



DOCUMENTO DE CONSENSO

Recomendaciones para el estudio genético e inmunológico en la disfunción reproductiva[☆]



María Concepción Alonso-Cerezo^{a,b,*}, Mercedes Calero Ruiz^{c,d},
Venancio Chantada-Abal^{f,g}, Luis Alfonso de la Fuente-Hernández^{h,i},
Inmaculada García-Cobaleda^{j,k}, Carlos García-Ochoa^l,
José Miguel García-Sagredo^{m,n}, Rocío Nuñez^ñ, Rafael Oliva^{o,p},
María Orera-Clemente^{q,r}, David Pintado-Vera^{s,t} y Silvia Sánchez-Ramón^{u,v}

^a Asociación Española de Biopatología Médica-Medicina de Laboratorio, Madrid, España

^b Genética Clínica, Hospital Universitario de la Princesa, Instituto de Investigación Sanitaria, Madrid, España

^c Asociación Española del Laboratorio Clínico, Madrid, España

^d UGC Intercentros Laboratorio Clínicos, Hospital Universitario Puerta del Mar, Cádiz, España

^f Asociación Española de Urología, Madrid, España

^g Complejo Hospitalario Universitario A Coruña, A Coruña, España

^h Sociedad Española de Fertilidad, Madrid, España

ⁱ Instituto Europeo de Fertilidad, Madrid, España

^j Sociedad Española de Medicina de Laboratorio, Barcelona, España

^k Hospital Universitario Nuestra Señora de Candelaria, Santa Cruz de Tenerife, España

^l Centro de Fertilización in Vitro de Asturias, Oviedo, España

^m Hospital Universitario Ramón y Cajal, Madrid, España

ⁿ Universidad de Alcalá de Henares, Madrid, España

^ñ Unidad de Reproducción, Clínica Tambre, Madrid, España

^o Asociación Española de Andrología, Córdoba, España

^p Unidad de Genética, Departamento de Biomedicina, Facultad de Medicina y Ciencias de la Salud, Universidad de Barcelona, Servicio de Genética y Biología Molecular, Hospital Clínico de Barcelona, Instituto de Investigación Biomédica August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Barcelona, España

^q Asociación Española de Genética Humana, Madrid, España

^r Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Madrid, España

^s Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia, Madrid, España

^t Sección de Esterilidad e Infertilidad, Hospital Quirón, Pamplona, España

^u Sociedad Española de Inmunología, Barcelona, España

^v Servicio de Inmunología, Hospital Clínico Universitario San Carlos, Madrid, España

Recibido el 19 de febrero de 2018; aceptado el 21 de febrero de 2018

Disponible en Internet el 19 de mayo de 2018

[☆] Artículo publicado previamente en Medicina Clínica. DOI:10.1016/j.medcli.2018.02.008, con el consentimiento de los autores y editores.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: calonsoc@salud.madrid.org (M.C. Alonso-Cerezo).

PALABRAS CLAVE

Citogenética;
Estudios genéticos o
inmunológicos;
Donación de gametos

KEYWORDS

Cytogenetic;
Genetic or
immunological
studies;
Gamete donation

Resumen: Varios miembros de diferentes asociaciones científicas y expertos de la reproducción han actualizado las recomendaciones de estudio genético e inmunológico en las parejas con disfunción en la reproducción con el fin de mejorar la asistencia sanitaria. El estudio se ha considerado altamente recomendable cuando la prueba diagnóstica es relevante para la toma de decisiones, moderada cuando estas han mostrado un resultado poco consistente y baja, cuando el beneficio de la prueba es incierto. Con la indicación de estas recomendaciones obtendremos una información relevante para el diagnóstico, pronóstico y tratamiento de la pareja con disfunción en la reproducción.

© 2018 AEBM, AEFA y SEQC. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

Recommendations regarding the genetic and immunological study of reproductive dysfunction

Abstract In this article several members of diverse scientific associations and reproduction experts from Spain have updated different genetic and immunological procedure recommendations in couples affected by reproductive dysfunction with the goal of providing a set of useful guidelines for the clinic. The laboratory test has been considered as highly recommendable for making clinical decisions when the result of the diagnostic test is relevant, moderately recommendable when the results are of limited evidence because they are inconsistent, and low when the benefit of the test is uncertain. It is expected that these recommendations will provide some useful guidelines for the diagnosis, prognosis and treatment of couples presenting reproductive dysfunction.

© 2018 AEBM, AEFA y SEQC. Published by Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

Introducción

El avance en el conocimiento del genoma humano y en la inmunopatología como causas de alteraciones en la reproducción junto al gran desarrollo de las nuevas técnicas de biología molecular, permiten que se pueda analizar un gran número de enfermedades obteniendo una información relevante para el diagnóstico, pronóstico y tratamiento de la pareja con disfunción en la reproducción¹. Este conocimiento se está aplicando a individuos/sujetos sintomáticos con la idea de confirmar un diagnóstico, así como para detectar embarazos con un alto riesgo genético de desarrollo de alguna enfermedad hereditaria o individuos asintomáticos con antecedentes familiares que supongan un elevado riesgo de desarrollar una enfermedad genética en un futuro.

Por otro lado, la inmunología reproductiva estudia los cambios en la respuesta inmunológica durante las distintas etapas del proceso reproductivo: fertilización de los gametos, implantación de los embriones en el útero, invasión endometrial y desarrollo de la placenta en las etapas precoces y tardías del embarazo y parto. Sin embargo, quedan numerosos interrogantes sobre cómo la unidad feto-placentaria evita el rechazo por parte del sistema inmunitario materno, siendo hasta ahora el feto considerado como un injerto semialojénico, aunque cada vez se va conociendo más sobre los mecanismos inmunitarios activos de la interfase feto-materna por parte del inmunidad innata y adaptativa que median la tolerancia materna.

La realización de los estudios genéticos o inmunológicos se basa en la historia y características clínicas y los antecedentes familiares de la pareja. La evaluación de la posible causa en cada caso, debe evitar exploraciones

y tratamientos innecesarios en pacientes con alteraciones en la reproducción.

Antes de incorporar nuevas pruebas en el diagnóstico a nivel asistencial es imprescindible considerar el impacto sanitario de las enfermedades así como la prevalencia del genotipo, las garantías de eficacia (validez analítica, validez clínica, utilidad clínica), el coste-efectividad, la calidad de las pruebas diagnósticas, la magnitud de la asociación genotipo-enfermedad, la interacción con otros factores de riesgo, el conocimiento sobre las intervenciones preventivas o terapéuticas, el impacto económico de su implementación en los servicios sanitarios y por último, los aspectos éticos, legales y sociales relacionados².

Varios miembros de diferentes asociaciones científicas y expertos de la reproducción humana (tabla 1) han

Tabla 1 Sociedades científicas participantes

Asociación Española de Biopatología Médica-Medicina del Laboratorio
Asociación Española del Laboratorio Clínico
Sociedad Española de Fertilidad
Asociación Española de Andrología
Sociedad Española de Medicina del Laboratorio
Asociación Española de Genética Humana
Sociedad Española de Inmunología
Asociación Española de Urología
Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia, sección de esterilidad e infertilidad
Expertos en genética clínica de esterilidad

actualizado las recomendaciones³ publicadas en el 2009 con el fin de mejorar la asistencia sanitaria en estas parejas.

Las recomendaciones realizadas en este documento se refieren a hombres y mujeres con disfunción reproductiva, ya sea por esterilidad primaria, secundaria o infertilidad.

El objetivo de este documento es ofrecer una revisión actualizada de las recomendaciones para el estudio genético e inmunológico en la evaluación de las parejas con disfunción reproductiva y que desean tener descendencia. Se pretende proporcionar las indicaciones de estudios genéticos e inmunológicos necesarios para determinar la etiología. Se excluye el estudio de las enfermedades mitocondriales y sistémicas que se asocian con alteraciones de la reproducción.

Las recomendaciones van dirigidas a los especialistas sanitarios que en su práctica clínica asisten a las parejas con disfunción reproductiva como ginecólogos, urólogos, genetistas clínicos, andrólogos y especialistas de medicina de laboratorio con el fin de ayudar y estandarizar los estudios de las causas de origen genético o inmunológico.

Consideraciones éticas en genética y reproducción

Los problemas éticos suscitados por las nuevas tecnologías genéticas son diversos y múltiples, aunque todos ellos tienen la característica —en la que conviene insistir— de obligar a un planteamiento doble: la reflexión sobre los conceptos implicados y los valores en juego, y la justificación de la toma de decisiones prudente en los campos de aplicación concretos^{4,5}.

Desde el punto de vista de los principios éticos básicos, el beneficio que pueden ofrecer estas técnicas es el que genera más esperanzas tanto en los profesionales como en la población, ya que parten de la base de evitar un posible daño en la descendencia y promover la mejora de la calidad de vida⁶. Sin embargo, también entran en consideración los principios de justicia y autonomía, ya que se corre el riesgo de utilizar tecnologías que no son suficientemente seguras, existe el problema de la protección de la confidencialidad, y el acceso desigual entre los pacientes que lo soliciten.

Las nuevas tecnologías genéticas ponen a nuestra disposición los datos obtenidos, que también pueden ser transmitidos a otras personas. En el caso de la donación de gametos, por ejemplo, la información puede implicar a varios sujetos a la vez. Por ello, la confidencialidad de estos datos es uno de los temas más controvertidos, ya que en ocasiones no está claro si debe de prevalecer la privacidad de la persona o el interés común.

Por otra parte, también existe la posibilidad de que la propia persona no desee conocer sus datos, sobre todo en el caso de detectarse la posibilidad de tener una enfermedad que no tenga cura⁷. Es muy importante destacar que el descubrimiento de una predisposición a padecer una enfermedad no es sinónimo de padecerla con seguridad. El problema subyacente, aquí y en otros temas relacionados con la influencia de los avances en genética en la sociedad, es el de la información. Por ello, en este aspecto desempeña un papel primordial el consentimiento informado. Desde una perspectiva ética amplia se pueden reconocer dos objetivos principales en la teoría del consentimiento informado:

promover la autonomía individual y estimular la toma de una decisión racional, esto es, las personas tienen derecho a tener sus propios puntos de vista, a tomar sus propias decisiones y a realizar acciones basadas en los valores y creencias propias^{8,9}.

