



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
FACULTAD DE MEDICINA
INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGÍA
“ISIDRO ESPINOSA DE LOS REYES”

EFFECTIVIDAD CLÍNICA DE LA APLICACIÓN DE “FACTOR
ESTIMULANTE DE COLONIAS DE GRANULOCITOS”
EN MUJERES CON FALLA DE IMPLANTACIÓN
EN CICLOS DE FERTILIZACIÓN IN VITRO.

T E S I S

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
ESPECIALISTA EN BIOLOGÍA
DE LA REPRODUCCIÓN HUMANA

PRESENTA:

DRA. FIORELLA BAGNARELLO GONZÁLEZ

ASESORES:

DR. ALVARO SANTIBAÑEZ MORALES

DR. ENRIQUE REYES MUÑOZ



MÉXICO, D.F.

2011



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.

AUTORIZACIÓN DE TESIS

Efectividad clínica de la aplicación de “Factor estimulante de colonias de granulocitos” en mujeres con falla de implantación en ciclos de fertilización in vitro.

DR. FERNANDO GAVIÑO GAVIÑO
PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE BIOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN

DR. CARLOS RAMIREZ ISARRARÁZ
SUBDIRECTOR ACADÉMICO Y DE GESTIÓN EDUCATIVA

DR. ÁLVARO SANTIBAÑEZ MORALES
DIRECTOR DE TESIS

DR. ENRIQUE REYES MUÑOZ
ASESOR METODOLÓGICO

AGRADECIMIENTOS

A Dios por darme la oportunidad de cumplir otra meta en mi vida.

A Jes por acompañarme en esta importante experiencia que ha implicado grandes esfuerzos y sacrificios; pero a la vez una gran satisfacción y un logro de ambos. La fuerza que me ayudó a conseguirlo.

A mis padres por su apoyo incondicional. Mi superación se las debo a ustedes.

A mis profesores por su paciencia, tiempo y dedicación.

ÍNDICE DE CONTENIDO

INTRODUCCIÓN	1
Capítulo 1.....	4
MARCO TEÓRICO	4
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	18
JUSTIFICACIÓN	18
OBJETIVOS	19
HIPÓTESIS	19
Capítulo 2.....	20
MATERIALES Y MÉTODOS	20
TIPO Y DISEÑO DEL ESTUDIO.....	20
UNIDADES DE INVESTIGACIÓN.....	20
SELECCIÓN Y RECLUTAMIENTO DE LA MUESTRA.....	20
LUGAR Y DURACIÓN	20
CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN	21
VARIABLES EN ESTUDIO.....	22
DESCRIPCIÓN GENERAL DE ESTUDIO	25
RECOLECCIÓN DE DATOS.....	26
ANÁLISIS DE DATOS.....	27
Capítulo 3.....	28
RESULTADOS	28
Capítulo 4.....	33
DISCUSIÓN	33
Capítulo 5.....	36
CONCLUSIONES	36
Capítulo 6.....	37
ANEXOS	37
Capítulo 7.....	42
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	42

RESUMEN

Objetivo: Conocer la efectividad clínica de la aplicación de factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF) para lograr embarazo clínico, en mujeres con falla de implantación en ciclos previos de fertilización in vitro comparado con un control histórico.

Diseño: estudio de cohorte histórica.

Participantes: Se analizaron 2 grupos de pacientes; grupo 2: pacientes que voluntariamente aceptaron la aplicación de G-CSF y grupo 1: pacientes atendidas dos años previos, como control histórico pareadas por edad y tiempo de infertilidad.

Intervenciones: Grupo 2: aplicación de 1 mcg/Kg/día de G-CSF a partir del día de la captura ovular y durante 17 días.

Mediciones de desenlace principal: efectividad clínica de la aplicación de G-CSF para lograr embarazo clínico, en mujeres con falla de implantación en ciclos previos de FIV comparado con un control histórico.

