



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIO DE POSGRADO

CENTRO MÉDICO NACIONAL "20 DE NOVIEMBRE"
ISSSTE

**AMBIENTE HIPERANDROGÉNICO CON LETROZOLE COMO
ESTIMULADOR DEL DESARROLLO DE FOLÍCULOS
ANTRALES EN PACIENTES BAJA RESPONDEDORAS
COMO PREPARACIÓN DE UN CICLO DE ESTIMULACIÓN
OVÁRICA**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO EN:

BIÓLOGO DE LA REPRODUCCIÓN HUMANA

PRESENTA

DRA. FABIOLA NARES AMEZCUA

TUTOR

DR. FRANCISCO JAVIER CEDILLO DIAZ



MÉXICO, DF

FEBRERO 2010



ISSSTE



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
FACULTAD DE MEDICINA

SERVICIO DE REPRODUCCIÓN HUMANA
CENTRO MEDICO NACIONAL "20 DE NOVIEMBRE" ISSSTE

TESIS DE POSGRADO
PARA OBTENER EL TITULO DE
BIOLOGO DE LA REPRODUCCIÓN HUMANA

**AMBIENTE HIPERANDROGENICO CON LETROZOLE COMO ESTIMULADOR
DEL DESARROLLO DE FOLICULOS ANTRALES EN PACIENTES BAJA
RESPONDEDORAS COMO PREPARACION DE UN CICLO DE ESTIMULACION
OVARICA**

PRESENTA:
DRA. FABIOLA NARES AMEZCUA

TUTOR:
DR. FRANCISCO JAVIER CEDILLO DIAZ

MEXICO, D.F. FEBRERO 2010

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
FACULTAD DE MEDICINA
CENTRO MEDICO NACIONAL "20 DE NOVIEMBRE" ISSSTE

**AMBIENTE HIPERANDROGENICO CON LETROZOLE COMO ESTIMULADOR
DEL DESARROLLO DE FOLICULOS ANTRALES EN PACIENTES BAJA
RESPONDEDORAS COMO PREPARACION DE UN CICLO DE ESTIMULACION
OVARICA**

TESIS
PARA OBTENER EL TITULO DE
BIOLOGO DE LA REPRODUCCIÓN HUMANA

PRESENTA:

DRA. FABIOLA NARES AMEZCUA

TUTOR:

DR. FRANCISCO JAVIER CEDILLO DIAZ

MEXICO, D.F. FEBRERO 2010

CENTRO MEDICO NACIONAL "20 DE NOVIEMBRE" ISSSTE

DR. MAURICIO DI SILVIO LÓPEZ
Subdirector de enseñanza e investigación

DR. DANIEL MORENO GARCÍA
Profesor Titular de Posgrado en Reproducción Humana

DR. FRANCISCO JAVIER CEDILLO DIAZ
Tutor de tesis

DRA. FABIOLA NARES AMEZCUA
Autor de Tesis

AGRADECIMENTOS

Agradezco a Dios por todo lo que me ha brindado... Por ponerme en el camino correcto, donde he encontrado a todos y todo lo que me ha impulsado a seguir adelante.

INDICE

AGRADECIMIENTOS.....	4
INDICE	5
MARCO TEORICO.....	6
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	30
JUSTIFICACIÓN.....	31
HIPÓTESIS.....	31
OBJETIVOS.....	32
MATERIAL Y MÉTODOS.....	33
RESULTADOS.....	35
CONCLUSIONES.....	39
BIBLIOGRAFÍA.....	40

MARCO TEÓRICO

La necesidad fundamental de preservar la especie constituye la base de la función del ovario, que en este sentido se presenta como un medio para alcanzar un ovulo capaz de ser fertilizado.

Las células germinales primordiales se originan en el endodermo del saco vitelino. Desde la semana 6 a la 7 el número de ovogónias se acerca a 10, 000 y hacia la semana 8 de vida intrauterina las divisiones mitóticas aumentan el número total de ovogónias a 600 000. Desde este momento la población de ovogónias está sujeta a 3 procesos simultáneos: mitosis, meiosis y atresia de las ovogónias, como resultado del impacto de estos 3 procesos, es decir la mitosis contrarrestada con la meiosis y la atresia de los ovogónias, el número de células germinales asciende a 6 a 7 millones de células germinales a la semana 20 de gestación. Desde la mitad de la gestación en adelante un desgaste irreversible disminuye la población de células germinales de las gónadas. No obstante una vez que la atresia se ha desencadenado disminuye la cuenta hasta la menopausia, teniendo una reserva de 1 a 2 millones de células germinales al nacimiento. En consecuencia las niñas recién nacidas comienzan su vida sin conocer su potencial reproductivo y después de haber perdido aproximadamente un 80% de su población de células germinales cuentan aproximadamente con 300 000 en la pubertad. Solo 400 a 500 de estos folículos (menos del 1%) ovularán en el transcurso de su vida reproductiva. (fig 1)

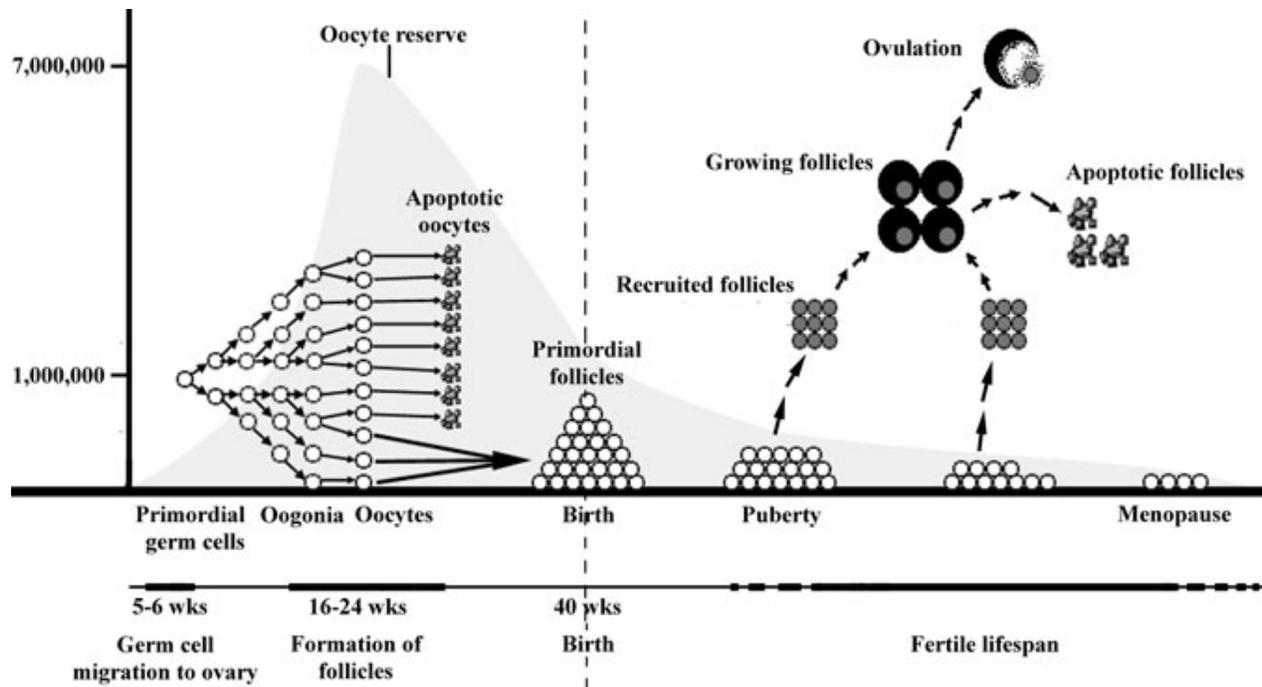


fig. 1

DESARROLLO FOLICULAR

El desarrollo folicular está dado por la transformación de un folículo ovárico en un cuerpo lúteo. Los folículos determinan una línea de desarrollo que impulsa la unidad folicular primordial a transformarse a folículos antrales preovulatorios altamente diferenciados. Los folículos se dividen en:

1.- Folículos primordiales:

(30 a 60 nm de diámetro) compuestos por un ovocito diploide primario rodeados por una única capa de células precursoras de las células de la granulosa aplanadas no cuboideas.