La información por escrito debe advertir sobre la posibilidad de descubrimientos inesperados y su posible trascendencia para el sujeto, así como sobre la facultad de este de tomar una posición en relación con recibir su comunicación.

Por último, la información por escrito debe contener la advertencia de la implicación que puede tener para los familiares la información que se llegue a obtener y la conveniencia de que el propio afectado, en su caso, transmita la información a aquello^{10,11}.

Recomendaciones

- Es necesario que todas las Unidades de Reproducción cuenten con asesoría genética especializada.
- En caso de que los pacientes soliciten un test de secuenciación masiva, es necesario explicar detalladamente el estado actual de la ciencia, y ofrecer toda la información actualmente disponible de una forma clara y veraz, explicando todos los hallazgos y firmando el correspondiente consentimiento informado.
- No puede asegurarse a los pacientes que no existe peligro de alteración genética en la descendencia aun realizándose el test.
- No debe de realizarse publicidad “engañosa” para los pacientes respecto a los test de secuenciación masiva y sus posibles beneficios.

Consulta preconcepcional

La consulta preconcepcional tiene como objetivo identificar las condiciones médicas y sociales maternas o paternas, en las que sea posible realizar una intervención antes de la gestación con la finalidad de minimizar su impacto sobre la misma.

Deberán ser valorados en una consulta de Genética Clínica las parejas consanguíneas, los varones o mujeres con historia de enfermedad hereditaria o sospecha de la misma y las personas pertenecientes a grupos con una elevada proporción de portadores de mutaciones para determinadas enfermedades hereditarias.

Entre los antecedentes familiares, se consideran susceptibles de evaluación preconcepcional la existencia de varios miembros de la familia con la misma afectación, personas con malformaciones mayores, retraso del desarrollo, discapacidad intelectual o anomalías en el crecimiento (restricción, asimetría del crecimiento o crecimiento excesivo). Es relevante recopilar información sobre familiares afectados de esterilidad, retraso mental, enfermedades musculares progresivas, cataratas tempranas, alteraciones en la coagulación, minusvalías, malformaciones o parálisis al nacimiento. Se debe investigar la consanguinidad de la pareja y los antecedentes familiares, realizando un árbol genealógico de al menos 3 generaciones. En la [tabla 2](#) se indica el cuestionario sobre los antecedentes personales,

Tabla 2 Antecedentes personales, familiares y exploración mínima para el estudio de la pareja en la disfunción reproductiva**Antecedentes personales mujeres:**

Malformaciones al nacimiento
Desarrollo psicomotor
Menarquia
Ciclos: duración y características

Antecedentes personales hombres:

Malformaciones al nacimiento
Desarrollo psicomotor
Anosmia
Edad de aparición de caracteres sexuales secundarios (vello, barba, etc.)

Árbol genealógico:

Debe comprender 3 generaciones (hijos, hermanos, padres, sobrinos, tíos, primos) anotando enfermedades y malformaciones, así como abortos (especificar espontáneo o inducido)
La consanguinidad en la pareja debe reflejarse en el árbol (detectar hermanos 2, 3, 4, etc., generaciones por encima)
Debe recoger los antecedentes familiares de menopausia precoz, aborto espontáneo (anotar tiempo de la gestación y el sexo del feto, si se conoce), muerte fetal y muerte neonatal (datos de la autopsia), anomalías congénitas, esterilidad, retraso mental o en el desarrollo, coagulopatías, enfermedades genéticas

Exploración mujeres

Estatura
Aspecto fenotípico: obesidad, etc.
Distribución del cabello (occipital)
Cuello (tamaño, pterigium)
Tórax en escudo
Teletelia
Distribución del vello
Genitales externos

Exploración hombres:

Estatura, especificando segmento superior/segmento inferior
Aspecto fenotípico: eunucoide, obeso, etc.
Distribución del cabello (frontal y occipital)
Cara alargada
Pabellones auriculares (tamaño, despegados)
Prognatismo
Distribución del vello
Ginecomastia
Escroto (aspecto y pigmentación)
Pene (tamaño, hipospadias, etc.)
Testículos (tamaño, consistencia, criptorquidia, varicocele)

Tabla 3 Clasificación en el uso de las recomendaciones

- Alta: existe clara evidencia para recomendar la prueba genética o inmunológica y es relevante para la toma de decisiones
- Moderada: existe una limitada evidencia para recomendar la prueba genética y han mostrado un resultado poco consistente
- Baja: la evidencia disponible es incierta y no permite hacer recomendaciones a favor o en contra de la prueba genética

Recomendaciones para el uso de las pruebas genéticas e inmunológicas

El uso de las recomendaciones de las pruebas genéticas e inmunológicas se ha clasificado en tres categorías: alta, moderada y baja. Para determinar la fuerza de una recomendación se han valorado las ventajas y los riesgos de la utilización de la prueba diagnóstica, la coherencia y precisión de los resultados, la calidad de la evidencia, carácter directo de las pruebas, los valores y preferencias de las personas afectadas, y los recursos a usar. Se ha considerado *altamente recomendable* cuando la prueba diagnóstica es relevante para la toma de decisiones, *moderada* cuando estas han mostrado un resultado poco consistente y *baja*, cuando el beneficio de la prueba es incierto¹² (tabla 3).

En la estrategia de búsqueda de estudios genéticos se ha incluido los siguientes términos: cariotipo, fibrosis quística, X frágil, trombofilias, microdeleciones del cromosoma Y, FISH en el cromosoma Y, estudio de meiosis en el tejido testicular, fragmentación en el ADN espermático, variación en el número de copias, detención masiva de enfermedades autosómicas recesivas, estudios genéticos en donación de gametos y epigenética. Con respecto a los estudios inmunológicos, los términos de búsqueda fueron síndrome antifosfolípido, hipotiroidismo, enfermedad celiaca, células NK uterinas y en sangre periférica, desregulación de respuestas Th1/Th2 y Th17/Treg, antígenos HLA y genotipo KIR materno y lectina de unión a manosa.

Se consultaron bases de datos electrónicas como MEDLINE, EMBASE, guías clínicas como EAA/EMQN, revisiones sistemáticas y metaanálisis, documentos de consenso y recomendaciones de sociedades científicas en los últimos 10 años.

El trabajo multidisciplinar se inició en noviembre del 2015 mediante una reunión presencial donde se definió el alcance de las recomendaciones y se repartieron los temas por pares según la experiencia y la especialidad de los autores con el fin de realizar una revisión de la literatura científica. Se hicieron circular los temas y se comentaron en el grupo de trabajo en otra reunión presencial y 5 *on-line*. De esta forma se estableció el documento consenso de "Recomendaciones para el estudio genético e inmunológico en la disfunción reproductiva". Posteriormente el documento ha sido revisado y avalado por las 10 sociedades científicas participantes.

Se realizó la evaluación del documento mediante la herramienta de 23 ítems organizados en los seis mismos dominios, seguidos de la evaluación global, indicado en el

los antecedentes familiares y la exploración mínima que puede ayudar al estudio de la pareja.

Si se cumplieran criterios clínicos de indicación de estudios cromosómicos, moleculares o inmunológicos se realizarán antes de plantear cualquier tratamiento de reproducción.

Tabla 4 Evaluación de los dominios

Dominios	Porcentaje	Consideración
1. Alcance y objetivo	87,50	Bueno
2. Participación de los implicados	81,94	Bueno
3. Rigor en la elaboración	65,10	Aceptable
4. Claridad de la presentación	80,56	Bueno
5. Aplicabilidad	45,83	Bajo
6. Independencia editorial	93,75	Bueno
Evaluación global	79,17	Aceptable

instrumento para evaluación de guías de práctica clínica AGREE-II¹². En la [tabla 4](#) se expone los resultados. Se ha considerado como puntuaciones de dominio $\geq 80\%$ = bueno; 60-79% = aceptable; 40-59% = bajo; $<40\%$ = muy bajo. * = puntuaje total del dominio $> 60\%$. Destacamos que la evaluación global del documento ha resultado aceptable y que todos los evaluadores recomiendan este documento para su uso en la práctica clínica.

Recomendaciones de estudios genéticos en la mujer

La indicación de las pruebas genéticas como alta, moderada o baja en la mujer con disfunción en la reproducción se ha clasificado en base a la historia clínica de la mujer y se presentan en la [tabla 5](#).

Cariotipo en sangre periférica

La frecuencia de las anomalías cromosómicas se sitúa entre un 0,7% y un 0,8% de los recién nacidos vivos¹³. Las parejas con disfunción en la reproducción han demostrado que tienen una mayor prevalencia de anomalías cromosómicas tanto estructurales o numéricas que la población general. La aneuploidia más frecuente que se asocia a esterilidad en las mujeres es la monosomía del cromosoma X: 45, X (síndrome de Turner), que ocurre como resultado de no hacer disyunción cromosómica en meiosis¹⁴.

Las alteraciones cromosómicas constitucionales estructurales o numéricas contribuyen al fracaso en la reproducción, ya sea como causa de esterilidad o de abortos repetidos involuntarios. Estas variaciones pueden no presentar manifestaciones clínicas evidentes y permanecen sin ser detectados a través de múltiples generaciones.

Cariotipo en abortos

El aborto espontáneo es la complicación más frecuente del embarazo, y la causa principal de abortos en el primer trimestre de gestación son las alteraciones cromosómicas. Alrededor del 50 al 60% de todos los abortos involuntarios están asociados con anormalidades citogenéticas, siendo la trisomía la más frecuente, seguidos por poliploidia y la

monosomía X¹⁵. La detección de anomalías cromosómicas espontáneas en el aborto es importante para conocer las causas de la pérdida del embarazo. La detección de sus padres portadores puede proporcionar asesoramiento genético adecuado para estas familias.