Resultados: Se les aplicó G-CSF a 6 pacientes (grupo 2) y se comparó con un control histórico de 7 pacientes (grupo 1) que ya habían ingresado a tres ciclos de FIV en el INPer. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en cuanto a edad, peso, talla, IMC, duración de infertilidad, factores tubárico, endocrinológico, masculino, idiopático o endometriosis. En base a los antecedentes reproductivos se encontró un predominio de infertilidad secundaria del grupo 1, $p=0.07$. Al comparar las características del ciclo, se encontró una diferencia estadísticamente significativa en el estradiol de día de inducción de maduración ovular (disparo), $p=0.022$. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas respecto al número de folículos mayores a 18 mm en el día del disparo, morfología espermática el día de inseminación, número de ovocitos capturados y ovocitos fertilizados, características de los ovocitos transferidos, número y calidad de embriones transferidos y tasa de embarazo.

Conclusiones: Este estudio parece indicar que la aplicación de G-CSF en mujeres con falla de implantación en ciclos de fertilización in vitro no modifica las probabilidades de lograr un embarazo, queda por aclarar si su aplicación pudiera ser benéfica durante la fase de implantación.

Palabras clave: factor estimulante de colonias de granulocitos, implantación, fertilización in vitro.

ABSTRACT

Objective: To determine the clinical effectiveness of the application of granulocyte colony stimulating factor (G-CSF) to achieve clinical pregnancy in women with implantation failure in previous cycles of in vitro fertilization (IVF) compared with a historical control.

Design: historical cohort study.

Participants: We analyzed two groups of patients: group 1: patients who voluntarily accepted the application of G-CSF and group 2: patients treated two years earlier, as historical control matched for age and length of infertility.

Interventions: Application of 1 mcg / kg / day of G-CSF from the day of oocyte retrieval and for 17 days.

Measurements of main outcome: Clinical effectiveness of the application of G-CSF to achieve clinical pregnancy in women with implantation failure in previous cycles of IVF compared with a historical control.

Results: G-CSF was given to 6 patients (group 2) and compared with a historical control of 7 patients (group 1) who had already entered three cycles of IVF at INPer. There were no statistically significant differences in age, weight, height, BMI, duration of infertility, endometriosis, tubal, endocrine, male or idiopathic factors. Based on reproductive history, a secondary infertility predominance was found in group 1, $p = 0.07$. By comparing the characteristics of the cycle, there was a statistically significant difference in estradiol on the day of oocyte maturation induction, $p = 0.022$. There were no statistically significant differences regarding the number of follicles greater than 18 mm on the day of maturation induction, sperm morphology on the day of insemination, number of retrieved oocytes and fertilized oocytes, characteristics of the transferred oocytes, number and quality of embryos transferred or pregnancy rate.

Conclusions: This study suggests that the application of G-CSF in women with implantation failure in IVF cycles does not modify the chances of getting pregnant, it remains to clarify whether its application would be beneficial during implantation phase.

Key words: granulocyte colony-stimulating factor, endometrium, implantation, in vitro fertilization.

INTRODUCCIÓN

El factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF) es una citocina que estimula la proliferación y diferenciación de células hematopoyéticas principalmente hacia la línea neutrofílica. Esta citocina se ha empleado en forma sintética, para mejorar la tasa de implantación en mujeres con pérdida gestacional recurrente de etiología idiopática.

Existe evidencia de los efectos benéficos del G-CSF en el desarrollo embrionario y su síntesis endógena en endometrio y líquido folicular. En el tracto reproductivo humano, la síntesis de GM-CSF es más alta durante el período correspondiente a la concepción e implantación. En el ciclo menstrual, la expresión se localiza en las células epiteliales luminal y glandular del endometrio, con una expresión máxima en la fase secretora.

