se observa prevalencia alta de factores asociados a la mutación de MTHFR (13, 15, 23).

-HPA-1

El antígeno plaquetario humano, ha sido identificado como riesgo heredado e independiente para trombosis coronaria. Se localiza en la glicoproteína plaquetaria GPIIIa, que comparte el receptor con el fibrinógeno. El polimorfismo del HPA-1 corresponde a la sustitución de un solo aminoácido (leupro) y es relativamente común. La asociación entre trombosis arterial, placentaria, y riesgo obstétrico no ha podido ser determinada (22).

Patología

El análisis histológico de la arquitectura intervellosa y los vasos placentarios de pacientes con embarazos patológicos relacionados con trombofilias, muestran aumento en los depósitos de fibrina, trombosis y cambios trofoblásticos-endoteliales asociados con hipoxia. Estos hallazgos sugieren que el resultado final de las alteraciones en estos marcadores genéticos es la trombosis de la circulación útero-placentaria (25).

Antecedentes

Durante la década de los ochentas numerosos trabajos de investigación básica se iniciaron en búsqueda de la interacción de los anticuerpos antifosfolípidos con los eventos obstétricos adversos.

Los primeros estudios que dieron resultados para la relación causal entre anticuerpos antifosfolípidos y pérdida recurrente del embarazo, fue la realizada por Harris en 1987 y Branch en 1990. Este es el primer antecedente directo de trombofilias heredadas y alteraciones reproductivas. Con anterioridad la causalidad, se había comentado y relacionado, pero nunca probado.

Posteriormente en el avance en la investigación de sustancias y condiciones procoagulantes en cardiología por Koeleman en 1994, se inicio el análisis de factores de riesgo para trombosis arteriales y otro tipo de trombofilias.

El análisis genético de marcadores para trombofilia en el campo de la gineco-obstetricia, se inicio hace aproximadamente 8 años, con la determinación y detección de mutaciones específicas con relación en antecedentes obstétricos adversos, hasta la publicación de Wallach en 1999 en donde hace una revisión minuciosa de la relación de trombofilias con la pérdida recurrente del embarazo.

Hasta que desde hace 4 años en USA y en noviembre de este año en México, se genero un panel de estudios que incluían las trombofilias heredadas mas frecuentemente relacionadas con perdida gestacional recurrente, perdida fetal tardía, pre-eclampsia, restricción del crecimiento intrauterino, desprendimiento placentario, parto pretérmino y finalmente con FIV fallida por Grandone en el 2001.

Desde el 2001 y hasta la fecha se han publicado números artículos en donde se demuestra la asociación entre trombofilias y la repetición de fallo en FIV.

IV. JUSTIFICACIÓN.

En el hospital ABC, la incidencia de pacientes con trombofilia, es mayor que en la población general en México. Esto se debe a la presencia multicultural con que contamos en nuestra población.

Las patologías gineco-obstétricas, que se pueden evitar con el análisis de trombofilias, son de alto impacto en la esfera psico-emocional de las parejas y pueden poner en grave riesgo la salud de las pacientes; por lo anterior es conveniente hacer un análisis detallado de los casos a los que se ha realizado el panel de marcadores genéticos de trombofilia y determinar su relación en la falla con tratamientos de FIV.

Debido a los altos costos de acceso a estas tecnologías reproductivas, el análisis genético de trombofilias en pacientes sometidas a FIV, es un ahorro a largo plazo, más que una prueba innecesaria y costosa.

V. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

La FIV es muchas veces la última esperanza, previo a la adopción, para muchas parejas que desean ver realizado su proyecto de familia. El no lograrlo mediante esta técnica es frustrante, costoso y finalmente favorece al pero enemigo de la reproducción; el tiempo.

La realización de pruebas que nos determinen la posibilidad de fallos en la técnica, es una ventaja que no se puede desperdiciar.

Por lo anterior y basados en la literatura, la relación entre marcadores genéticos para trombofilia y falla en FIV, nos permiten realizar la descripción de los primeros 20 casos en el hospital ABC a los cuales se solicito el panel de trombofilias.

VI. HIPÓTESIS ALTERNA.

Es un estudio meramente descriptivo, por lo que no aplica la realización de una hipótesis alterna.

VII. OBJETIVO.

Describir la frecuencia de los diferentes marcadores genéticos para trombofilia en una serie de 20 casos con falla repetida de FIV.