Fibrosis quística

La fibrosis quística (FQ) es una enfermedad que se transmite de forma autosómica recesiva, causada por mutaciones en un gen conocido como *cystic fibrosis transmembrane conductance regulator* (7q31.2) (*CFTR*). La prevalencia de afectos es de uno cada 2.500 nacimientos y de portador de uno cada 25¹⁶. La base de datos, *Leiden Open (source) Variation Database* suministra la información sobre las mutaciones de la FQ a través de Internet (http://grenada.lumc.nl/LSDB_list/lsdbs/CFTR)¹⁷. Actualmente se conocen más de 3.000 variaciones patológicas de este gen. La mutación delta F508 es la más prevalente. Las mujeres diagnosticadas de FQ son fértiles. Cuando la pareja de la mujer es portadora de una mutación de FQ, se realizará el cribado de las mutaciones más frecuentes^{18,19} que detecta entre el 70 al 90% de las mutaciones que se encuentran más comúnmente en el gen *CFTR*, por lo que el riesgo residual de tener descendencia afectada es menor del 1%, parcialmente evitable mediante secuenciación completa del gen.

Estudio de X frágil

Las mujeres portadoras de premutación en el gen *fragile X mental retardation 1* (*FMR1*) tienen riesgo de insuficiencia ovárica prematura (IOP), que se define como menopausia con menos de 40 años²⁰. Se sospecha que una mujer es portadora de esta premutación si tiene antecedentes familiares de mujeres con IOP y de varones diagnosticados de retraso mental o síndrome temblor ataxia.

El gen está situado en el locus Xq27.3. Su expansión inestable o la metilación anormal del gen dan lugar a la supresión de la transcripción del *FMR1* y a niveles cerebrales disminuidos de la proteína que codifica, que son los responsables del síndrome de X frágil. El número de repeticiones no se relaciona con el retraso mental asociado al síndrome, sino que aumenta el riesgo creciente de IOP en las mujeres portadoras. Debido a la inestabilidad de la repetición sobre la transmisión de los alelos premutados, las mujeres presentan riesgo de tener niños afectados con síndrome de X frágil²¹.

Estudio de trombofilias

La trombofilia hereditaria, como el factor V Leiden, mutación del gen de la protrombina (PT 20210A), y las deficiencias de los anticoagulantes naturales proteína C, proteína S, antitrombina, se asocian con aborto recurrente. La existencia de una relación causal entre la trombofilia hereditaria y el fracaso del embarazo es controvertido²². Esta combinación es más fuerte para las muertes fetales tardías, con más de 20 semanas de gestación, que para las pérdidas recurrentes incipientes. El alto coste de las pruebas sugiere que no debería ser realizada de forma

Tabla 5 Recomendaciones de estudio genético en la mujer

Estudio	Recomendación	Indicaciones
Cariotipo en sangre periférica	Alta	- Sospecha de reserva funcional ovárica inadecuada para la edad de la paciente: fallo ovárico oculto, amenorrea primaria,... - Fenotipo sugestivo de cromosomopatía - Dos o más abortos con la pareja actual o anteriores parejas - Antecedentes familiares de primer grado de cromosomopatía - Cuando la indicación de técnicas de reproducción asistida avanzada (FIV/ICSI) sea por esterilidad primaria de origen desconocido - Fracaso reiterado de FIV o ICSI, sin causa aparente que lo justifique: fallo de fecundación, desarrollo embrionario anómalo, fallo de implantación
	Moderada	- Desconocimiento total de los antecedentes familiares - Cuando la indicación de técnicas de reproducción asistida avanzada (FIV/ICSI) no sea por esterilidad primaria de origen desconocido - Antecedentes de aneuploidias en abortos con pareja actual o anterior
Cariotipo en abortos	Moderada	- Ante un aborto
Variación en el número de copias array-CGH	Baja	- Individualizar según contexto clínico
Estudio molecular de <i>CFTR</i>	Alta	- Pareja portador de mutación de la fibrosis quística - Antecedentes familiares de fibrosis quística y está identificada la mutación
Estudio de X frágil	Moderada	- Consanguinidad
	Alto	- Fallo ovárico precoz idiopático - Antecedentes familiares de varones con retraso mental no filiado - Antecedentes familiares de X frágil - Antecedentes familiares de fallo ovárico precoz - Antecedentes familiares de síndrome de temblor ataxia
	Moderado	- Fallo ovárico idiopático. - Pacientes jóvenes con baja respuesta en las TRA - Antecedentes familiares de retraso mental sin filiar
Estudio molecular del factor II, factor V y <i>MTHFR</i>	Bajo	- En el marco de una investigación clínica de trombofilias: Factor II y Factor V - Tras detectar hiperhomocistinemia: <i>MTHFR</i>
Detección masiva de enfermedades recesivas	Moderado	- Parejas consanguíneas - Parejas con antecedentes de gestaciones con afecciones severas de herencia recesiva
	Bajo	- Abortos de tercer trimestre - Parejas que se someten a procedimientos de fertilización in vitro

CFTR: cystic fibrosis transmembrane conductance regulator; FIV: fecundación in vitro; ICSI: inyección intracitoplasmática de espermatozoides; TRA: técnicas de reproducción asistida.

rutinaria en mujeres con aborto recurrente excepto en el contexto de los estudios científicos, es decir, se recomienda estudiarlas cuando existe una historia clínica personal o familiar de tromboembolismo venoso²³.

La metilentetrahidrofolato reductasa (*MTHFR*) (CE 1.5.1.20) es una enzima clave en el metabolismo de un carbono. La enzima cataliza la conversión de 5,10-metilentetrahidrofolato en 5-metiltetrahidrofolato, predominando la forma circulante de ácido fólico. Los polimorfismos del gen *MTHFR* se asocian con hiperhomocisteinemia. Por lo tanto, la hiperhomocisteinemia se considera como un factor de riesgo para los defectos del tubo neural y de abortos recurrentes. Los niveles de homocisteína varían dependiendo de la ingesta de ácido fólico y de vitamina B12, siendo la evidencia contradictoria en

cuanto a la hiperhomocisteinemia como factor de riesgo de aborto recurrente. Por lo tanto, las pruebas genéticas para la mutación *MTHFR* no deben ser consideradas como parte de la evaluación de rutina para el aborto recurrente²⁴.

Recomendaciones de estudios genéticos en el varón

El factor masculino de esterilidad está presente hasta en el 50% de las parejas infértiles, por lo tanto cualquier estudio realizado en varones en el marco reproductivo debe ir precedido por un estudio andrológico, que debe incluir al menos la historia clínica, constatando los datos clínicos reflejados en la [tabla 1](#) y el análisis de semen²⁵. Cuanto mayor sea la

Tabla 6 Recomendaciones de estudios genéticos en el varón

Estudio	Recomendación	Indicaciones
Cariotipo en sangre periférica	Alta	Fenotipo sugestivo de cromosomopatía Azoospermia u oligozoospermia severa (ausencia total de espermatozoides en el eyaculado o menor de 5×10^6 /mL) 2 o más abortos con pareja actual o anterior Antecedentes familiares de 1.º grado de cromosomopatías Cuando la indicación de una técnica de reproducción asistida avanzada (FIV/ICSI) sea una esterilidad primaria de origen desconocido o factor masculino severo Fracaso reiterado de FIV o ICSI, sin causa aparente que lo justifique: fallo de fecundación, desarrollo embrionario anómalo, fallo de implantación
	Moderada	Desconocimiento total de antecedentes familiares. Cuando la indicación de técnicas de reproducción asistida avanzada (FIV/ICSI) no sea una esterilidad primaria de origen desconocido, ni factor masculino severo Antecedentes de aneuploidias en abortos con pareja actual o anterior
Variaciones en el número de copias, array-CGH	Baja	Individualizar según contexto clínico
Estudio molecular de <i>CFTR</i>	Alta	Azoospermia Ausencia uni- o bilateral de conductos deferentes Pareja portadora de mutación de la fibrosis quística Antecedentes familiares de fibrosis quística
	Moderada	Consanguinidad
Microdeleciones del cromosoma Y	Alta	Azoospermia Recuento espermático inferior a 5 millones/mL o a 10 millones en el eyaculado total
	Opcional	Oligospermia
Microdeleciones parciales del cromosoma Y (gr/gr)	Moderada	Alteraciones cromosómicas estructurales Azoospermia obstructiva o secretora, o con oligospermia y teratozoospermia En los pacientes que han recibido tratamientos de quimio o radioterapia Parejas con pérdida recurrente de embarazo Cromosomopatía en gestación anterior para descartar origen paterno Fallos de FIV
FISH en espermatozoides		
Estudio de meiosis en tejido testicular	Baja	Individualizar según contexto clínico
Fragmentación del ADN	Baja	Esterilidad de origen desconocido Fallos repetidos con las TRA Calidad embrionaria deficiente Abortos de repetición Episodio febril los 3 meses previos a la TRA Varicocele Varón por encima de los 50 años Infecciones de vía seminal
	Moderada	Parejas consanguíneas Parejas con antecedentes de gestación con afecciones severas de herencia recesiva
La detección masiva de enfermedades recesivas	Baja	Abortos de tercer trimestre Parejas que se someten a procedimientos de fertilización in vitro

desviación de la normalidad en el análisis seminal previo, mayor será la probabilidad de encontrar alteraciones genéticas asociadas, mejorando así tremendamente la eficacia de los análisis genéticos.

La indicación de las pruebas genéticas como alta, moderada o baja en el varón con disfunción en la reproducción se ha clasificado en base a la historia clínica y se presenta en la [tabla 6](#).

Estudios cromosómicos

Las alteraciones cromosómicas constitucionales son la causa más frecuente de la infertilidad masculina, detectado hasta en el 15% de los hombres con azoospermia. Las alteraciones cromosómicas más frecuentes encontradas en los varones incluyen: alteraciones numéricas (síndrome de Klinefelter, síndrome de XXY, mosaicismos del cromosoma X) y alteraciones estructurales (translocaciones recíprocas, translocaciones robertsonianas, marcadores cromosómicos supernumerarios, inversiones, duplicaciones)²⁶.

Estudio molecular de gen *CFTR*

En las alteraciones en la reproducción de causa masculina debidas a azoospermia obstructiva o ausencia congénita bilateral de los vasos deferentes (CBAVD) se demuestran comúnmente las mutaciones del gen *CFTR*²⁷. El 99% de los varones adultos con diagnóstico de FQ presenta ausencia bilateral congénita de los conductos deferentes. La CBAVD también se encuentra en el 1-2% de varones estériles sin FQ.