En las mujeres con fallo de implantación durante ciclos de fertilización in vitro (FIV), la aparente causa de infertilidad ha sido corregida por el tratamiento de FIV; pero no se logra la implantación. Este fallo puede deberse a problemas endometriales o del embrión. Si se han transferido embriones de buena calidad en diversas ocasiones, la probabilidad de que la causa sea una alteración a nivel endometrial es alta.

El G-CSF es indispensable para el proceso de maduración ovocitaria, para la fertilización embrionaria y su posterior desarrollo y juega un papel fundamental en el proceso de implantación. Los mecanismos exactos se desconocen por lo que trataremos de evidenciar si la administración exógena de G-CSF a partir del día de la captura ovular, es capaz de modificar la capacidad de implantación en mujeres que previamente habían sido transferidas con embriones de adecuada calidad en al menos 2 ocasiones; pero no habían logrado un embarazo.

Capítulo 1

MARCO TEÓRICO

G-CSF y HUMANOS

El factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF) es una citocina que estimula la proliferación y diferenciación de células hematopoyéticas principalmente hacia la línea neutrofílica.¹ Análisis por Southern blot del DNA del genoma humano demostraron que se encuentra codificado en el gen 17 q11-22.

²

La identificación de G-CSF fue posible gracias al cultivo de células progenitoras hematopoyéticas, que fueron desarrollados a mediados del decenio de 1960 por Metcalf, Sachs y colaboradores. Estos sistemas in vitro mostraron que la supervivencia, proliferación y diferenciación de células hematopoyéticas inmaduras dependen de la presencia de factores humorales, que se denominan "Factores estimulantes de las colonias".²

La nomenclatura de de los CSF ha sido confusa. El G-CSF fue inicialmente llamado "Factor de diferenciación de granulocitos-macrófagos" (GM-DF) por Metcalf, luego se determinó que su actividad consistía en estimular selectivamente colonias de granulocitos por células hematopoyéticas progenitoras in vitro, por lo que luego de su purificación se llamó G-CSF.²

La capacidad de producción de G-CSF es una característica de una variedad de tipos de células después de la estimulación apropiada. Los monocitos / macrófagos se encuentran entre la principal fuente de G-CSF; pero este factor también puede ser producido por las células normales de origen mesodérmico, incluyendo; las células endoteliales vasculares, fibroblastos, y células mesoteliales.²

En humanos los niveles circulantes de G-CSF se encuentran por debajo de los límites de detección de hasta los más sensibles inmunoensayos (<30 pg/ml) y cuando se detectan son inferiores a 100 pg/ml. Sin embargo en situaciones de estrés como infección o luego de una dosis de terapia citotóxica en trasplantes de médula ósea, los niveles de G-CSF aumentan dramáticamente y pueden exceder los 2000 pg/ml. Es por esto que puede funcionar como un regulador sistémico de los neutrófilos en individuos normales bajo situaciones de estrés. ²

G-CSF, ejerce su efecto biológico a través de la unión a su receptor. Nicolas Metcalf demostró la existencia de receptores específicos, saturables y de alta afinidad de G-CSF en neutrófilos maduros. El receptor para el G-CSF es un heterodímero compuesto de una cadena α (el ligando específico) y la cadena β . ²

Se han creado de manera sintética dos formas recombinantes, una glicosilada, lenograstim, que es sintetizada en mamíferos y otra no glicosilada (filgrastim) sintetizada en escherichia coli, esta última tiene la misma actividad biológica que la natural endógena; pero difiere en que contiene un residuo N-terminal metionina. ³

En humanos se utiliza de manera segura desde 1991 aprobado por la FDA⁴ como adyuvante en el tratamiento de leucemia, en pacientes candidatos a quimioterapia de cualquier índole como; en cáncer de mama y colon.⁵

También se ha utilizado para el tratamiento en pacientes con infarto agudo al miocardio con resultados favorecedores y excepcionales si se utiliza en el episodio agudo.⁶ Así como en pacientes con shock séptico, HIV, pié diabético, fiebre neutropénica y estados de inmunosupresión.⁷