2.- Folículos Primarios

(menos de 60 nm de diámetro): Caracterizados por un ovocito primario rodeado por una única capa de células de la granulosa cuboideas.

3.- folículos secundarios:

(menores o igual a 120nm): Compuestos por un ovocito primario rodeado por numerosas estratos de células de la granulosa cuboideas. (fig 2)

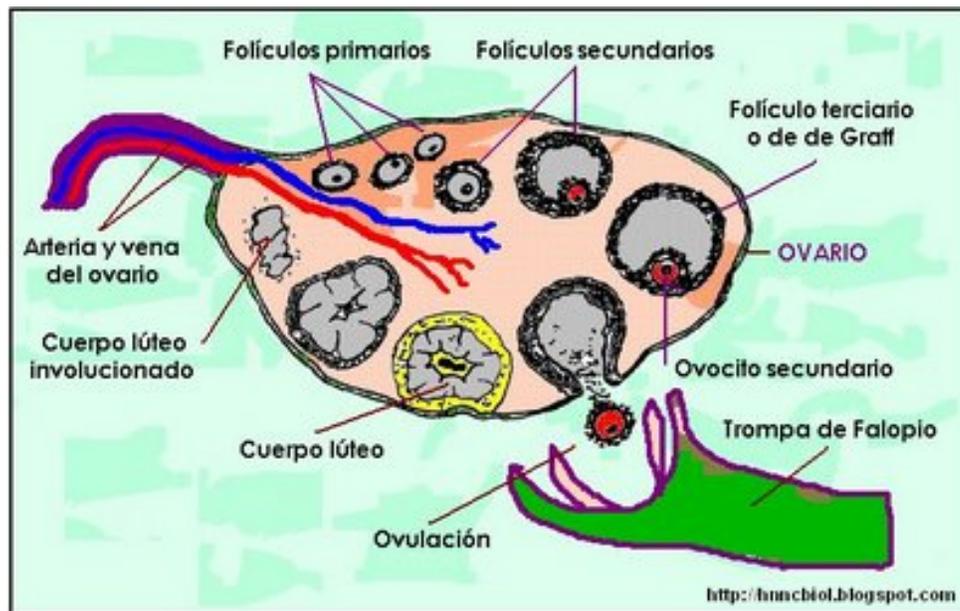
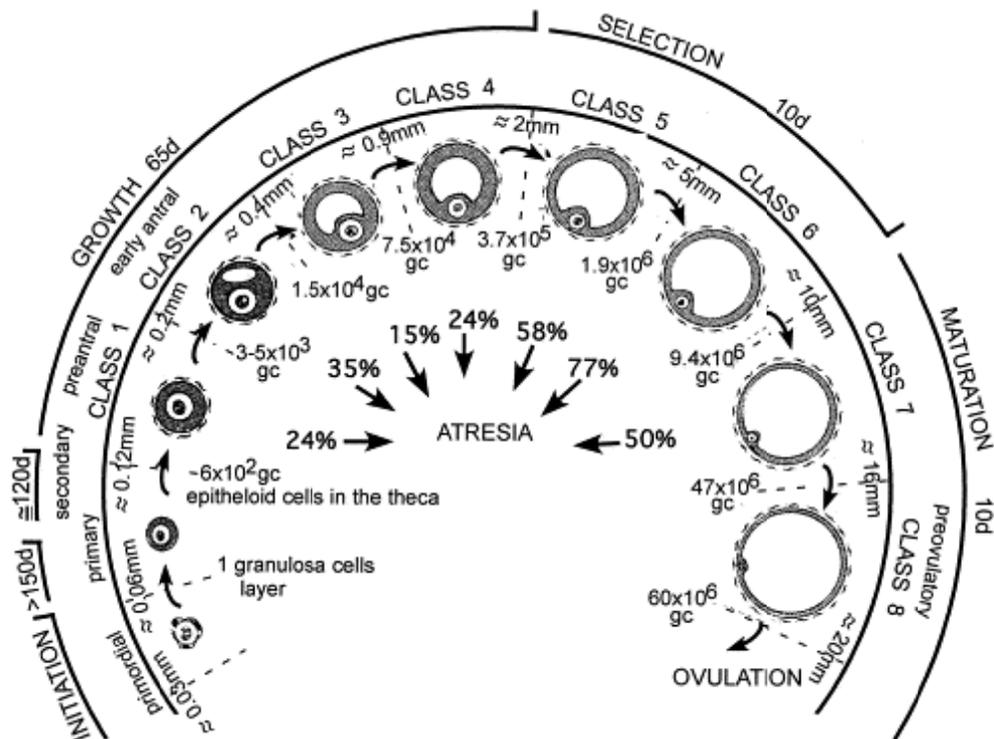


Fig 2 Desarrollo folicular.

De acuerdo con Gougeon las distintas clases de folículos, definidos por las distintas capas de células de la granulosa representan las distintas fases del

desarrollo que un folículo debe transitar en su camino hasta llegar a la madurez.
(fig 3).



La figura 3. Folliculogénesis y clasificación del desarrollo de folículos en el ovario humano según a Gougeon (1996). Folículos crecientes clase 2 generalmente en la última fase luteínica, clase 3 entre luteínica tardía y fase folicular temprana, clase 4 durante la última fase folicular. Clase 5 durante la última fase luteínica.

OVARIO EN LA PUBERTAD

En la pubertad la corteza ovárica contiene centenares de millares de folículos primordiales. En la fase independiente de gonadotrofinas centenares de folículos primordiales se reclutan en respuesta a señales desconocidas para crecer. En 3 a 6 meses los folículos desarrollan receptores para FSH en las células de la granulosa y los receptores de LH en las células de la teca y el folículo forma un espacio lleno de fluido llamado antro, los folículos en etapa antral llegan a ser dependientes de gonadotrofinas.

En la corteza del ovario al nacimiento existen millares de oocitos envueltos en una sola capa de células de la granulosa formando el folículo primordial. Esta reserva de folículos primordiales se agota ya sea por atresia o por la entrada al reclutamiento en cada ciclo con desarrollo de un solo folículo dominante mismo que tiene la probabilidad de ser fecundado. Esto significa que en cada ciclo menstrual hay consumo folicular hasta agotarse y llegar a la menopausia.

OVARIO ADULTO

Durante toda la vida reproductiva, el ovario se basa en la reserva de folículos. Un pequeño número de folículos continuamente sale de la piscina de folículos en reposo y empezar a crecer. Las primeras etapas de la foliculogénesis es muy lenta. Si bien la hora exacta en que los folículos alcanzan la etapa preantral es desconocida, se ha estimado que en los seres humanos el proceso puede tardar más de 90 días. Una de las razones de esto es el tiempo de duplicación de las células de la granulosa (~ 250 h.). Después el folículo comienza a aumentar de