Aproximadamente el 80% de los pacientes con CBAVD son portadores de dos mutaciones *CFTR*, es decir, heterocigotos compuestos. Los criterios de indicación de estudio molecular del gen *CFTR* son los siguientes: azoospermia, bajo volumen de líquido seminal (menos de 1,5 mL), pruebas bioquímicas características (pH inferior a 7.2, ausencia o disminución de fructosa y de alfa 1-4 glucosidasa), ausencia de vasos deferentes palpables, alteraciones en la ecografía transrectal. Los niveles plasmáticos de hormona foliculoestimulante, hormona luteinizante, y los niveles de testosterona son normales¹⁹.

Microdeleciones del cromosoma Y

Las microdeleciones del brazo largo del cromosoma Y son una de las causas conocidas de esterilidad^{28,29} estando presentes en el 5-12% de los pacientes azoospermicos y en el 1-8% en los pacientes oligospermicos^{29,30}. Existen 3 tipos básicos de microdeleciones completas del cromosoma Y que se clasifican dependiendo de la región afectada en microdeleciones de la región AZFa, de la región AZFb (también llamada P5/proximal P1) y de la región AZFc (b2/b4). Además existen microdeleciones que combinan una pérdida de las regiones de AZFb y de AZFc y que se denominan AZFbc y que a su vez se clasifican en los subtipos P5/distal P1 y P4/distal P1. El tipo más frecuente de microdelección es la AZFc (~80%) seguida de la AZFa (0,5-4%), AZFb (1-5%) y de la AZFbc (1-3%)²⁹. El pronóstico de las microdeleciones AZFa, AZFb y AZFbc en pacientes azoospermicos es malo ya que la posibilidad de recuperar espermatozoides tras TESE puede considerarse nula, por lo que se desaconseja proceder a TESE a estos pacientes²⁹. En contraste, las microdeleciones AZFc del cromosoma Y en pacientes azoospermicos se suele asociar a una espermatogénesis residual permitiendo recuperar espermatozoides tras TESE o micro-TESE en el ~50-80% de los casos. Además de las microdeleciones completas existe también la microdelección parcial de la región AZFc, denominada gr/gr, ya que es un factor de riesgo de oligospermia y cuyo estudio puede estar indicado según EMQN en las poblaciones como la española, para las que

existe información contrastada de que actúa como factor de riesgo, si bien todavía no se ha alcanzado un consenso general entre los expertos, dejando por tanto su posible estudio como "baja"^{29,31,32}. Cuando se detecta una microdelección completa es preciso indicar la realización de un asesoramiento genético previo al tratamiento de reproducción asistida (TRA) ya que, en caso de tener éxito con el TRA, la microdelección será transmitida obligatoriamente al 100% de los posibles hijos varones y a ninguna de las posibles hijas²⁹.

Hibridación in situ fluorescente en espermatozoides

La infertilidad masculina severa se relaciona con una inadecuada división meiótica y con un elevado número de espermatozoides con aneuploidias cromosómicas. Este hecho incrementa los casos de muerte embrionaria así como de anomalías fetales^{33,34}.

En el hombre fértil, aproximadamente el 1% de los espermatozoides del eyaculado presentan aneuploidias cuando se evalúan cinco cromosomas (cromosomas 13, 18, 21, X e Y) mediante hibridación in situ fluorescente (FISH)³⁵, que es una técnica de análisis citogenético que permite visualizar cromosomas concretos o secuencias específicas de estos, mediante su marcaje con sondas de ADN unidas a haptenos fluorescentes, permitiéndonos realizar un análisis indirecto del contenido cromosómico de los espermatozoides en interfase procedentes de eyaculado, epidídimo o testículo.

La inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI)³⁶ ha facilitado la fecundación, incluso en casos de graves defectos de la espermiogénesis, y algunos grupos han informado de un aumento de la incidencia de anomalías en recién nacidos a través de esta TRA, mientras que otros no observan mayor riesgo con su uso. También se han descrito menores tasas de gestación tras ICSI en pacientes con FISH patológicos, así como un incremento de alteraciones cromosómicas en embriones a los que se les realizó diagnóstico genético preimplantatorio.

Estudio de meiosis en tejido testicular

La recombinación meiótica no solo sirve para generar la diversidad genética, sino también cruces de cromosomas homólogos, lo que facilita la correcta segregación de los cromosomas durante la meiosis. Las anomalías en la frecuencia y en la ubicación de los cruces están relacionadas con la no hacer disyunción de cromosomas homólogos y la producción de gametos aneuploides.

La inadecuada separación de los cromosomas durante la meiosis puede resultar en espermatozoides desequilibrados genéticamente. Si estos gametos participan en la fertilización, el embrión resultante puede ser aneuploide, ya sea trisómico o monosómico. La aneuploidia es la anomalía cromosómica más común en los seres humanos, ya que se produce en el 5% de todos los embarazos y en el 0,3% de los nacidos vivos³⁷.

Los estudios sobre la constitución cromosómica de los espermatozoides de los hombres infértiles han demostrado que esta población puede tener un riesgo aumentado de producir espermatozoides aneuploides³⁸.

La incidencia de anomalías sinápticas es de un 6 a un 8%, que puede llegar a un 17,6% en varones con una grave oligozoospermia, y al 27% en los hombres normozoospermicos con uno o más fracasos anteriores de FIV³⁹.

Fragmentación del ADN espermático (DFI)

Se estima que entre un 10 - 15% de los varones con disfunción reproductiva presentan espermogramas normales. Diferentes metaanálisis publicados recientemente coinciden en que parece haber relación entre la fragmentación del ADN espermático y los resultados de las técnicas de reproducción asistida, al igual que sucede con los abortos de repetición⁴⁰. El término "fragmentación del ADN" hace referencia al ADN desnaturalizado o dañado que no puede ser reparado. Su integridad es crucial tanto para la correcta fecundación como para el adecuado desarrollo temprano y tardío del embrión. El ovocito tiene capacidad para reparar parte del daño producido en el ADN espermático, siempre y cuando sea de hebra sencilla. Existen diferentes técnicas de análisis para la detección de este tipo de alteración. En los últimos años están cobrando mayor importancia aquellas que distinguen entre daño de hebra sencilla (reparable) y daño de hebra doble (irreparable). El problema radica en que existen varias técnicas que miden diferentes procesos y cuyos puntos de corte todavía no están bien definidos. La que mejor grado de predictibilidad ha demostrado hasta el momento ha sido el Ensayo COMETA alcalino⁴¹.

La edad avanzada, los hábitos tóxicos, la exposición a sustancias gonadotóxicas (resinas, metales pesados, insecticidas...), pacientes con varicocele, o expuestos a tratamientos de quimio o radioterapia, son más propensos a sufrir un mayor grado de alteración en la fragmentación del ADN espermático.

Existen diferentes estrategias para reducir la fragmentación del DNA: empleo de agentes antioxidantes, disminución del período de abstinencia sexual, o recurrir a técnicas de selección espermática (*selección magnética de espermatozoides no apoptóticos* o la microespectroscopia de Raman).

Pese a todos estos datos, las principales sociedades científicas ESHRE⁴² y ASRM⁴³ no recomiendan por ahora el uso rutinario de este tipo análisis dada la disparidad de resultados publicados.

Recomendaciones de estudios genéticos en las mujeres y en los varones

El tipo de recomendación se presenta en las [tablas 5 y 6](#).

Variaciones en el número de copias

El array-CGH detecta variantes en el número de copias (microdeleciones y microduplicaciones), analiza todo el genoma en profundidad pero no detecta alteraciones estructurales equilibradas. El análisis de genoma con la técnica de array CGH puede ser capaz de identificar nuevos marcadores genéticos para la infertilidad masculina⁴⁴. Sin embargo, en la actualidad se considera como recomendación baja dado que la evidencia disponible es incierta y no permite hacer

recomendaciones a favor o en contra de la prueba genética, salvo en casos que por la historia clínica esté justificado.

La detección masiva de enfermedades recesivas

El cribado antes de la concepción, junto con el asesoramiento genético de portadores, ha dado lugar a notables disminuciones en la incidencia de varias enfermedades recesivas graves en determinadas poblaciones, incluyendo la enfermedad de Tay-Sachs y la fibrosis quística⁴⁵. Estos individuos son asintomáticos y tienen un historial familiar negativo para el trastorno. Existen en el mercado varios tipos de pruebas de cribado de enfermedades recesivas que incluyen alrededor de 400 enfermedades o genes recesivos. Dichas pruebas han de ser adecuadas para la población en estudio, dado que la incidencia de las enfermedades de herencia autosómica recesiva varía considerablemente de unas poblaciones a otras⁴⁶⁻⁴⁸.

La prueba se puede realizar simultáneamente en dos situaciones:

1. Parejas que se someten a procedimientos de fertilización in vitro (FIV)⁴⁹. Las parejas que realizan tratamientos de FIV deben conocer la existencia de estas pruebas y decidir sobre su realización. Así mismo, estas pruebas deben poder realizarse en los donantes de gametos. Se desconoce la eficacia de estos estudios en este grupo de pacientes.
2. Individuos con alto riesgo de trastornos recesivos⁵⁰. En este grupo se incluyen las parejas consanguíneas o con antecedentes de gestaciones con enfermedades severas de herencia recesiva o abortos de tercer trimestre en las que no se ha podido identificar la causa.

En la población general, no existen datos sobre la efectividad de la detección masiva de enfermedades recesivas.

Recomendaciones de estudios genéticos en donación de gametos

Se define el concepto de donación como un hecho voluntario y altruista, que no resulte gravoso para el donante vivo y sin ánimo de lucro, aunque existe, en ciertas ocasiones, una compensación económica por parte de la institución para cubrir gastos y/o inconvenientes en concepto de dietas o ingresos perdidos.

Todas las guías y revisiones consultadas⁵¹⁻⁵⁴ recomiendan seleccionar los donantes sobre la base del conocimiento de su historia clínica y entrevista personal realizada por un profesional médico responsable y conocedor de la materia. Se debe incidir en puntos relevantes para detectar riesgo en la salud a terceros (transmisión de enfermedades) o para su propia salud.