VIII. MATERIAL Y MÉTODOS.

Se realizó un estudio descriptivo y observacional, de corte transversal en una serie de 20 casos de pacientes en estudio por infertilidad y sometidas a FIV, no exitoso en una o mas ocasiones, en donde se solicito el panel de marcadores genéticos para trombofilia como posible causa del objetivo del estudio.

a) UNIVERSO Y MUESTRA DEL ESTUDIO.

Todas las pacientes con infertilidad de la Clínica Ginecología y Reproducción Humana sometidas a fertilización in Vitro, con falla en el tratamiento y a las cuales se les solicito panel de marcadores genéticos para trombofilias.

b) CRITERIOS DE INCLUSION.

Pacientes infértiles, con estudios completos, bajo tratamiento no exitoso con FIV, a las cuales se les solicito panel de marcadores genéticos para trombofilias.

c) CRITERIOS DE EXCLUSION.

No aplica

d) VARIABLES

Edad materna, edad paterna, factor masculino y número de FIV.

Alteración en los siguientes análisis:

Coagulograma

Tiroideo

Cariotipo Materno

Cariotipo Paterno

Factor Inmunológico

Factor Endocrino

Factor uterino

Factor Tubario

Factor Peritoneal

Factor Ovárico

Determinación de heterocigosidad u homocigosidad de los siguientes marcadores genéticos para trombofilia:

Factor V Leiden (G1691A, H1299R, Y1702C)

MTHFR (C677T, A1298C)

Protrombina (G20210A)

Factor XIII (V34L)

B-Fibrinógeno (455G>A)

PAI-1 (4G/5G)

HPAI-1 (a/b –L33P-)

d) ANÁLISIS DE DATOS.

Se utilizaron variables numéricas y categóricas.

Las variables numéricas se resumen con mediana e intervalo intercuartilar [Md (25-75)].

Las variables categóricas se resumen con frecuencias y porcentajes.

Se define la mediana como el valor que deja a cada lado (por encima y por debajo) la mitad de los valores de la muestra.

El intervalo intercuartilar es una serie de datos, que puede fraccionarse como queramos. Cuando se fracciona por la mitad, el valor que esta en el medio, que separa las dos mitades, es la mediana.

50 % 50 % . Así como la Mediana es el valor que divide la serie de datos en dos partes iguales, es posible calcular *percentiles*, si la serie se divide no en dos partes iguales, sino en 100.

Se define porcentaje como una proporción multiplicada por 100. Relaciona el número de individuos de una categoría con el total general y el resultado lo multiplica por 100.

El uso de frecuencias relativas como los porcentajes, facilita la comparación de 2 o más series cuyos totales son diferentes, pues estos quedan convenientemente reducidos a 100.

e) ASPECTOS ETICOS.

En todo momento se conservo la confidencialidad de los pacientes, sin acceso a ellos por parte del investigador. Siendo un estudio observacional y retrospectivo de corte transversal, no tiene implicaciones que requieran la aprobación del comité de ética del hospital.

IX. RESULTADOS.

Se ingresaron 20 pacientes con diagnostico de infertilidad y que fueron sometidas a tratamiento con fertilización in Vitro fallidas. De este grupo de pacientes la mediana para la edad materna fue de 34 años con un rango de 32 a 37 años. La mediana de la edad paterna fue de 38 años con un rango de 36 a 43 años. La mediana para FIV realizados fue de 2 con un rango de 1 a 4. La muestra presento

asociadas las siguientes alteraciones; un 40% (n=8) en el análisis de factor masculino, 10% (n=2) en el coagulograma, 20% (n=4) en el factor endocrino, 25% (n=5) en factor inmunológico, 10% (n=2) en factor uterino, 20% (n=4) en factor tubario, 35% (n=7) en factor peritoneal, 20% (n=4) en factor ovárico y 30% (n=6) de las pacientes presentaron mas de un factor alterado. El análisis de los marcadores genéticos para trombofilia mostraron que el 95% (n=19) presentaron mutaciones en algunos de los marcadores, de estos, el 25% (n=5) fueron mutaciones para el factor V Leiden, el 90% (n=18) presentaron mutaciones del MTHFR, 0% de las pacientes presentaron mutaciones del gen de protrombina, 40% (n=8) positivo para factor XIII, 5% (n=1) con mutación puntual para B-Fibrinógeno, 80% (n=16) con mutación para PAI-1, 20% (n=4) positivo para HPA-1 y de estos el 85% (n=17) presento mas de una mutación. En el factor V Leiden se detectan tres mutaciones; la mutación G1691A presente en el 10% (n=2) de forma heterocigota, la mutación H1299R (R2) presente en el 10% (n=2) de forma heterocigota y en 5% (n=1) de forma homocigota y ninguna mutación en Y1702C. Para la MTHFR; la mutación C677T se presento de forma heterocigota en un 45% (n=9) de las pacientes y en un 30% (n=6) de forma homocigota, la mutación A1298C se encontró heterocigota en un 50% (n=10) de las pacientes y ninguno para la forma homocigota. La mutación del factor XIII fue en su totalidad heterocigota, al igual que para la del B-Fibrinógeno y el HPA-1. En el caso de PAI -1 con un 65% (n=13) de heterocigosidad y 15% (n=3) de homocigosidad.