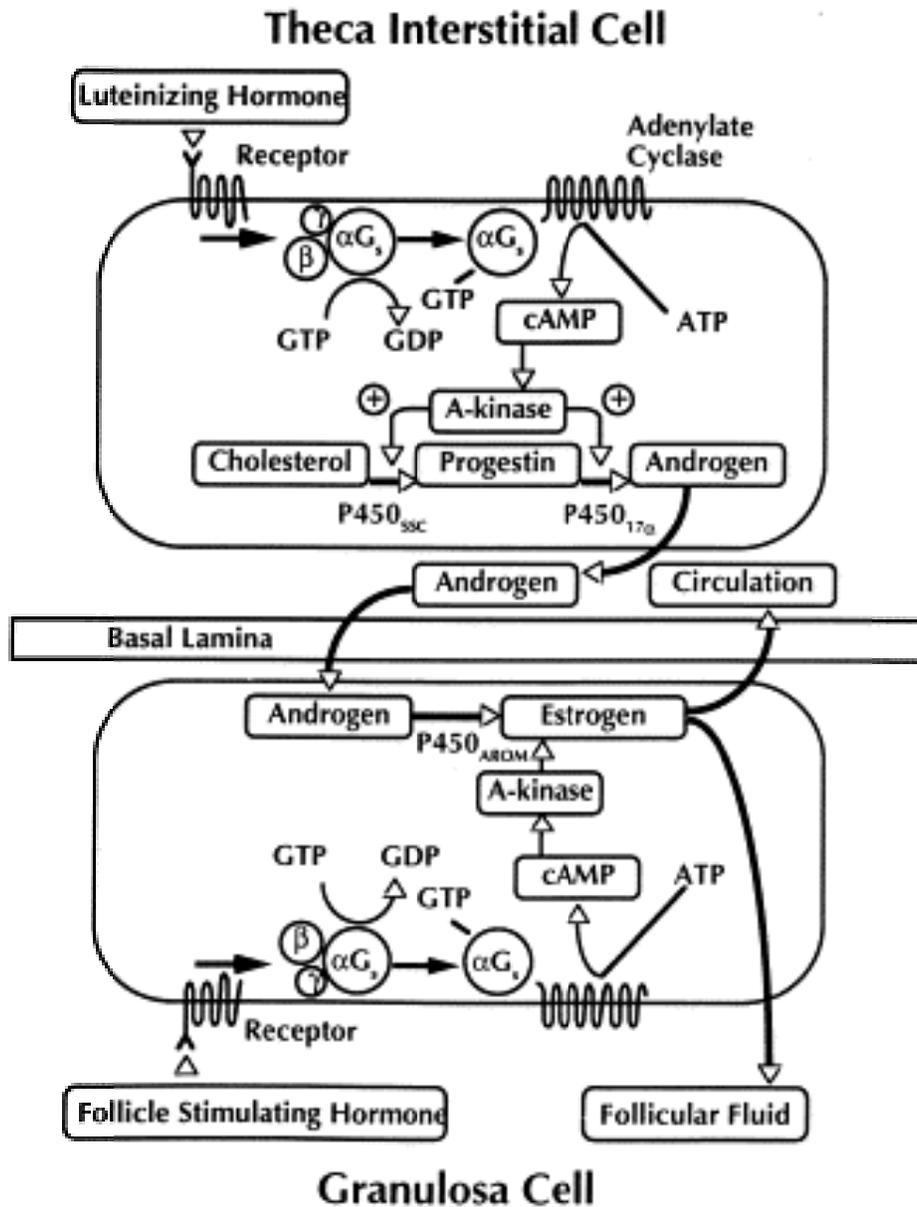
tamaño, tanto por la proliferación de las células granulosa y por el crecimiento de el ovocito. Este proceso es al menos parcialmente guiado por un gen para un factor denominado factor de diferenciación de crecimiento 9 (GDF-9).

Cuando los folículos alcanzan el tamaño donde contienen capas de tres a seis de las células granulosa, el tejido conectivo circundante estratifica y se distingue en dos partes. La parte exterior, la Teca Extensa, es básicamente similar al tejido estromal que lo rodean. En la parte interior, Teca Interna, las células estromales se diferencian en células epitelioides. En esta etapa, el folículo se define como un folículo preantral. Ya en esta etapa, una proporción considerable de folículos no sobreviven, y ellos degeneran mediante un proceso denominado atresia folicular. Después de la etapa primaria del folículo, las gonadotropinas especialmente FSH, son cada vez más importantes para sostener el crecimiento folicular.

REGULACIÓN HORMONAL DEL CRECIMIENTO FOLICULAR

Después de las etapas iniciales, el crecimiento y desarrollo folicular son provocados por la acción combinada de FSH y LH sobre las células foliculares. FSH y LH se enlazan a sus receptores específicos en la superficie de células intersticiales de la granulosa y la teca, respectivamente. La activación de FSH y LH estimula la mitosis y la diferenciación en células de la teca interna y la granulosa. Además las gonadotropinas tienen dos efectos endocrinos principales. La primera es que la acción de la FSH y la LH estimulan la producción de estradiol específicamente en el folículo dominante. Según la teoría de las dos

células, tanto las gonadotropinas como las células de la granulosa y la teca interna tienen una tarea específica en este proceso. (fig 4)



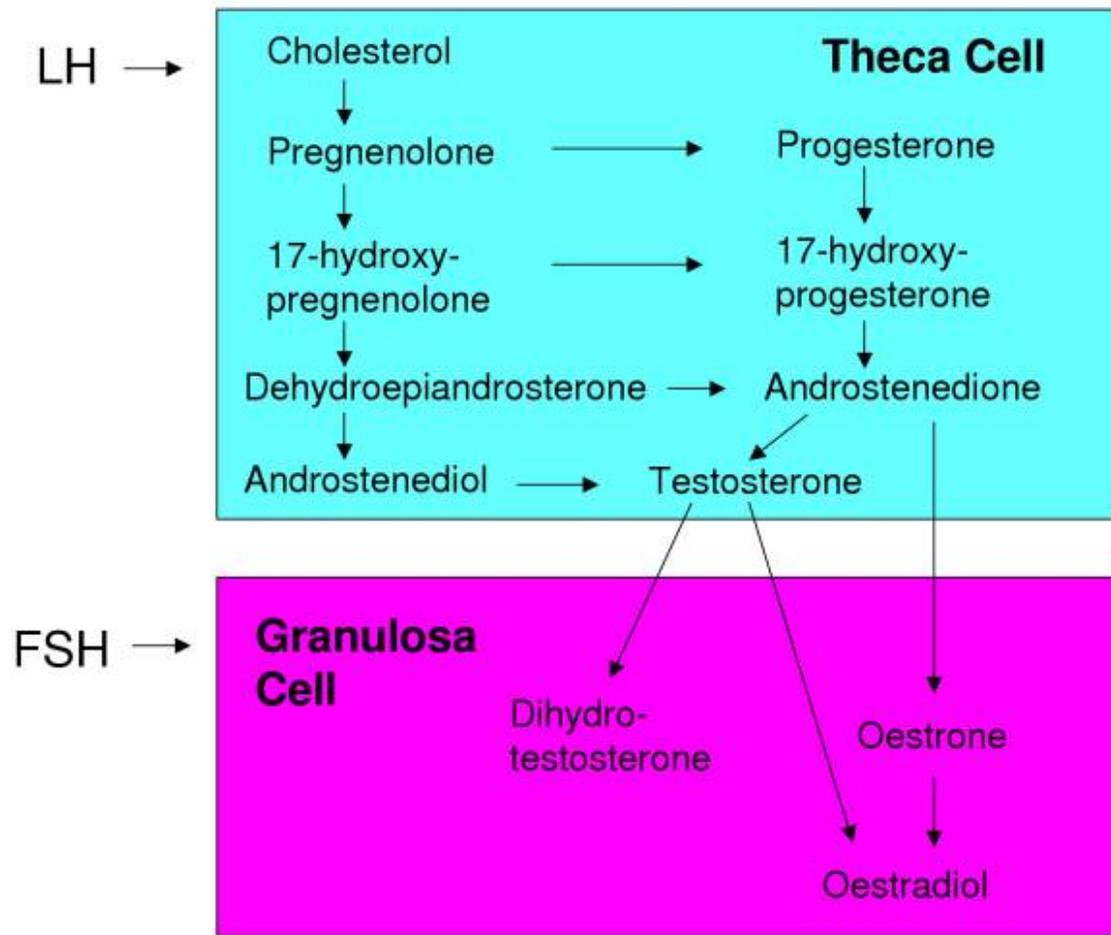
La figura 4. Teoría de las dos células . LH induce la síntesis de androstenediona en la teca. Impulsada por el estímulo de FSH, las células de la granulosa procesan androstenediona en estrona y en estradiol por la enzima 17HSD .

CUERPO LÚTEO

Después de la ovulación, se contrae el folículo dominante y da forma al cuerpo lúteo del producto. La principal función del Cuerpo Lúteo es producir progesterona para preparar el endometrio para la implantación. Durante los ciclos menstruales normales este proceso es impulsado por la LH. En el caso de embarazo, el cuerpo lúteo produce progesterona para el mantenimiento del embarazo hasta que la placenta sea capaz. Si no se produce la fertilización el cuerpo lúteo experimenta una regresión que da lugar para permitir desarrollo folicular, y la ovulación en el próximo ciclo ovario. Esto da una esperanza de vida de 12–16 días para el Cuerpo Lúteo durante los ciclos menstruales normales.