Actualmente todos las donaciones realizadas en nuestro país están reguladas por el Decreto-Ley 9/2014⁵⁵. Además de realizar test serológicos en el donante y en la pareja receptora, es necesaria que en la evaluación del donante se lleve a cabo una evaluación de la carga genética con relación a la existencia de genes autosómicos recesivos según el conocimiento científico y la prevalencia descrita en la etnia del donante. Además se evaluará del riesgo de

transmisión de enfermedades hereditarias conocidas y presentes en la familia. Las diferentes sociedades científicas hablan de la importancia de detectar cualquier alteración genética antes de aceptar a un donante.

La evaluación del donante⁵⁶ se representa en la [tabla 7](#). Con respecto a la atrofia muscular espinal algunas sociedades defienden realizar el estudio de portadores tanto en donante de ovocitos como de semen, basándose en el impacto que supone en las familias afectadas.

Se acepta como donante de gametos, si tras su evaluación, cumple los criterios clínicos y ausencia de alteraciones genéticas en los estudios realizados. Aunque en la actualidad no se suelen hacer otros estudios genéticos más que los indicados en la [tabla 7](#) a los donantes hombres o mujeres, el médico debe de informar a la mujer receptora que técnicamente es posible realizar otros análisis genéticos y que no se hayan realizado y argumentar cuáles son sus limitaciones.

Tabla 7 Valoración del donante

1. Donantes (mujeres u hombres)

- No debe tener enfermedades hereditarias de origen mendeliano
- No debe tener malformaciones mayores de causa compleja poligénica, como la espina bífida o malformaciones cardíacas
- No debe presentar anomalía en el cariotipo de sangre periférica
- No debe tener enfermedades familiares de origen genético, especialmente familiares de primer grado (padres, hermanos e hijos)
- Estudio genético del gen *CFTR*
- Estudiar en los grupos étnicos si son portadores de:

Judíos: enfermedad de Tay-Sachs, enfermedad de Canavan

Afroamericanos: anemia falciforme

Procedencia mediterránea: B-talasemia

Sudoeste Asiático y China: alfa-talasemia

Todos los grupos étnicos: fibrosis quística

- Los familiares de primer grado deben estar libre de:

Desórdenes mendelianos

Malformaciones mayores

Anomalías cromosómicas: en este caso es obligatorio realizar un cariotipo al donante

Si la historia familiar revela un desorden que se puede estudiar mediante pruebas de laboratorio, y es importante que el candidato donador sea aceptado, entonces será apropiado evaluar ese desorden específico

2. Donantes de semen:

- Varón sano y joven
- No existencia de retraso mental de etiología desconocida en familiares de primer grado

3. Donantes de ovocitos:

- Edad entre 18- 35 años

Epigenética y reproducción

Actualmente el conocimiento de los mecanismos epigenéticos y el aumento de las evidencias de cómo modificaciones epigenéticas se relacionan con la enfermedad, hace que este campo esté presente en casi todas las áreas de la medicina, incluyendo la reproducción⁵⁷.

Las modificaciones epigenéticas⁵⁸ que podrían estar implicadas en reproducción se pueden dividir en dos:

- Alteraciones de la impronta.
- Alteraciones de la programación epigenética celular.

El primer mecanismo está relacionado con la reproducción asistida desde hace años, dado que hay autores que refieren un incremento de síndromes epigenéticos, tales como el síndrome de Beckwith-Wiedemann, tras técnicas de reproducción asistida, si bien otros autores no lo confirman⁵⁹.

El segundo mecanismo relaciona enfermedades del adulto en relación con determinados hábitos y estados de nutrición de la madre durante el embarazo. Así, obesidad, diabetes tipo II y enfermedades cardiovasculares estarían relacionadas con alteraciones metabólicas durante el embarazo^{58,60}. Además, en modelos de experimentación animal se ha constatado cómo determinados mRNA de los espermatozoides en respuesta a determinadas situaciones ambientales, pueden modificar epigenéticamente al embrión⁶¹.

En cualquier caso, habrá que esperar unos años para que las evidencias etiopatogénicas y sus mecanismos se conozcan ampliamente de forma que puedan entrar como recomendaciones preconcepcionales y/o futuras pruebas de laboratorio⁶⁰.

Estudios inmunológicos

Las recomendaciones se representan en la [tabla 8](#).

Anatomía inmunológica de la interfase materno-fetal

La distribución de las células inmunológicas en el útero y la expresión de los antígenos (en particular de los antígenos del complejo mayor de histocompatibilidad, HLA) en el trofoblasto son únicos en la gestación y pueden reflejar algunos de los procesos que tienen lugar con el fin de proteger el feto y el trofoblasto en el embarazo normal. Por otra parte, la placenta humana es hemocorial, y la sangre materna (y por tanto, células del sistema inmunitario) se encuentran en contacto directo con tejido embrionario.

Al final del ciclo menstrual (fase lútea), momento en que tiene lugar la implantación embrionaria, siendo la etapa más precoz del embarazo, la mayoría de los linfocitos dominantes en el útero son las células natural killer (uNK), con fenotipo CD56^{bright}, grandes productoras de citoquinas y factores de crecimiento y con baja citotoxicidad NK, esenciales en la invasión del endometrio, en la angiogénesis de las arterias uterinas y en la placentación. Contrasta con las células NK de sangre periférica (pNK) dominantes, que muestran un fenotipo CD16⁺CD56^{dim} y que son citotóxicas y bajas

Tabla 8 Grado de recomendaciones de estudio inmunológico e indicaciones

Recomendación	Estudios	Indicaciones
Alta	Anticuerpos antifosfolipídicos y SAF obstétrico Alteraciones del tiroides	- Abortos recurrentes (≥ 2 abortos consecutivos de causa desconocida) - Muerte fetal (desde una muerte fetal, de causa desconocida) - Fallo de implantación recurrente (fracaso de implantación tras transferencia de 6 embriones de buena calidad o 4 embriones derivados de ovodonación) - Preeclampsia en embarazo previo, eclampsia - Prematuridad en embarazo previo de causa no filiada - Crecimiento intrauterino retardado de causa desconocida
Moderada	Enfermedad celiaca Genotipo KIR materno y HLA-C de la pareja/donante. Expansión de células NK circulantes. Alteraciones de células uNK. Linfocitos T reguladores	- Abortos recurrentes - Preeclampsia y eclampsia - Fallo de implantación recurrente
Baja	Desequilibrio proinflamatorio (ratio IFN-g/IL-10; TNF-alpha/IL-10; Th1/Th2/Th17)	- Esterilidad de origen desconocido - Abortos recurrentes - Fallo de implantación recurrente

productoras de citoquinas. En el trofoblasto veloso, que comprende la mayor parte de la placenta, no existe ninguna expresión de moléculas de HLA. En cambio, en el trofoblasto extraveloso, que se localiza en la base del anclaje veloso y del trofoblasto endovascular cerca de las células deciduales inmunocompetentes, existe una expresión de HLA-C, -E y -G (pero no -A ni -B). Las uNK presentan receptores para el HLA-C y -G embrionarios y tanto las HLA-G ligadas a la membrana como las solubles parecen modificar *in vitro* la citotoxicidad de las células NK y la producción de citoquinas. Además, la placenta parece permitir la transferencia feto-materna de células inmunocompetentes en ambos sentidos, lo que parece desempeñar un papel importante en el mantenimiento de la tolerancia fetal por parte de la madre.

La composición única de las células inmunológicas y de los antígenos en la interfase materno-fetal ha llevado a distintas hipótesis sobre la interacción entre las células uNK y las moléculas HLA del trofoblasto, como estabilizadoras del embarazo normal. La prueba fundamental del reconocimiento específico de antígenos fetales por parte del sistema inmunitario adaptativo materno ocurre a través de células T reguladoras (Treg) uterinas con el fin de prevenir el rechazo anti-HLA.

Síndrome antifosfolipídico

Desde un punto de vista clínico, los anticuerpos antifosfolipídicos (aFL) se consideran como el factor de riesgo adquirido más frecuente en la pérdida recurrente del embarazo. Es una causa tratable de la pérdida gestacional recurrente, por lo tanto, su diagnóstico y tratamiento pueden evitar complicaciones obstétricas y en el puerperio tanto en la madre como en el feto asociadas con los aFL.

El síndrome antifosfolipídico (SAP) es un trastorno autoinmune sistémico caracterizado por manifestaciones clínicas como trombosis venosas o arteriales, trombocitopenia y/o

complicaciones obstétricas. Las complicaciones del embarazo relacionadas con el SAP incluyen tanto complicaciones maternas (preeclampsia/eclampsia) como fetales (pérdida temprana o retardada y crecimiento intrauterino retardado y prematuridad). Los criterios de laboratorio incluyen la presencia de anticuerpos IgG e IgM frente a la cardiolipina (aCL), sus proteínas plasmáticas asociadas, predominantemente anticuerpos IgG e IgM frente a la beta2-glicoproteína ($\beta 2$ GPI) o bien la presencia de anticoagulante lúpico (LA). Los criterios de clasificación de SAP incluyen un criterio clínico y un criterio de laboratorio.

Además, hay casos de SAP obstétrico en los que hay una respuesta inflamatoria primaria inducida por los aFL⁶²⁻⁶⁶. Algunos pacientes con SAP no tienen evidencias de ninguna enfermedad asociada definida (SAP primario), mientras que en otros pacientes el SAP ocurre en asociación con lupus eritematoso sistémico u otras enfermedades reumáticas o autoinmunes (SAP secundario).

El hipotiroidismo no controlado

El hipotiroidismo se asocia con un amplio espectro de trastornos reproductivos que van desde el desarrollo sexual anormal a irregularidades menstruales e infertilidad. En las mujeres en edad fértil, la autoinmunidad tiroidea es, sin duda, la causa más común de hipotiroidismo y, en la mayoría de los pacientes se encuentran anticuerpos frente a la peroxidasa tiroidea^{67,68}. Los receptores de hormonas tiroideas se expresan en ovocitos humanos^{69,70}, presentando las mujeres con anticuerpos antitiroideos una menor tasa de fecundación, menor tasa de implantación y de embarazo. Un estudio reciente ha puesto de relieve la importancia de los anticuerpos antitiroideos positivos (ATA, antiperoxidasa y antitiroglobulina) con relación a riesgo de aborto tras FIV-TE en comparación con las ATA negativas⁷¹, compatible con un estudio previo de esta misma asociación⁷².