X. DISCUSIÓN.

Este estudio muestra que al menos el 95% de las pacientes en las que se tomo el análisis, presentaron trombofilias heredadas en relación con FIV fallidas. Si bien la definición del Colegio Americano de Reproducción no considera FIV fallida, hasta el tercer intento, en nuestro medio debido a la limitación económica y de acceso a técnicas reproductivas de esta naturaleza, no es posible esperar hasta el tercer ciclo fallido. Qublan menciona en una serie mucho mayor una incidencia del 68% a diferencia de Carp quien reporta solo un 20.3%, lo que nos indica que teniendo correctamente elegidos a los pacientes que son candidatos a este análisis, la prevalencia será mucho mayor. Es necesario descartar todas las causas probables de falla de FIV y estudiar correctamente todos los antecedentes médicos y gineco-obstétricos que nos pueden hacer sospechar de la posibilidad que tiene nuestra paciente de ser portadora de una trombofilia heredada subclínica y que se manifiesta en el embarazo. En nuestro estudio la edad materna no fue una

limitante ni influencia directa en la falla de la FIV, ya que la medio de edad es de 34 años. Es importante considerar que el 40% de la muestra presento alteraciones en el factor masculino y aproximadamente el 20% de la población en estudio presentaba alteraciones asociadas. Si bien otros autores como Martinelli no han separado estas variables de las trombofilias, es conveniente como lo hizo Qublan, con una muestra mayor y en una serie de casos y controles, la separación de factores adjuntos que puedan alterar el poder estadístico de nuestros resultados. Tampoco nos fue posible describir la calidad embrionaria al momento de la transferencia ni la cantidad de embriones trasferidos por cada ciclo, datos extremadamente importante para obtener conclusiones reales, lo anterior se realizara en cuanto se cuente con una muestra mayor.

Por el momento no existe un consenso acerca del tipo de trombofilia heredada que mas se relaciona con perdida recurrente del embarazo y FIV fallido. Se ha descrito la relación poligénica como la teoría mas aceptada, en nuestro estudio la trombofilia mas frecuente es la relacionada con la mutación del gen de MTHFR en un 90% de la población, seguida de PAI-1 con un 80% de la población y la presencia de mas de una mutación apoya la teoría poligénica con un 85% de nuestra población en estudio. De esta forma las alteraciones heterocigotas tienen mayor posibilidad de tener un efecto clínico real, siendo para nuestro grupo de pacientes 70% contra 30% de expresión homocigota. Diferimos de la población Europea en el factor V Leiden, en donde describen a esta mutación como la más frecuente. En otras series mayores se ha descrito que la homocisteína no se puede relacionar con FIV fallidos, como lo describe Ray, es necesario que en nuestra población se realicen mayores estudios debido a la frecuencia con la que se presento en este estudio.

Es posible que al ser trombofilias que se heredan, influyan directamente sobre la implantación, ya que los infartos placentarios se dan en etapas posteriores. Según la relación descrita por Dey con respecto a la expresión trofoblástica de anexina V.

En este estudio por la frecuencia con la que se presentan trombofilias, esta justificado iniciar tratamiento, el cual no es motivo de esta discusión. Parece indispensable por el impacto que puede tener una relación causal adecuadamente descrita, la realización de estudios con una n mayor y con variables mas controladas, para excluir aquellos factores que confunden los resultados finales.