ESTEROIDES EN EL DESARROLLO FOLICULAR

Los esteroides sexuales juegan un papel importante en el crecimiento y diferenciación de los tejidos reproductivos y en el mantenimiento de la fertilidad. Producidos *de novo* del colesterol, las progestinas, andrógenos y estrógenos son sintetizados por el ovario en forma secuencial, cada uno actúa como sustrato para el otro. El modelo de las dos células describe el papel de las células de la granulosa y de la teca en la producción de esteroides, destacando la cooperación entre los dos tipos de células, que es necesaria para la producción de estrógenos.(fig 5)



La transducción de señales de estas hormonas en general, requieren la unión y activación de un ligando-receptor específico, no se puede dissociar estos componentes fácilmente y asignar roles definitivos. La señal de hormonas esteroideas a través de receptores nucleares para regular la transcripción de eventos. Estos receptores forman parte de una superfamilia de receptores nucleares, todos los cuales contienen elementos estructurales comunes . Estos incluyen un dominio vinculante ADN (DBD), un moderadamente conservadas vinculante dominio ligando (LBD) y 2 dominios de activación , AF1 se encuentra en el dominio A / B, y en el dominio AF2 E / F (Figura 6)

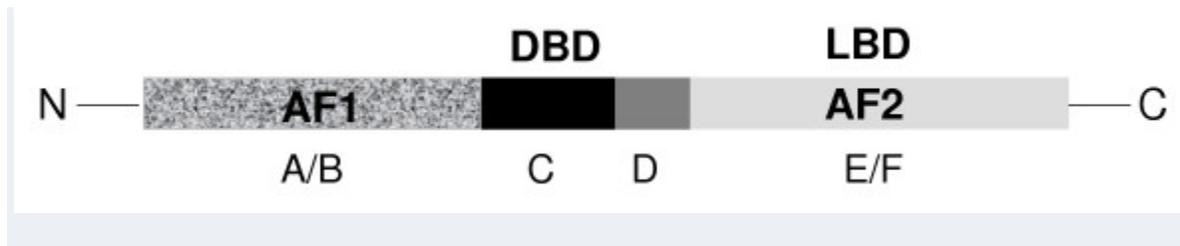


Figura 6 ESTRUCTURA DEL RECEPTOR HORMONAL

Estos receptores se componen de 5 dominios: de la estructura-función etiquetados A-F que la región N-terminal que contiene los dominios A/B, la DNA el dominio obligatorio (DBD) contiene el dominio C, la región de la bisagra contiene el dominio D y el dominio obligatorio del ligando (LBD) en el extremo del C-terminal contiene los dominios E/F. Los dominios AF1 y AF2 de Transcripción se encuentran en la región del N-terminal y el LBD, respectivamente.

LOS ANDROGENOS

Los andrógenos, principalmente androstenediona y la testosterona, son producidos por las células de la teca en respuesta a LH. Actúan a través de los receptores de andrógenos (RA) localizados en las células de la granulosa, y en las células del estroma. Los andrógenos predominantemente actúan en las células de la granulosa e inician acciones dependiendo de la condición de desarrollo del folículo. La expresión de los receptores androgénicos es más alta en las células de la granulosa: preantral y folículos antrales de ovarios de primates, preantral y principios de los pequeños folículos antrales de ovarios de ratas, pequeños folículos antrales de ovarios porcinos, preantral a principios de Folículos antrales de ovarios bovinos y secundaria y dominante de los folículos ovarios humanos. La expresión de los receptores androgénicos puede ser influenciada por factores secretados por el ovocito. Tetsuka y colegas informaron que un gradiente de

receptores androgénicos existía en folículos grandes de los ovarios de rata, con células del cumulus y células de la granulosa con menor expresión en las capas periféricas.

En las primeras etapas de la foliculogénesis, los andrógenos parecen promover el crecimiento folicular. La administración de testosterona a las ovejas preñadas y, por tanto, el tratamiento prenatal de fetos con andrógenos, dirigido a la disminución del número de folículos primordiales y el aumento de número de folículos en otras fases de desarrollo, lo que indica que el aumento de testosterona aumenta el reclutamiento folicular. Dado que la testosterona puede ser aromatizada a estrógenos en esta etapa de desarrollo, es difícil determinar si esto es un efecto directo de la testosterona o un efecto indirecto, a modo de sustrato para proporcionar aromatización. En los monos rhesus hembra androgenizados con testosterona en la fase prenatal originan grandes folículos y ovarios poliquísticos que se asemejan a los ovarios que se encuentran en las mujeres con síndrome de ovario poliquístico (SOP). El diámetro de folículos preantrales de ratón cultivados *in vitro* durante cuatro días, ya sea con la testosterona, la dihidrotestosterona, la androstenediona, dehidroepiandrosterona o sulfato de dehidroepiandrosterona, indican la ampliación y proliferación de las células granulosa. Más recientemente, la dihidrotestosterona ha demostrado que aumenta la proliferación de células de la granulosa porcina, potenciando los efectos de los factores, muy probablemente GDF9, secretada por ovocitos *in vitro*. En primates tratados con andrógenos a corto plazo, el aumento del número de folículos preantrales y pequeños folículos antrales estuvieron presentes en el

ovario y la teca siendo objeto de hipertrofia. En los cerdos, el número de folículos preovulatorios y cuerpo lúteo se incrementaron durante el tratamiento con testosterona o dihidrotestosterona durante la fase folicular. Durante el final del desarrollo preovulatorio, los receptores androgénicos disminuyen en la mayoría de los mamíferos, a excepción de los seres humanos y los andrógenos son metabolizados y ejercen efectos directos sobre la foliculogénesis.

Aparte de los efectos sobre el crecimiento folicular, los andrógenos han mostrado que mejoran la hormona folículo estimulante (FSH) mediada por la diferenciación de las células de la granulosa, como se indica por el aumento en la producción de progesterona y estradiol y desempeñan funciones en la maduración de los ovocitos. *In Vitro*, la testosterona induce la maduración de los ovocitos de ratón detenido en la meiosis, a través de un mecanismo independiente de transcripción. La adición de flutamida, un antagonista de RA, bloquea la maduración. Se ha informado de efectos estimulantes de la dihidrotestosterona en la expresión RNAm del receptor de FSH preovulatorio de folículos de cerdas jóvenes, FSH y testosterona en la expresión de RNAm del receptor de los primates en folículos primarios. Estos estudios sugieren que los andrógenos pueden facilitar la respuesta de los folículos a la FSH. Componentes de la IGF-I de ovario sistema de señalización han demostrado ser regulados por los andrógenos. IGF-1 y IGF-1 y el receptor RNAm. La amplia localización de la IGF-1 y IGF-1 RNAm y del receptor (células de la granulosa, teca, ovocitos y células intersticiales) sugiere una amplia gama de funciones de los andrógenos en la función ovárica.

Los andrógenos también han demostrado que impiden el desarrollo folicular, el aumento de la atresia folicular en ratas inmaduras cebadas, y en los tratados con estrógenos en ratas inmaduras hipofisectomizadas . Los andrógenos estimulan la FSH-LH y estimula la expresión del receptor de las células de la granulosa y la modulación de la apoptosis, mejoran el proceso en la rata , pero se demuestra una correlación negativa con los receptores de andrógenos indicativos de los efectos sobre la reducción de la granulosa por apoptosis, en el mono rhesus.