La enfermedad celiaca no conocida

La enfermedad celiaca es una enfermedad autoinmune que se caracteriza por una respuesta inmunológica al gluten de la dieta, con tasas de prevalencia estimada en adultos de 0,2 al 1% en Estados Unidos y Europa⁶². Estudios recientes y preliminares asocian la enfermedad celiaca no conocida con aborto recurrente y fracaso de implantación recurrente⁷³.

Alteraciones de células NK uterinas y en sangre periférica

El fenotipo y función de las células NK en sangre y endometrio es muy diferente como se ha mencionado y numerosas investigaciones en los últimos años se han focalizado sobre el estudio de estas poblaciones en la infertilidad⁷⁴. Ambas poblaciones expresan diferentes receptores estimuladores e inhibidores en su superficie cuyo balance inducirá una respuesta tolerogénica o bien citotóxica.

Diversos estudios han relacionado alteraciones en el fenotipo de las células uNK con la pérdida gestacional recurrente y morbilidad obstétrica, fundamentalmente preeclampsia y eclampsia⁷⁵⁻⁷⁸. Sin embargo, su valor clínico como predictor de fallo reproductivo es controvertido, debido, entre otros factores, a las variaciones de estas células durante el ciclo⁷⁹.

Numerosos estudios han relacionado una expansión de las células pNK en comparación con controles normales y mujeres embarazadas con pérdida gestacional recurrente, como un marcador subrogado de posible causa subyacente inmunológica e inflamatoria⁸⁰⁻⁸². Estudios observacionales han propuesto que las células NK CD56⁺dimCD16⁺ (citotóxicas) y NKT son un biomarcador pronóstico de fallo gestacional recurrente^{83,84}, aunque se requieren estudios más extensos para su validación.

Desregulación de respuestas Th1/Th2 y Th17/Treg

El fallo gestacional recurrente idiopático se ha asociado con desregulaciones de las citoquinas en sangre periférica o en la interfase materno-fetal hacia un perfil proinflamatorio de respuesta T predominante Th1 y Th17⁸⁵⁻⁹¹ frente a la gestación normal, en la que hay un predominio de citoquinas Th2 y Treg. En la primera parte del embarazo, la población de Treg es tres veces superior en la decidua que en sangre periférica, en la que también se expanden. Se ha asociado la disminución de Treg en la decidua y en sangre periférica con el fallo gestacional recurrente, sugiriendo su relevante papel en el mantenimiento del embarazo y en la supresión de la activación de linfocitos maternos hacia el feto alógeno⁹²⁻⁹⁶. Debe tenerse en cuenta que, como en otros estudios de laboratorio, el principal problema actual de estas pruebas es la estandarización de la técnica y el establecimiento de puntos de corte para esta afección.

Antígenos HLA y genotipo KIR materno

Los trabajos de Hiby et al. propusieron que la placentación está regulada por interacciones entre los receptores tipo inmunoglobulina de las células uNK (KIR) maternos y sus

ligandos con las moléculas de HLA-C del embrión. La molécula de HLA-C es la más polimórfica de las moléculas HLA expresadas en el trofoblasto extraveloso y esta interacción parece bloquear la citotoxicidad de las células NK frente al trofoblasto. Los KIR expresados en la superficie de células NK pueden ser activadores o inhibidores y el balance entre ambas señales determina la actividad efectora de las células NK.

Combinaciones específicas del genotipo y fenotipo de KIR materno y el genotipo HLA-C de ambos padres son más prevalentes en mujeres con preeclampsia y abortos recurrentes^{97,98} y lo mismo sucede en parejas con FIR. Esto conlleva una elevada citotoxicidad frente a las células del trofoblasto. Recientemente, numerosos estudios sugieren que determinadas combinaciones del genotipo KIR materno y del HLA-C de ambos padres puede servir como indicador pronóstico de fallo gestacional recurrente autoinmune de fallo de implantación⁹⁹⁻¹⁰⁵.

Lectina de unión a manosa

La lectina de unión a manosa es una vía de activación del sistema del complemento. La base genética de la deficiencia de lectina de unión a manosa y sus efectos en el embarazo todavía no han sido establecidos, pero recientemente diferentes autores han propuesto que una deficiencia en lectina de unión a manosa puede estar relacionada con problemas reproductivos como corioamnionitis histológica, abortos recurrentes, preeclampsia y prematuridad. Sin embargo, más investigaciones son necesarias para entender la completa implicación que tiene esta deficiencia en la disfunción reproductiva^{106,107}.

Declaración

Estas recomendaciones fueron desarrolladas en el marco de las sociedades científicas participantes y de expertos, como un servicio a sus miembros y a la práctica de los médicos. Aunque este documento refleja un tratamiento apropiado que se encuentra en la práctica de la medicina reproductiva, no es la intención de ser el único estándar de la práctica aprobado o que sirva para dictar un curso exclusivo de tratamiento. Pueden existir otras formas de estudiar casos, teniendo en cuenta las necesidades del paciente, los recursos disponibles, y las limitaciones prácticas institucionales o clínicas.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

1. Sykiotis GP, Plummer L, Hughes VA, Au M, Durrani S, Nayak-Young S, et al. Oligogenic basis of isolated gonadotropin-releasing hormone deficiency. *Proc Natl Acad Sci* [Internet]. 2010;107:15140-4, <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1009622107>.
2. Juan C. Cigudosa, Pablo Lapunzina, Coords., Consenso para la Implementación de los Arrays [CGH y SNP-arrays] en la Genética Clínica. [Internet]. Disponible en: <http://instituto-roche.es/Formacion/Publicaciones/158>.

3. Alonso Cerezo C, Cañadas Gálvez MC, de la Fuente Hernández LA, García-Ochoa C, García Sagredo JM, González Villafañez V, et al. Recomendaciones para el estudio genético de la pareja con alteraciones en la reproducción. *Rev Lab Clínico* [Internet]. 2009;2:196–203. Disponible en: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1888400809000774>
4. Bostrom N, Roache R. Human enhancement: ethical issues in human enhancement. En: Ryberg J, Petersen TS, Wolf C, editores. *New waves in applied ethics*. Palgrave Macmillan; 2007.
5. Winand R, Hens K, Dondorp W, de Wert G, Moreau Y, Vermeesch JR, et al. In vitro screening of embryos by whole-genome sequencing: now, in the future or never? *Hum Reprod Oxf Engl*. 2014;29:842–51.
6. Ethics Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Use of reproductive technology for sex selection for nonmedical reasons. *Fertil Steril*. 2015;103:1418–22.
7. Suthers GK, Armstrong J, McCormack J, Trott D. Letting the family know: balancing ethics and effectiveness when notifying relatives about genetic testing for a familial disorder. *J Med Genet*. 2006;43:665–70.
8. Clarke A. Should families own genetic information? No. *BMJ*. 2007;335:23.
9. Seoane Rodríguez JA. From genetic privacy to the right to genetic data protection. Basic protection of genetic data in Spanish law (regarding SSTC290/2000 and 292/2000, of November 30) (II). *Rev Derecho Genoma Hum Law Hum Genome Rev*. 2002;17:135–75.
10. Savulescu J. Procreative beneficence: why we should select the best children. *Bioethics*. 2001;15:413–26.
11. Savulescu J, Pugh J, Douglas T, Gyngell C. The moral imperative to continue gene editing research on human embryos. *Protein Cell*. 2015;6:476–9.
12. AGREE Next Steps Consortium (2009). *El Instrumento AGREE II Versión electrónica*. [consultado 20 Jul 2017]. Disponible en: <http://www.agreetrust.org>; Versión en español: <http://www.guiasalud.es>
13. Nussbaum RL, McInnes RR, Willard HF. Thompson & Thompson Genetics in Medicine, 8th ed. Philadelphia: Elsevier; 2015. 560 p.
14. Zorrilla M, Yatsenko AN. The genetics of infertility: Current status of the field. *Curr Genet Med Rep*. 2013;1.
15. Hogge WA, Byrnes AL, Lanasa MC, Surti U. The clinical use of karyotyping spontaneous abortions. *Am J Obstet Gynecol*. 2003;189:400–2, 397.
16. Lewis-Jones DI, Gazvani MR, Mountford R. Cystic fibrosis in infertility: screening before assisted reproduction: opinion. *Hum Reprod Oxf Engl*. 2000;15:2415–7.
17. Leiden Open Variation Database 3.0, Locus Specific Database list [Internet]. [citado 17 Oct 2016]. Disponible en: <http://grenada.lumc.nl/LSDB.list/lsdbs/CFTR>
18. Castellani C, Cuppens H, Macek M, Cassiman JJ, Kerem E, Durie P, et al. Consensus on the use and interpretation of cystic fibrosis mutation analysis in clinical practice. *J Cyst Fibros Off J Eur Cyst Fibros Soc*. 2008;7:179–96.
19. Dequeker E, Stuhmann M, Morris MA, Casals T, Castellani C, Claustres M, et al. Best practice guidelines for molecular genetic diagnosis of cystic fibrosis and CFTR-related disorders—updated European recommendations. *Eur J Hum Genet EJHG*. 2009;17:51–65.
20. Bretherick KL, Fluker MR, Robinson WP. FMR1 repeat sizes in the gray zone and high end of the normal range are associated with premature ovarian failure. *Hum Genet*. 2005;117:376–82.
21. Machado-Ferreira MC, Costa-Lima MA, Boy RT, Esteves GS, Pimentel MMG. Premature ovarian failure and FMR1 premutation co-segregation in a large Brazilian family. *Int J Mol Med*. 2002;10:231–3.
22. McNamee K, Dawood F, Farquharson R. Recurrent miscarriage and thrombophilia: an update. *Curr Opin Obstet Gynecol*. 2012;24:229–34.
23. Laurino MY, Bennett RL, Saraiya DS, Baumeister L, Doyle DL, Leppig K, et al. Genetic evaluation and counseling of couples with recurrent miscarriage: recommendations of the National Society of Genetic Counselors. *J Genet Couns*. 2005;14:165–81.
24. Creus M, Deulofeu R, Peñarrubia J, Carmona F, Balasch J. Plasma homocysteine and vitamin B12 serum levels, red blood cell folate concentrations, C677T methylenetetrahydrofolate reductase gene mutation and risk of recurrent miscarriage: a case-control study in Spain. *Clin Chem Lab Med*. 2013;51:693–9.
25. WHO | WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen [Internet]. WHO. [citado 17 Oct 2016]. Disponible en: <http://www.who.int/reproductivehealth/publications/infertility/9789241547789/en/>
26. O'Flynn O'Brien KL, Varghese AC, Agarwal A. The genetic causes of male factor infertility: a review. *Fertil Steril*. 2010;93:1–12.
27. Wosnitzer MS. Genetic evaluation of male infertility. *Transl Androl Urol*. 2014;3:17–26.
28. Skaletsky H, Kuroda-Kawaguchi T, Minx PJ, Cordum HS, Hillier L, Brown LG, et al. The male-specific region of the human Y chromosome is a mosaic of discrete sequence classes. *Nature*. 2003;423:825–37.
29. Krausz C, Hoefsloot L, Simoni M, Tüttelmann F. European Academy of Andrology. European Molecular Genetics Quality Network. EAA/EMQN best practice guidelines for molecular diagnosis of Y-chromosomal microdeletions: state-of-the-art 2013. *Andrology*. 2014;2:5–19.
30. Oliva R, Margarit E, Ballescà JL, Carrió A, Sánchez A, Milà M, et al. Prevalence of Y chromosome microdeletions in oligospermic and azoospermic candidates for intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril*. 1998;70:506–10.
31. de Llanos M, Ballescà JL, Gázquez C, Margarit E, Oliva R. High frequency of gr/g chromosome Y deletions in consecutive oligospermic ICSI candidates. *Hum Reprod Oxf Engl*. 2005;20:216–20.
32. Krausz C, Giachini C, Xue Y, O'Bryan MK, Gromoll J, Rajpert-de Meyts E, et al. Phenotypic variation within European carriers of the Y-chromosomal gr/g deletion is independent of Y-chromosomal background. *J Med Genet*. 2009;46:21–31.
33. Hansen M, Kurinczuk JJ, Milne E, de Klerk N, Bower C. Assisted reproductive technology and birth defects: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update*. 2013;19:330–53.
34. Lie RT, Lyngstadaas A, Ørstavik KH, Bakketeig LS, Jacobsen G, Tanbo T. Birth defects in children conceived by ICSI compared with children conceived by other IVF-methods; a meta-analysis. *Int J Epidemiol*. 2005;34:696–701.
35. Sarrate Z, Anton E. Fluorescence in situ hybridization (FISH) protocol in human sperm. *J Vis Exp JoVE*. 2009;31.
36. Nicopoulos JDM, Gilling-Smith C, Almeida PA, Homa S, Nice L, Tempest H, et al. The role of sperm aneuploidy as a predictor of the success of intracytoplasmic sperm injection? *Hum Reprod Oxf Engl*. 2008;23:240–50.
37. Hassold T, Abruzzo M, Adkins K, Griffin D, Merrill M, Millie E, et al. Human aneuploidy: incidence, origin, and etiology. *Environ Mol Mutagen*. 1996;28:167–75.
38. Ferguson KA, Wong EC, Chow V, Nigro M, Ma S. Abnormal meiotic recombination in infertile men and its association with sperm aneuploidy. *Hum Mol Genet*. 2007;16:2870–9.