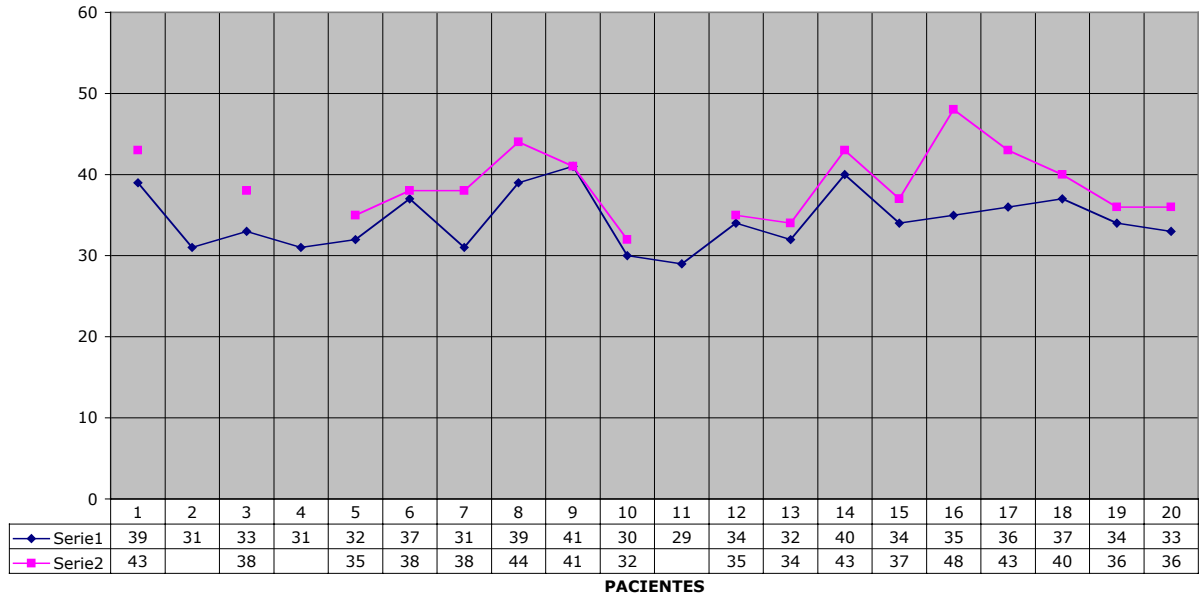
XI. CONCLUSIONES.

Los resultados obtenidos nos indican que las pacientes tienen dos o más trombofilias asociadas, apoyando la bien conocida teoría poligénica. Según Coulam, las pacientes con dos o más trombofilias tienen una prevalencia del 73% de FIV fallido, en comparación del 20% observado sus casos control.

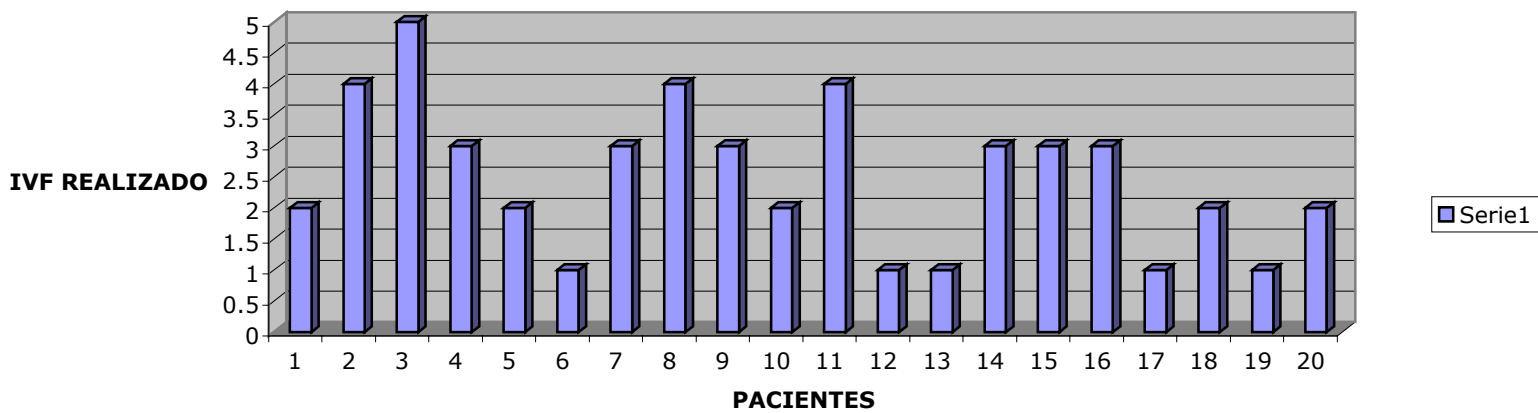
En resumen, los resultados nos demuestran que las trombofilias heredadas juegan un papel importante en los casos de FIV fallido. Las mujeres con FIV fallido o con antecedentes obstétricos adversos, según los comentados en el marco teórico deben ser estudiadas para descartar mutaciones trombofílicas. Estudios prospectivos, randomizados, con una n mayor y controlados deben ser diseñados para determinar con precisión la participación de que mutación influye directamente en el fallo de la FIV, así como, establecer las medidas terapéuticas precisas.