En los seres humanos, el hiperandrogenismo es un clásico síntoma de síndrome de ovario poliquístico. Las anomalías de la esteroidogénesis por el ovario son responsables del exceso de andrógenos, que se cree que el impacto sobre el nivel y la distribución de la adiposidad en pacientes con SOP y predisponen a la resistencia a la insulina y anovulación. Se cree que las células de la teca en SOP no responden a regulación a la baja por gonadotropinas y no permite la producción de andrógenos. La hipertrofia de la teca, que se produce en los ovarios de pacientes con SOP exacerba el problema. Las pruebas para el hiperandrogenismo y la anovulación de pacientes con SOP viene de los pacientes tratados con antiandrogenos (flutamida). La cual después de seis meses de tratamiento, restableció la ovulación. Además, cuando la terapia hormonal para la inducción de la ovulación (clomifeno y folitropinas) se complementó con acetato de ciproterona, (un antiandrógeno), la ovulación y las tasas de embarazo fueron más altas . Estos informes no obstante, son contrarrestadas por un estudio en el que el antiandrogeno, nilutamida, no estimula la ovulación en pacientes con SOP anovulatorias. La naturaleza quística de los ovarios SOP se ha reproducido en la

rata inmadura con el fin de determinar por qué se produce anovulación. La degradación del colágeno de la pared folicular en la ovulación es esencial para la liberación de ovocitos. Se investigó el papel de las metaloproteinasas de la matriz (MMP), que degradan colágeno y lisina oxidasa (LOX), una cruz enlazadora de colágeno y elastina que normalmente participan en la reparación o reconstrucción de colágeno. El estudio estableció que, en respuesta a los andrógenos, se redujo significativamente la actividad de MMP2 mientras que la actividad de LOX fue significativamente mayor, lo que indica que el colágeno desglosa el folículo y la ruptura podría ser inhibida, lo que explica la citogénesis que se produce en pacientes con SOP. Es evidente que los mecanismos que conducen a la anovulación en un subgrupo de pacientes con SOP son complejos y no se comprenden totalmente. Recientes criterios de la definición de SOP indican que el ovario debe contener 12 o más folículos, 2-9 mm de diámetro, de ovario o de volumen superior a 10 cm³. Se cree que el prematuro desarrollo de folículos en los ovarios de SOP es debido a los elevados niveles de andrógenos. El apoyo a esta hipótesis proviene de los primates en el estudio examinado anteriormente. Los folículos desarrollados se han detenido, teniendo ciclos anovulatorios en SOP. Se cree que niveles elevados de andrógenos activan la muerte celular en folículos preantrales. Los bajos niveles de la aromataza en folículos atrésicos fomentan la conversión de andrógenos a dihidrotestosterona en lugar de los estrógenos, lo que perpetúa el exceso de andrógenos. Estudios recientes de Maciel y colegas proponen una alternativa a la teoría de andrógenos estimulado el crecimiento folicular, que es, en realidad, el crecimiento folicular más lento en pacientes con SOP los ovarios que causan la existencia de folículos primarios. Un

número significativamente mayor de folículos primarios, secundarios y folículos Graaf se encontraron en pacientes con SOP en comparación con ovarios normales, es decir los folículos en la que el ovocito está rodeado por una sola capa de las células cubicas de la granulosa. No hay cambios en el numero de folículos primordiales o el número de folículos atrécicos en pacientes con SOP, añadiendo peso a la teoría.

Una de las más importantes funciones desempeñadas por los andrógenos en el ovario está en la síntesis de estrógenos. Los andrógenos sirven como sustratos de P450 aromatasa, que media la conversión a estrógenos.

Clasificación de la anovulación de la OMS

Mujeres que sufren un defecto a nivel del hipotálamo/hipófisis . deficientes de estrógeno con FSH normal o baja o los niveles de prolactina. Normalmente tienen amenorrea y no sangran en respuesta a progestinas. Por lo general requieren infusiones de GnRH pulsátil o gonadotropinas inyectables.

Las mujeres del grupo II no son estrógeno deficiente. Sus niveles de FSH y prolactina son normales. Normalmente experimentan oligomenorrea, pero puede tener ciclos anovulatorios o amenorrea con sangrado en respuesta a progestinas. Esto es el tipo más común de anovulación e incluye a las mujeres con síndrome de ovario poliquístico (SOP). Para este grupo, agentes orales como

sensibilizadores de insulina, CC o más recientemente IA son útiles para la inducción de la ovulación.

Las mujeres del Grupo III incluyen aquellos con elevados gonadotropinas secundarias a insuficiencia ovárica primaria debido principalmente a disminución de la reserva ovárica y la pérdida de folículos ováricos. Son resistentes a diversos métodos de estimulación ovárica y el mejor enfoque para la infertilidad es ovocito donación.

BAJA RESPUESTA OVOCITARIA

Las pacientes baja respondedoras representan un grupo heterogéneo. La parte más importante consiste en pacientes mayores ≥ 38 años donde la disminución fisiológica de la piscina folicular ofrece menos folículos disponibles para la maduración. La reducción del número de folículos es un proceso dinámico que se inicia en la vida intrauterina, continúa a lo largo de la vida de las mujeres y declina más drásticamente entre la edad de 36 y 38. Esta aceleración de la tasa de atresia folicular temporalmente está relacionada con el descenso potencial de fertilidad y un aumento simultáneo en anomalías nucleares del ovocito observando mayor número de aneuploidias. Sin embargo, la tasa de agotamiento ovocitario es muy variable, así como el comienzo de la menopausia. Por lo tanto, mientras que algunas mujeres de edad sorprendente responden bien a la estimulación ovarica, algunas mujeres jóvenes responden inesperadamente mal como causa de un

agotamiento folicular prematuro. Representando el segundo grupo más frecuente de bajas respondedoras.

La reserva ovárica reducida se relaciona de forma similar, con los de niveles de E2, teniendo una disminución de folículos y ovocitos recuperados, independientemente de la edad de las pacientes. Las pacientes más jóvenes tienen algunos beneficios ya que tienen una mayor calidad del ovocito, mejor entorno uterino contra el efecto adverso de ser bajas respondedoras

Los pacientes que muestran una respuesta deficiente a una estimulación ovárica debido a un reclutamiento folicular reducido pueden preservar ciclos ovulatorios regulares durante un largo período. El ovario tiene la capacidad de mantener una frecuencia sorprendentemente constante y un número de ovulaciones espontáneas, mientras que la reserva de folículos sea continua. Por otra parte, los pacientes que muestran falta de respuesta a repetidos estímulos (no mm folículos ≥ 12 , no E2 rango ≥ 100 pg/ml) a pesar de menstruaciones regulares y perfil hormonal normal, tienen un riesgo alto para desarrollar insuficiencia ovárica clínica dentro de un intervalo de tiempo relativamente corto.

Mecanismos distintos de agotamiento en la reserva ovárica pueden estar involucrados, principalmente en las mujeres jóvenes. Una alteración del eje hipotálamo hipófisis ha sido sugerido así como una alteración intraovárica.

El antecedente de cirugías pélvicas, pueden ser responsables de la respuesta ovárica. La formación de adherencias periováricas puede interferir con el desarrollo físico de los folículos preovulatorios; alteraciones en el suministro

vascular o interferencias con las regulaciones parácrinas de la función ovárica también pueden afectar la receptividad de los ovarios a las gonadotropinas exógenas.

La predicción de respuesta deficiente

La previsión de tratamientos en mujeres que tendrán una respuesta con discapacidades visuales a la estimulación ovárica reduciría procedimientos innecesarios.

Una gran variedad de pruebas de detección se han desarrollado para identificar prospectivamente a las respondedoras bajas. Éstas están representadas por marcadores hormonales capaces de evaluar la reserva de ovario en condiciones basales o dinámicas. El primero en uso clínico fue la medición de niveles basales de FSH. Es una prueba de bajo costo, fácilmente aplicable y, por lo tanto, es todavía más ampliamente utilizada. Niveles de FSH basales no son precisos para predecir la respuesta ovárica a gonadotropinas y no reflejan necesariamente la edad biológica de los ovarios.

Otros marcadores hormonales se han identificado como predictores de baja respuesta: alto nivel basal de E2, un nivel de LH bajo en el día 3 e inhibina baja en el día 3 del ciclo.

Otros estudios introdujeron el uso de las pruebas dinámicas como la respuesta de FSH a la administración de citrato de clomifeno la respuesta de E2 y FSH a la administración de GnRH y la respuesta de Inhibina-B a la administración de Citrato de Clomifeno La mejor prueba predictiva única fue el aumento de E2 después de GnRHα. Sin embargo, la predicción más confiable y confidencial de la

respuesta ovárica fue la evaluación simultánea del nivel basal de FSH y el patrón de E2 en respuesta a la estimulación GnRHα. En los pacientes estudiados, donde ambos valores fueron en el rango normal, el riesgo de cancelación fue de 2 %; cuando ambos resultados fueron anormales el riesgo de cancelación fue de 87 %.A pesar de estas medidas confiables de reserva ovárica, una tasa de cancelación de 10–14 % por ciclo iniciado siguen estando presentes en la práctica clínica actual, porque mecanismos diferentes pueden participar en pacientes baja respondedoras.