39. Egozcue J, Sarrate Z, Codina-Pascual M, Egozcue S, Oliver-Bonet M, Blanco J, et al. Meiotic abnormalities in infertile males. *Cytogenet Genome Res.* 2005;111:337–42.
40. Robinson L, Gallos ID, Conner SJ, Rajkhowa M, Miller D, Lewis S, et al. The effect of sperm DNA fragmentation on miscarriage rates: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Oxf Engl.* 2012;27:2908–17.
41. Simon L, Castillo J, Oliva R, Lewis SEM. Relationships between human sperm protamines. DNA damage and assisted reproduction outcomes. *Reprod Biomed Online.* 2011;23:724–34.
42. Barratt CLR, Aitken RJ, Björndahl L, Carrell DT, de Boer P, Kvist U, et al. Sperm DNA: organization, protection and vulnerability: from basic science to clinical applications—a position report. *Hum Reprod Oxf Engl.* 2010;25:824–38.
43. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. The clinical utility of sperm DNA integrity testing: a guideline. *Fertil Steril.* 2013;99:673–7.
44. Song S-H, Shim SH, Bang JK, Park JE, Sung SR, Cha DH. Genome-wide screening of severe male factor infertile patients using BAC-array comparative genomic hybridization (CGH). *Gene.* 2012;506:248–52.
45. Kingsmore S. Comprehensive carrier screening and molecular diagnostic testing for recessive childhood diseases. *PLoS Curr.* 2012, e4f9877ab8ffa9.
46. Tanner AK, Valencia CA, Rhodenizer D, Espirages M, da Silva C, Borsuk L, et al. Development and performance of a comprehensive targeted sequencing assay for pan-ethnic screening of carrier status. *J Mol Diagn JMD.* 2014;16:350–60.
47. Edwards JG, Feldman G, Goldberg J, Gregg AR, Norton ME, Rose NC, et al. Expanded carrier screening in reproductive medicine—points to consider: a joint statement of the American College of Medical Genetics and Genomics, American College of Obstetricians and Gynecologists, National Society of Genetic Counselors, Perinatal Quality Foundation, and Society for Maternal-Fetal Medicine. *Obstet Gynecol.* 2015;125:653–62.
48. Grody WW, Thompson BH, Gregg AR, Bean LH, Monaghan KG, Schneider A, et al. ACMG position statement on prenatal/preconception expanded carrier screening. *Genet Med Off J Am Coll Med Genet.* 2013;15:482–3.
49. Abulí A, Boada M, Rodríguez-Santiago B, Coroleu B, Veiga A, Armengol L, et al. NGS-Based Assay for the identification of individuals carrying recessive genetic mutations in reproductive medicine. *Hum Mutat.* 2016;37:516–23.
50. Yao R, Goetzinger KR. Genetic carrier screening in the twenty-first century. *Clin Lab Med.* 2016;36:277–88.
51. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine, Practice Committee of the Society for Assisted Reproductive Technology. 2006 Guidelines for Gamete and Embryo Donation. *Fertil Steril.* 2006; 86(5 Suppl 1):S38–50.
52. Association of Biomedical Andrologists, Association of Clinical Embryologists, British Andrology Society, British Fertility Society, Royal College of Obstetricians and Gynaecologists. UK guidelines for the medical and laboratory screening of sperm, egg and embryo donors (2008). *Hum Fertil Camb Engl.* 2008;11:201–10.
53. ESHRE Position Papers [Internet]. [citado 18 Oct 2016]. Disponible en: <https://www.eshre.eu/Guidelines-and-Legal/ESHRE-Position-Papers.aspx>.
54. Magli MC, van den Abbeel E, Lundin K, Royere D, van der Elst J, Gianaroli L, et al. Revised guidelines for good practice in IVF laboratories. *Hum Reprod [Internet].* 2008;23:1253–62. Disponible en: <http://humrep.oxfordjournals.org/lookup/doi/10.1093/humrep/den068>
55. BOE.es - Documento BOE-A-2014-7065 [Internet]. [citado 18 Oct 2016]. Disponible en: <https://www.boe.es/diario.boe/txt.php?id=BOE-A-2014-7065>.
56. Documentos ASEBIR [Internet]. Asebir. 2016 [citado 18 Oct 2016]. Disponible en: <http://asebir.com/documentos-asebir/>
57. Lazaraviciute G, Kauser M, Bhattacharya S, Haggarty P, Bhattacharya S. A systematic review and meta-analysis of DNA methylation levels and imprinting disorders in children conceived by IVF/ICSI compared with children conceived spontaneously. *Hum Reprod Update.* 2015;21:555–7.
58. Eriksson JG. Epidemiology, genes and the environment: lessons learned from the Helsinki Birth Cohort Study. *J Intern Med.* 2007;261:418–25.
59. Tee L, Lim DH, Dias RP, Baudement MO, Slater AA, Kirby G, et al. Epimutation profiling in Beckwith-Wiedemann syndrome: relationship with assisted reproductive technology. *Clin Epigenetics.* 2013;5:23.
60. Dominguez-Salas P, Moore SE, Baker MS, Bergen AW, Cox SE, Dyer RA, et al. Maternal nutrition at conception modulates DNA methylation of human metastable epialleles. *Nat Commun.* 2014;5:3746.
61. Yao Y, Robinson AM, Zucchi FCR, Robbins JC, Babenko O, Kovalchuk O, et al. Ancestral exposure to stress epigenetically programs preterm birth risk and adverse maternal and newborn outcomes. *BMC Med.* 2014;12:121.
62. Mooney PD, Hadjivassiliou M, Sanders DS. Coeliac disease. *BMJ.* 2014;348, g1561.
63. Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, Branch DW, Brey RL, Cervera R, et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *J Thromb Haemost JTH.* 2006;4:295–306.
64. Galarza-Maldonado C, Kourilovitch MR, Pérez-Fernández OM, Gaybor M, Cordero C, Cabrera S, et al. Obstetric antiphospholipid syndrome. *Autoimmun Rev.* 2012;11:288–95.
65. Cohen D, Berger SP, Steup-Beekman GM, Bloemenkamp KWM, Bajema IM. Diagnosis and management of the antiphospholipid syndrome. *BMJ.* 2010;340:c2541.
66. Drakeley AJ, Quenby S, Farquharson RG. Mid-trimester loss—appraisal of a screening protocol. *Hum Reprod Oxf Engl.* 1998;13:1975–80.
67. Artini PG, Uccelli A, Papini F, Simi G, di Berardino OM, Ruggiero M, et al. Infertility and pregnancy loss in euthyroid women with thyroid autoimmunity. *Gynecol Endocrinol Off J Int Soc Gynecol Endocrinol.* 2013;29:36–41.
68. Bussen S, Steck T, Dietl J. Increased prevalence of thyroid antibodies in euthyroid women with a history of recurrent in-vitro fertilization failure. *Hum Reprod Oxf Engl.* 2000;15:545–8.
69. Poppe K, Velkeniers B. Female infertility and the thyroid. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2004;18:153–65.
70. Revelli A, Casano S, Piane LD, Grassi G, Gennarelli G, Guidetti D, et al. A retrospective study on IVF outcome in euthyroid patients with anti-thyroid antibodies: effects of levothyroxine, acetyl-salicylic acid and prednisolone adjuvant treatments. *Reprod Biol Endocrinol RBE.* 2009;7:137.
71. Zhong Y, Ying Y, Wu H, Zhou C, Xu Y, Wang Q, et al. Relationship between antithyroid antibody and pregnancy outcome following in vitro fertilization and embryo transfer. *Int J Med Sci.* 2012;9:121–5.
72. Kim CH, Chae HD, Kang BM, Chang YS. Influence of antithyroid antibodies in euthyroid women on in vitro fertilization-embryo transfer outcome. *Am J Reprod Immunol N Y N.* 1989 1998;40:2–8.
73. Ludvigsson JF, Montgomery SM, Ekblom A. Celiac disease and risk of adverse fetal outcome: a population-based cohort study. *Gastroenterology.* 2005;129:454–63.
74. Vacca P, Mingari MC, Moretta L. Natural killer cells in human pregnancy. *J Reprod Immunol.* 2013;97:14–9.
75. Park DW, Lee HJ, Park CW, Hong SR, Kwak-Kim J, Yang KM. Peripheral blood NK cells reflect changes in decidual NK cells