XII. TABLAS Y GRAFICOS.

EDAD PADRES



IVF POR PACIENTE



MARCADORES GENETICOS PARA TROMBOFILIA

	<i>Factor V Leiden</i>		<i>MTHFR</i>			<i>F-II</i>	<i>F-XIII</i>	<i>B-Fib</i>	<i>PAI-I</i>	<i>HPA-1</i>
	G1691A	H1299R	Y1702C	C677T	A1298C	G20210A	V34L	455G>A	4G/5G	a/b (L33P)
Homocigoto	0	5%	0	30%	0	0%	0%	0%	15%	0%
Heterocigoto	10%	10%	0	45%	50%	0%	40%	5%	65%	20%

XIII. BIBLIOGRAFÍA.

1. Carranza-Lira S, et al (1 ed) (2003). *Fundamentos de Endocrinología Ginecológica y Reproductiva*. MDM.
2. Geva E, Amit A, Lerner-Geva L, Azem F, Yovel I and Lessing JB (1995) Autoimmune disorders: another possible cause for in-vitro fertilization and embryo transfer failure. *Hum Reprod* 10,2560–2563.
3. Gopel W, Ludwig M, Junge AK, Kohlmann T, Diedrich K and Moller J (2001) Selection pressure for the factor-V-Leiden mutation and embryo implantation. *Lancet* 358,1238–1239.
4. Grandone E, Colaizzo D, Lo Bue A, Checola MC, Cittadini E and Margaglione M (2001) Inherited thrombophilia and in-vitro fertilization implantation failure. *Fertil Steril* 76,201–202.
5. Kaider BD, Price DE, Roussev RG and Coulam CB (1996) Antiphospholipid antibody prevalence in patients with IVF failure. *Am J Reprod Immunol* 35,388–393.
6. Edwards G, Brody S (1995) *Principles and Practice of Assisted Human Reproduction*. Saunders Co.
7. Lockwood CJ and Rand JH (1994) The immunobiology and obstetrical consequences of antiphospholipid antibodies. *Obstet Gynecol Surv* 49,432–441.
8. Martinelli I, Taioli E, Ragni G, Levi-Setti P, Passamonti SM, Battaglioli T, Lodigiani C and Mannucci PM (2003) Embryo implantation after assisted reproductive procedures and maternal thrombophilia. *Haematologica* 88,789–793.
9. Azem F, Many A, Yovel I, Amit A, Lessing JB and Kupfermanc MJ (2004) Increased rates of thrombophilia in women with repeated IVF failure. *Hum Reprod* 19,368–370.
10. Coulam CB, Kaider BD, Kaider AS, Janowicz P and Roussev RG (1997) Antiphospholipid antibodies associated with implantation failure after IVF/ET. *J Assist Reprod Genet* 14,603–608.
11. Coulam CB, Jeyemdran RS, Fishel LA and Roussev R (2006) Multiple thrombophilic gene mutations are risk factors for implantation failure. *Reprod Biomed Online* 12,322–327.
12. Matsubayashi H, Arai T, Izumi S, Sugi T, McIntyre JA, Path FRC and Makino T (2001) Anti-annexin V antibodies in patients with early pregnancy loss or implantation failures. *Fertil Steril* 76,694–699.