Protocolos para baja respondedoras

Se han propuesto varios esquemas de estimulación con diferentes enfoques. Por varios autores se demuestra claramente que el problema de la respuesta deficiente simplemente no puede superarse al aumentar la dosis de gonadotropinas. Esto no es sorprendente si consideramos que sólo el 1 % de la ocupación del receptor por un sustrato generalmente es suficiente para lograr una respuesta significativa.

Todos los protocolos propuestos muestran una tasa de cancelación alta. En resumen el tratamiento de bajas respondedoras sigue siendo una estimulación frustrante y el tratamiento ideal, si existe, sigue siendo desconocido.

INHIBIDORES DE AROMATAZA

Estructura química y farmacocinética

La aromataza es una enzima microsómica del citocromo P450 (gen CYP19) cataliza el paso en la producción de estrógenos, es decir, la conversión de androstenediona y testosterona a estrona y estradiol, respectivamente. La actividad de la aromataza está presente en muchos tejidos, por ejemplo, los ovarios, cerebro, tejido adiposo, muscular, hígado, tejido de mama y tumores malignos de mama. Las principales fuentes de estrógenos circulantes son los ovarios en mujeres premenopáusicas y el tejido adiposo en mujeres posmenopáusicas.

La aromataza es un inhibidor selectivo dado que actúa en un paso terminal en la secuencia de producción de estrógenos. Un gran número de Inhibidores de la aromataza se han desarrollado durante los últimos 30 años. El inhibidor de la aromataza más reciente, es de tercera generación con licencia principalmente para tratamiento de cáncer mama en mujeres posmenopáusicas. tras el fracaso clínico de la segunda generación (Fadrozole y Formestane, desarrollado hace 15 años) y la primera generación (aminoglutetamida, desarrollado hace más de 30 años). El fracaso clínico de las primeras dos generaciones se debía principalmente

a significativos efectos secundarios asociados con su uso y la falta de potencia y especificidad en inhibir la enzima aromataza.

Los Inhibidores de la Aromataza de tercera generación disponibles comercialmente incluyen preparativos no esteroideos , anastrozol [(Arimidex)] y letrozol [(Femara)] y un agente de esteroideo, examestane (Aromasin) y están disponibles para su uso clínico en Norteamérica, Europa y en otras partes del mundo para el tratamiento de cáncer de mama posmenopáusicas. Letrozol y Anastrozol son Inhibidores de la aromataza competitivos reversibles, con mayor potencia que la aminoglutamida (> 1000 veces) y, en dosis de 1 – 5 mg/d, reducen los niveles de estrógeno en un 97 % a más del 99 % a las concentraciones por debajo de la detección por inmunoanálisis más sensibles. Los inhibidores de la aromataza son absorbidos completamente después de administración oral con vida media de aproximadamente 45 h (rango 30–60 h) metabolizados principalmente por el hígado. Alteraciones gastrointestinales leves representan la mayoría de los eventos adversos, aunque éstos rara vez han limitado la terapia. Exemestane es un inhibidor de sustrato de esteroides, tiene una vida media circulante de aproximadamente 9 h pero un efecto por más tiempo para inhibir la aromataza porque es irreversible.

Mecanismo de acción de Inhibidores de Aromataza.

La inhibición de la aromatización bloquea la producción de estrógenos de todas las fuentes y en el eje hipotálamo hipófisis tiene una retroalimentación positiva aumentando la secreción de gonadotrofinas estimulando el crecimiento de

folículos. Al tener un estímulo sostenido de inhibidores de la aromataza se tiene un ambiente hiperandrogénico intraovárico lo que ocasionará un aumento de folículos antrales los cuales serán al tener un reclutamiento folicular aumentará la corte de estos mismos. El inhibidor selectivo de la aromataza tiene una vida media relativamente corta (~ 45 h), lo que es ideal para este propósito porque ellos son eliminados del cuerpo rápidamente. Debido a que el inhibidor de la aromataza no agota los mecanismos de retroalimentación central normal permanecen intactas.

Una segunda hipótesis que puede agregar al mecanismo de acción a los inhibidores de la aromataza en estimulación ovárica implica una mayor sensibilidad folicular a FSH. Esto podría resultar de la acumulación temporal de andrógenos intraováricos. Los datos más recientes admiten un papel temprano de los andrógenos para el crecimiento folicular en primates. La testosterona fue encontrada para aumentar la expresión de los receptores de FSH folicular en primates, lo que sugiere que los andrógenos promuevan crecimiento folicular y biosíntesis de estrógeno indirectamente por amplificar los efectos de la FSH. También, la acumulación de andrógenos en el folículo estimula IGF-I, que se puede sinergizar con la FSH para promover la foliculogénesis. Los andrógenos, como se describió anteriormente, pueden aumentar también los receptores de FSH en SOP exquisitamente sensibles a un aumento en FSH a través de cualquier administración exógena de gonadotropinas (por lo tanto, el alto riesgo del síndrome de hiperestimulación ovárica) o aumentos endógenos FSH como resultado de su disminución de estrógeno central inducido por inhibición de la aromataza. En este último caso, un aumento relativamente pequeño de FSH,

causa una retroalimentación de estrógeno normal. Otra hipótesis es el endometrio. Es posible que la inhibición de la aromataza, con la represión de las concentraciones de estrógeno en la circulación y tejidos periféricos , conduciendo a un rápido crecimiento endometrial una vez que se restaura la secreción de estrógeno. A falta de estrógeno, la ubiquinina disminuye permitiendo aumentar la sensibilidad al estrógeno. Esto podría aumentar la sensibilidad endometrial al estrógeno resultando una rápida proliferación endometrial y estroma mejorando el flujo endometrial . Como resultado, el desarrollo endometrial normal y grosor deben producirse a tiempo con la maduración folicular.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las pacientes que tienen una pobre respuesta folicular, definida como el desarrollo máximo de 4 folículos en ciclos de hiperestimulación ovárica para programas de fertilización in vitro. Representan un problema para el biólogo de la reproducción, ya que los ciclos son frecuentemente cancelados, ya sea en el proceso de la estimulación o por falta de embriones para transferir. También se asocia con mala calidad embrionaria, lo cual repercute directamente en la tasa de embarazo. Lo anterior implica un tratamiento sin éxitos, una mayor cantidad de recursos diferentes estados anímicos de los pacientes. La indicación de tratamiento mas aceptada para este tipo de pacientes es la donación de ovocitos la cual no se encuentra autorizada en nuestra institución por lo que es de vital importancia encontrar y ofrecer un tratamiento con mayor expectativa de resultados para resolver este problema.

El manejo con letrozole busca mejorar la cantidad de folículos antrales, cantidad de óvulos capturados y calidad embrionaria, así como mejorar la tasa de embarazo. Los inhibidores de aromataza se han empleado como inductores de ovulación, para estimular la producción de FSH en la fase folicular temprana, para este fin se utilizan dos tabletas de 2.5 mg al día por 5 días, iniciando en el tercer día del ciclo. Esto lleva a incrementar el número de folículos que llegen a la dominancia de el grupo ya seleccionado, al usarlo de manera continua durante 3 meses, se busca estimular el desarrollo folicular en fases previas al reclutamiento

aumentando los andrógenos para la foliculogénesis y así aumentar la piscina de reclutamiento.

HIPÓTESIS

Inhibir a la aromastaza ovárica para producir un ambiente androgénico estimulando el desarrollo folicular antral.

JUSTIFICACION

La paciente baja respondedora corresponde al 27 % de nuestra población, generan un importante gasto de recursos materiales y humanos, consume dos a tres veces mayor cantidad de folitropinas, mayor número en días de estimulación, mayor numero de consultas y ultrasonidos, con pobres tasas de embarazo.

El esquema con letrozole busca disminuir los costos en este grupo de pacientes.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Valorar si el uso de letrozole en pacientes baja respondedoras aumenta la cantidad de de folículos antrales y esto mejora el reclutamiento y la tasa de embarazo en un ciclo de fertilización in vitro.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

1. Aumentar la cantidad de folículos desarrollados en el ciclo de estimulación.
2. Aumentar la cantidad de óvulos capturados
3. mejorar la calidad embrionaria
4. mejorar la tasa de embarazo.