- in women with recurrent miscarriages. *Am J Reprod Immunol N Y N*. 1989; 2010;63:173–80.
76. Aoki K, Kajiura S, Matsumoto Y, Ogasawara M, Okada S, Yagami Y, et al. Preconceptional natural-killer-cell activity as a predictor of miscarriage. *Lancet Lond Engl*. 1995;345:1340–2.
 77. Fukui A, Funamizu A, Yokota M, Yamada K, Nakamura R, Fukushima R, et al. Uterine and circulating natural killer cells and their roles in women with recurrent pregnancy loss, implantation failure and preeclampsia. *J Reprod Immunol*. 2011;90:105–10.
 78. Tuckerman E, Mariee N, Prakash A, Li TC, Laird S. Uterine natural killer cells in peri-implantation endometrium from women with repeated implantation failure after IVF. *J Reprod Immunol*. 2010;87:60–6.
 79. Moffett A, Shreeve N. First do no harm: uterine natural killer (NK) cells in assisted reproduction. *Hum Reprod Oxf Engl*. 2015;30:1519–25.
 80. Lee SK, Na BJ, Kim JY, Hur SE, Lee M, Gilman-Sachs A, et al. Determination of clinical cellular immune markers in women with recurrent pregnancy loss. *Am J Reprod Immunol N Y N*. 1989; 2013;70:398–411.
 81. Thum MY, Bhaskaran S, Abdalla HI, Ford B, Sumar N, Shehata H, et al. An increase in the absolute count of CD56dimCD16+CD69+ NK cells in the peripheral blood is associated with a poorer IVF treatment and pregnancy outcome. *Hum Reprod Oxf Engl*. 2004;19:2395–400.
 82. Ramos-Medina R, García-Segovia Á, León JA, Alonso B, Tejera-Alhambra M, Gil J, et al. New decision-tree model for defining the risk of reproductive failure. *Am J Reprod Immunol N Y N*. 1989 2013;70:59–68.
 83. Boyson JE, Rybalov B, Koopman LA, Exley M, Balk SP, Racke FK, et al. CD1d and invariant NKT cells at the human maternal-fetal interface. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002;99:13741–6.
 84. Ito K, Karasawa M, Kawano T, Akasaka T, Koseki H, Akutsu Y, et al. Involvement of decidual V α 14 NKT cells in abortion. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000;97:740–4.
 85. Lin H, Mosmann TR, Guilbert L, Tuntipopipat S, Wegmann TG. Synthesis of T helper 2-type cytokines at the maternal-fetal interface. *J Immunol Baltim Md*. 1993;151:4562–73.
 86. Saito S. Cytokine network at the feto-maternal interface. *J Reprod Immunol*. 2000;47:87–103.
 87. Raghupathy R, Makhseed M, Azizieh F, Omu A, Gupta M, Farhat R. Cytokine production by maternal lymphocytes during normal human pregnancy and in unexplained recurrent spontaneous abortion. *Hum Reprod Oxf Engl*. 2000;15:713–8.
 88. Raghupathy R, Makhseed M, Azizieh F, Hassan N, Al-Azemi M, Al-Shamali E. Maternal Th1- and Th2-type reactivity to placental antigens in normal human pregnancy and unexplained recurrent spontaneous abortions. *Cell Immunol*. 1999;196:122–30.
 89. Heikkinen J, Möttönen M, Alanen A, Lassila O. Phenotypic characterization of regulatory T cells in the human decidua. *Clin Exp Immunol*. 2004;136:373–8.
 90. Kwak-Kim JYH, Chung-Bang HS, Ng SC, Ntrivalas EI, Mangubat CP, Beaman KD, et al. Increased T helper 1 cytokine responses by circulating T cells are present in women with recurrent pregnancy losses and in infertile women with multiple implantation failures after IVF. *Hum Reprod Oxf Engl*. 2003;18:767–73.
 91. Saito S, Nakashima A, Shima T, Ito M. Th1/Th2/Th17 and regulatory T-cell paradigm in pregnancy. *Am J Reprod Immunol N Y N*. 1989; 2010;63:601–10.
 92. Nakashima A, Ito M, Shima T, Bac ND, Hidaka T, Saito S. Accumulation of IL-17-positive cells in decidua of inevitable abortion cases. *Am J Reprod Immunol N Y N*. 1989 2010;64:4–11.
 93. Nakashima A, Shima T, Inada K, Ito M, Saito S. The balance of the immune system between T cells and NK cells in miscarriage. *Am J Reprod Immunol N Y N*. 1989 2012;67:304–10.
 94. Alijotas-Reig J, Melnychuk T, Gris JM. Regulatory T cells, maternal-foetal immune tolerance and recurrent miscarriage: new therapeutic challenging opportunities. *Med Clin (Barc)*. 2015;144:265–8.
 95. Sasaki Y, Sakai M, Miyazaki S, Higuma S, Shiozaki A, Saito S. Decidual and peripheral blood CD4+CD25+ regulatory T cells in early pregnancy subjects and spontaneous abortion cases. *Mol Hum Reprod*. 2004;10:347–53.
 96. Wang W-J, Hao C-F, Qu Q-L, Wang X, Qiu L-H, Lin Q-D. The deregulation of regulatory T cells on interleukin-17-producing T helper cells in patients with unexplained early recurrent miscarriage. *Hum Reprod Oxf Engl*. 2010;25:2591–6.
 97. Hiby SE, Walker JJ, O'Shaughnessy KM, Redman CWG, Carrington M, Trowsdale J, et al. Combinations of maternal KIR and fetal HLA-C genes influence the risk of preeclampsia and reproductive success. *J Exp Med*. 2004;200:957–65.
 98. Chazara O, Xiong S, Moffett A, Maternal KIR. and fetal HLA-C: a fine balance. *J Leukoc Biol*. 2011;90:703–16.
 99. Tilburgs T, Scherjon SA, van der Mast BJ, Haasnoot GW, Voort-Maarschalk Versteeg-V.D.F.M., Roelen DL, et al. Fetal-maternal HLA-C mismatch is associated with decidual T cell activation and induction of functional T regulatory cells. *J Reprod Immunol*. 2009;82:148–57.
 100. Varla-Leftherioti M. Role of a KIR/HLA-C allorecognition system in pregnancy. *J Reprod Immunol*. 2004;62:19–27.
 101. Hong Y, Wang X, Lu P, Song Y, Lin Q. Killer immunoglobulin-like receptor repertoire on uterine natural killer cell subsets in women with recurrent spontaneous abortions. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2008;140:218–23.
 102. Hiby SE, Regan L, Lo W, Farrell L, Carrington M, Moffett A. Association of maternal killer-cell immunoglobulin-like receptors and parental HLA-C genotypes with recurrent miscarriage. *Hum Reprod Oxf Engl*. 2008;23:972–6.
 103. Alecsandru D, Garrido N, Vicario JL, Barrio A, Aparicio P, Requena A, et al. Maternal KIR haplotype influences live birth rate after double embryo transfer in IVF cycles in patients with recurrent miscarriages and implantation failure. *Hum Reprod [Internet]*. 2014;29:2637–43 [citado 27 Mar 2017] Disponible en: <https://academic.oup.com/humrep/article-lookup/doi/10.1093/humrep/deu251>
 104. Morin SJ, Treff NR, Tao X, Scott RT, Franasiak JM, Juneau CR, et al. Combination of uterine natural killer cell immunoglobulin receptor haplotype and trophoblastic HLA-C ligand influences the risk of pregnancy loss: a retrospective cohort analysis of direct embryo genotyping data from euploid transfers. *Fertil Steril [Internet]*. 2017;107 [citado 27 Mar 2017] 677–683.e2. Disponible en: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0015028216630728>
 105. Moffett A, Chazara O, Colucci F, Johnson MH. Variation of maternal KIR and fetal HLA-C genes in reproductive failure: too early for clinical intervention. *Reprod Biomed Online [Internet]*. 2016;33:763–9 [citado 27 Mar 2017] Disponible en: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1472648316305028>
 106. Germain SJ, Sacks GP, Sooranna SR, Soorana SR, Sargent IL, Redman CW. Systemic inflammatory priming in normal pregnancy and preeclampsia: the role of circulating syncytiotrophoblast microparticles. *J Immunol Baltim Md* 1950. 2007;178:5949–56.
 107. Christiansen OB, Nielsen HS, Lund M, Steffensen R, Varming K. Mannose-binding lectin-2 genotypes and recurrent late pregnancy losses. *Hum Reprod Oxf Engl*. 2009;24:291–9.