13. Nelen WLDM, Bulten J, Steegers EAP, Blom HJ, Hanselaar AGJ and Eskes TKAB (2000) Maternal homocystine and chorionic vascularization in recurrent early pregnancy loss. *Hum Reprod* 15,953–960.
14. Qublan HS, Malkawi HY, Tahat YA, Areidah S, Nusair B, Khreisat BM, Al- Quraan G, Abu-Assaf A, Hadaddein MF and Abu-Jassar H (2005) In-vitro fertilization treatment: factors affecting its results and outcome. *J Obstet Gynaecol* 25,689–693.
15. Raziel A, Kornberg Y, Friedler S, Schachter M, Sela BA and Ron-El R (2001) Hypercoagulable thrombophilic defects and hyperhomocystinemia in patients with recurrent pregnancy loss. *Am J Reprod Immunol* 45,65–71.
16. Rey E, Kahn SR, David M and Shrier I (2003) Thrombophilic disorders and fetal loss: a meta-analysis. *Lancet* 361,901–908.
17. Sanson BJ, Friederich PW, Simioni P, Zanardi S, Hilsman MV, Girolami A, ten Cate JW and Prins MH (1996) The risk of abortion and stillbirth in antithrombin-, protein C-, and protein S-deficient women. *Thromb Haemost* 75,387–388.
18. Dey HL, Sanyoy KD, Reese J and Wang H (2004). Molecular Cues to Implantation. *Endocrine Reviews* 25, 341-373.
19. Alonso A, Soto I, Urgelles MF, Corte JR, Rodriguez MJ and Pinto CR (2002) Acquired and inherited thrombophilia in women with unexplained fetal losses. *Am J Obstet Gynecol* 187,1337-1342.
20. Blumenfeld Z and Brenner B (1999) Thrombophilia-associated pregnancy wastage. *Fertil Steril* 72,765-774.
20. Dizon-Townson DS, Meline L, Nelson LM, Varner M and Ward K (1997) Fetal carriers of the factor V Leiden mutation are prone to miscarriage and placental infarction. *Am J Obstet Gynecol* 177,402-425.
21. Glueck CJ, Awadalla SG, Phillips H, Cameron D, Wang P and Fontaine RN(2000) Polycystic ovary syndrome, infertility, familial thrombophilia,familial hypofibrinolysis, recurrent loss of in vitro fertilized embryos, and miscarriage. *Fertil Steril* 74,39-397.
22. Kupferminc MJ, Eldor A, Steinman N, Many A, Bar-Am A, Jaffa A, Fait G and Lessing JB (1999) Increased frequency of genetic thrombophilia in women with complications of pregnancy. *N Engl J Med* 340,1584-1589.

23. Nelen WL, Blom HJ, Steegers EA, den Heijer M and Eskes TK (2000) Hyperhomocysteinemia and recurrent early pregnancy loss: a meta-analysis. *Fertil Steril* 74,1196-1199.
24. Lockwood Charles (2002). Inherited Thrombophilias in Pregnant Patients: Detection and Treatment Paradigm. *Obstet Gynecol* 99, 333-341.
25. Sarig G, Younis JS, Hoffman R, Lanir N, Blumenfeld Z and Brenner B (2002) Thrombophilia is common in women with idiopathic pregnancy loss and is associated with late pregnancy wastage. *Fertil Steril* 77,342-347.
26. Cunningham, F.G., MacDonald, P.C., Gant, N.F. *et al.* (21 eds) (2002) *William's Obstetrics*. Appelton and Lange, Stamford.
27. Yen, Jaffe Barbieri, et al (2001). *Reproductive Endocrinology*. Saunders.

XIV. ANEXOS

FICHA DE RECOLECCION DE DATOS

- EDAD MATERNA
- EDAD PATERNA
- FIV REALIZADOS
- FACTOR MASCULINO
- FACTOR ENDOCRINO
- FACTOR UTERINO
- FACTOR TUBARIO
- FACTOR PERITONEAL
- FACTOR OVARICO
- MARCADORES GENETICOS TROMBOFILIA:
- FACTOR V LEIDEN
 - G1691A (Heterocigoto / Homocigoto)
 - H1299R (Heterocigoto / Homocigoto)
 - Y1702C (Heterocigoto / Homocigoto)
- HIPERHOMOCISTEINEMIA (MTHFR)
 - C677T (Heterocigoto / Homocigoto)
 - A1298C (Heterocigoto / Homocigoto)
- PROTROMBINA II (G20210A)
 - (Heterocigoto / Homocigoto)
- FACTOR XIII (V34L)
 - (Heterocigoto / Homocigoto)
- B-FIBRINOGENO (455G>A)
 - (Heterocigoto / Homocigoto)
- PAI-I (4G/5G)
 - (Heterocigoto / Homocigoto)
- HPAI-1(a/b [L33P])
 - (Heterocigoto / Homocigoto)

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

-NO NECESARIA POR LAS CARACTERISTICAS DEL ESTUDIO.