Valorar la de folículos antrales por ultrasonido en el cuarto ciclo de estimulación midiendo por ultrasonido en 3 días. en pacientes que se utilizó letrozole en un ciclo de estimulaciones ováricas en pacientes bajas respondedoras.

MATERIAL Y MÉTODOS

Diseño: Se trata de un estudio observacional, transversal, retrospectivo, comparativo.

Se revisaron los expedientes solicitados al archivo del CMN "20 de Noviembre" que pertenezcan al servicio de Reproducción Humana desde el mes de marzo de 2008 a julio 2009 seleccionando cuatro pacientes sometidas previamente a un ciclo de FIV-ICSI, en el periodo de 1 año previo, que desarrollaron menos de cuatro folículos, y que recibieron manejo con letrozole durante 90 días previos a un nuevo ciclo de estimulación con el mismo protocolo largo de agonistas.

Se les realizo ultrasonido con sonda vaginal de 7.5 MHZ equipo marca Philips en el día 3 del siguiente ciclo posterior a los 90 días de tratamiento, se cuantificaron los folículos antrales y se midió el volumen ovárico.

Se utilizo el mismo protocolo de inducción de ovulación: preparación con anticonceptivo en un mes previo, inicio de leuprolide 1 mg en día 21 del ciclo, con disminución a 0.5 mg en día dos de ciclo. Se emplearon las mismas dosis de gonadotrofinas del ciclo previo.

Se valoro la cantidad de folículos desarrollados al momento de la aplicación de hormona gonadotrofina coriónica.

Se cuantifico el estradiol al momento del disparo.

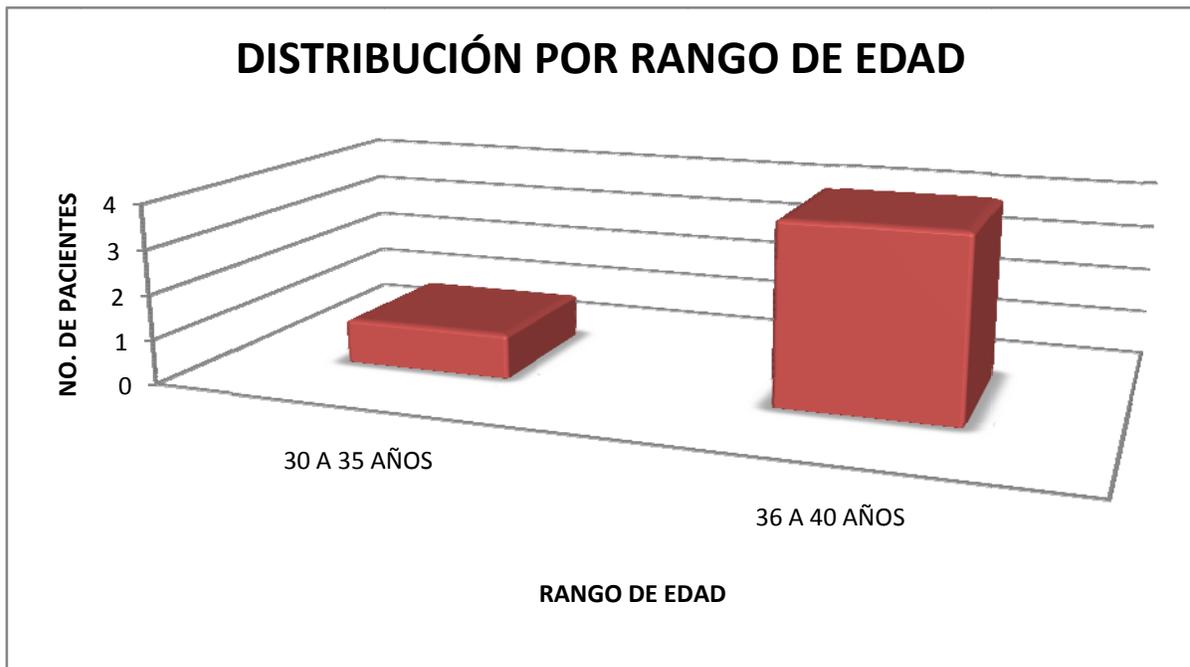
Se cuantifico la FSH en 3 día del ciclo, y se comparo entre el los dos ciclos.

Se comparo número de folículos capturados, tasa de fertilización, embriones transferidos, calidad embrionaria, y tasa de embarazo.

La información obtenida se vació en hoja de SPSS para el análisis estadístico, en donde se realizaron medias de tendencia central, chi cuadrada, prueba de Fisher y T de student

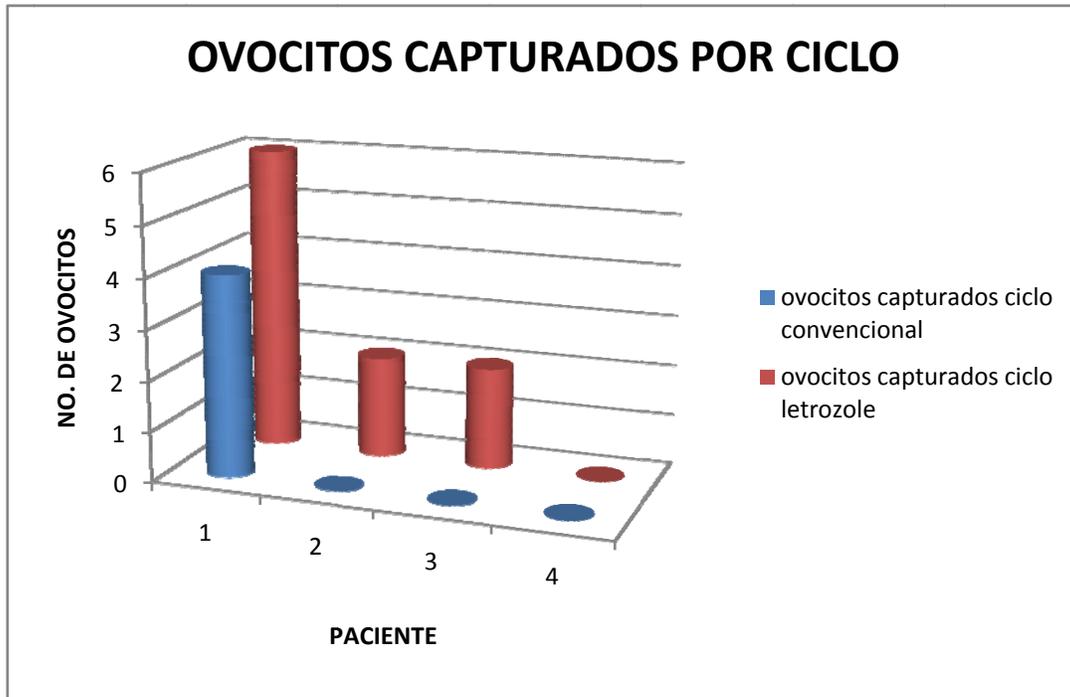
RESULTADOS

En el periodo comprendido de marzo de 2008 a julio 2009 se obtuvieron 4 pacientes que cumplieron los criterios de selección. La edad media fue de 36.7 años de edad con una distribución por rango de edad del 25% 1 paciente de 30 a 35 años y 75% 3 pacientes de 36 a 40 años. (gráfico 1).

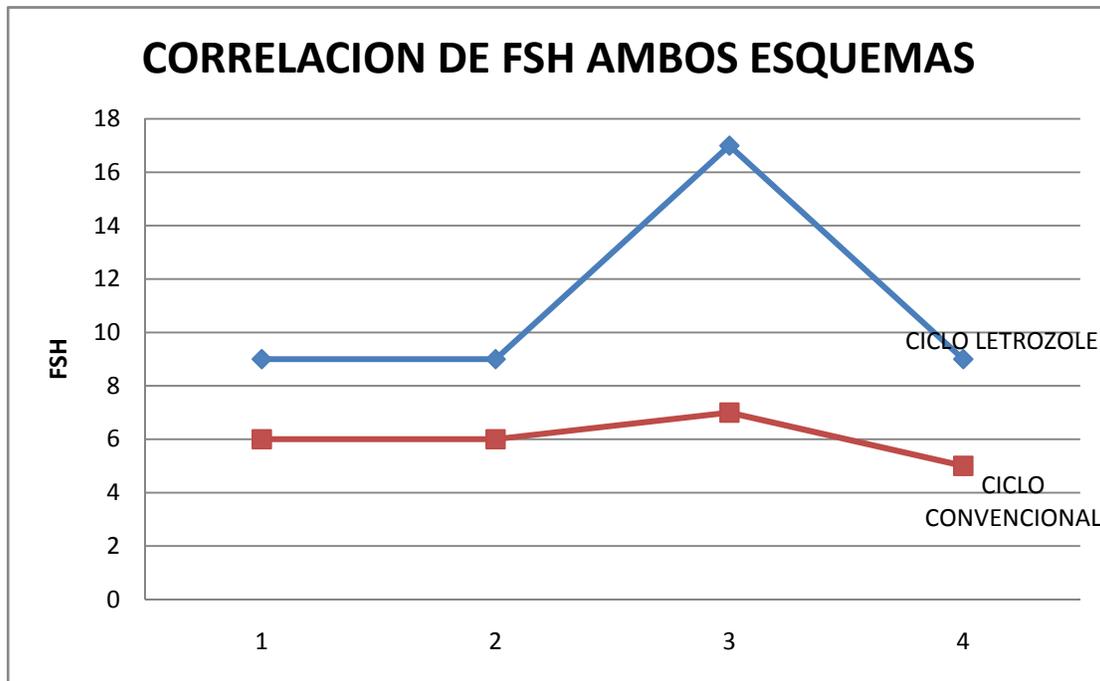


En el primer ciclo con estimulación ovárica para fertilización in vitro un 75% de las pacientes se cancelaron por falta de respuesta, y en 25% de las pacientes se capturaron 4 ovocitos. De las mismas pacientes con el ciclo de estimulación ovárica con letrozole se cancelo el 25% por falta de respuesta y en el 75% de las

pacientes se capturaron una cantidad mayor de ovocitos que en el 1er ciclo.
(gráfico 2)



La FSH en un día 3 del ciclo previo a la estimulación ovárica en un ciclo largo con folitropinas fue una media de 10.8UI y en un ciclo con letrozole de 6.5UI (grafico 3)



(gráfico 3)

El volumen ovárico de las pacientes en el primer ciclo fue menor en el 100% con un ciclo convencional de estimulación y en las pacientes en las cuales se utilizó letrozole en todas aumentó el volumen. con una media de 2.5cm³ La media de folículos encontrados por ultrasonido pélvico previo a la estimulación ovárica con folitropinas en un ciclo largo fue de 1.4, y en pacientes con el uso de letrozole fue de 2.5. Los folículos mayores de 18 mm encontrados al momento de la aplicación de la hormona gonadotrofina coriónica en un ciclo largo una media de 1 folículo por ovario y en pacientes con letrozole 1.8 folículos por ovario.

La cantidad de ovocitos capturados aumentaron en 3 de las pacientes con una media de ovocitos capturados con ciclo convencional de 1 y con ciclo con letrozole de 2.5. La calidad ovocitaria en un ciclo convencional 98% meta II y 2% meta I y en ciclo con letrozole 98% meta II y 2% meta I. En el ciclo convencional la

calidad embrionaria no se valoró ya que no hubo ningún ovocito fertilizado y en el ciclo con letrozole la calidad embrionaria fue de 71% calidad 2+ y 29% calidad 3+. Embriones transferidos en ciclo convencional 0 y en ciclo con letrozole una media de 1.5 (tabla 1)

EL tratamiento con letrozole aumenta la captura de folículos en comparación con un ciclo convencional en un 200% con un mínimo de 98% y un máximo de 276%.

CONCLUSIONES

Este estudio, nos demostró un beneficio al inhibir la aromataza para mejorar la respuesta ovárica a la estimulación con FSH en baja respondedoras. La mejora fue clara ya que nos muestra un número significativamente mayor de ovocitos capturados al igual que embriones transferidos.

La media de ovocitos capturados fue de 2.5, que fue significativamente mayor que en ciclos de sólo FSH.

Tanto el volumen ovárico, el número de folículos antrales en el ultrasonido basal, la FSH en día 3 del ciclo tuvieron mejoría lo que se tradujo en un número mayor de folículos desarrollados y en una mayor cantidad de ovocitos capturados lo que nos habla de una mejor respuesta a la estimulación previa con letrozole por 3 meses, lo anterior nos indica que la inhibición de la aromataza sí ayuda al desarrollo de folículos en una fase no dependiente de gonadotropinas.

La tasa de embarazo no se vio beneficiada en este estudio, probablemente por el número bajo de pacientes pero cabe mencionar que al ir mejorando la cantidad de folículos y la cantidad de ovocitos capturados aumenta la probabilidad de embarazo, por lo que se espera sea demostrado en estudios posteriores.

BIBLIOGRAFIA

Defining and predicting the poor responder! *Fertility and Sterility*, Volume 75, Issue 1, January 2001, Pages 226-227 Amin Gorgy, Mohamed Taranissi

Evaluating strategies for improving ovarian response of the poor responder undergoing assisted reproductive techniques. *Fertility and Sterility*, Volume 73, Issue 4, April 2000, Pages 667-676 Eric S. Surrey, William B. Schoolcraft

Female poor responders. *Molecular and Cellular Endocrinology*, Volume 161, Issues 1-2, 30 March 2000, Pages 59-66. A. P. Ferraretti, L. Gianaroli, M. C. Magli, G. Bafaro, N. Colacurci

Quantification of ovarian stromal Doppler signals in poor responders undergoing in vitro fertilization with three-dimensional power Doppler ultrasonography. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, Volume 190, Issue 2, February 2004, Pages 338-344. Hsien-An Pan, Meng-Hsing Wu, Yueh-Chin Cheng, Li-Hsiang Wu, Fong-Ming Chang

Delivery rates in poor responders that decline cycle cancellation. *Fertility and Sterility*, Volume 78, Supplement 1, September 2002, Page S141. Richard A. Cochran, Mark L. Jutras, Mary T. Jutras

Delivery rates in poor responders that decline cycle cancellation. *Fertility and Sterility*, Volume 78, Supplement 1, September 2002, Page S141. Richard A. Cochran, Mark L. Jutras, Mary T. Jutras

Folliculogenesis, onset of puberty and fecundity of mink selectively bred for docility or aggressiveness. *Theriogenology*, Volume 49, Issue 8, June 1998, Pages 1545-1553. D. V. Klotchkov, O. V. Trapezov, A. V. Kharlamova

The physiology of folliculogenesis: the role of novel growth factors. *Fertility and Sterility*, Volume 76, Issue 5, November 2001, Pages 943-949. Gregory F. Erickson, Shunichi Shimasaki.

The role of steroids in follicular growth. *Reprod Biol Endocrinol*. 2006; 4: 16Ann E Drummond. Published online 2006 April 10. doi: 10.1186/1477-7827-4-16.PMCID: PMC1459164

Interventions for 'poor responders' to controlled ovarian hyperstimulation (COH) in in-vitro fertilisation (IVF). *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2007

Expected poor responders on the basis of an antral follicle count do not benefit from a higher starting dose of gonadotrophins in IVF treatment: a randomized controlled trial* E.R. Klinkert [Human Reproduction Vol. 20 No. 3 2004;](#)

Clinical management of low ovarian response to stimulation for IVF: a systematic review B.C. Tarlatzis , L. Zepiridis, G. Grimbizis and J. Bontis Human Reproduction Update, Vol.9, No.1 pp.61-76, 2003

A poor response in the first in vitro fertilization cycle is not necessarily related to a poor prognosis in subsequent cycles KLINKERT Ellen R. Fertility and sterility 2004, vol. 81, n°5, pp. 1247-1253

Role of gonadotropin-releasing hormone antagonists in poor responders Neal G.Mahutte; Aydin Arici.Fertility and Sterility, Volume 87, Issue 2, Pages 241-249, February 2007