G-CSF y REPRODUCCIÓN

En el ámbito reproductivo; en 1995 se publicó por primera vez la existencia de G-CSF y su receptor en tejido ovárico, determinado por PCR, en 65 mujeres que fueron sometidas a histerectomías o cistectomías.⁸ En ese mismo año otro autor detecta en endometrio humano por medio de Western Blot concentraciones de G-CSF de hasta 4440 pg/ml, así como su síntesis.⁹

Sorpresivamente en 1999 un autor cultivó embriones donados a investigación y valoró el efecto de G-CSF a 2 ng/ml desde el día 2 de desarrollo y observó una mejor progresión embrionaria estadísticamente significativamente tomando como escala de valoración la clasificación embrionaria de Lucinda Veeck. Interesantemente también observaron una mejor capacidad de adherencia así como capacidad de blastulación en membranas sintéticas en quinto día de desarrollo.¹⁰

En 2001 se reporta la cuantificación de G-CSF en líquido folicular de aspiraciones de folículos de pacientes en tratamiento de fertilización in vitro de y su correlación con ovocitos maduros en estadio metafase II.¹¹

En 2002 se realiza un reporte donde se valora el mecanismo de acción de G-CSF en embriones donados observando que este factor de crecimiento es el responsable de favorecer la división celular de las blastómeras en el embrión, inhibe la apoptosis celular y disminuye el porcentaje de fragmentación¹²; esto lo lograron al inhibir el receptor de G-CSF en los embriones con lo que pudieron observar que sucedía en el ámbito embrionario al no existir efecto de G-CSF. En estos embriones que se bloqueo el receptor, no se dividen las blastómeras y se observa un alto índice de apoptosis.

En 2004 se reportó un estudio en donde se utilizó una línea celular inmortalizada de células de la granulosa, las cuales fueron estimuladas con factor de necrosis

tumoral alfa e IL-1 al inferir que la ovulación es un fenómeno inflamatorio y que al estimular con estos factores se podrían mejorar las condiciones al incrementar a nivel local el reclutamiento de macrófagos. Se observó un incremento significativo de G-CSF al estimular con ambos factores dosis/tiempo dependiente lo que podría indicar un papel importante en el proceso preovulatorio.¹³

En ese mismo año otro grupo decide cuantificar G-CSF en líquido folicular y en suero el día de la aplicación de la gonadotropina coriónica en pacientes en tratamiento de FIV, así como determinar la existencia del receptor de G-CSF en células de la granulosa. La mediana de G-CSF en líquido folicular fue de 117.98 pg/ml y fue mayor en el líquido folicular que en suero y como en estudios previos lograron determinar la presencia de dicho receptor en células de la granulosa.¹⁴

En el 2005 se cuantificó el G-CSF y estradiol tanto en suero como en líquido folicular en pacientes sometidas a fertilización in vitro. Las pacientes se dividieron en 3 grupos. El grupo 1, constituido por 82 pacientes, se subdividió de acuerdo a su respuesta ovular en baja, media y alta respondedora. En el grupo 2 se cuantificó la concentración de G-CSF en suero durante el ciclo menstrual (23 pacientes). Finalmente en el grupo 3, de 11 pacientes, con endometriosis moderada a severa, se cuantificó el G-CSF en líquido folicular el día de punción folicular. De este estudio se pudo concluir que la concentración en suero es menor que en líquido folicular. El G-CSF aumenta durante el ciclo menstrual hasta valores máximos en suero durante la fase ovulatoria. En suero también se observó una correlación de los niveles de G-CSF con la respuesta ovular en pobre, moderada y alta respondedora. También correlacionó con las tasas de embarazo. Los niveles de G-CSF en suero incrementaron a lo largo de la estimulación, alcanzando un pico con la inducción de ovulación y disminuyendo luego de la transferencia. Únicamente en las pacientes embarazadas se mantuvo el nivel de G-CSF luego de la transferencia hasta el embarazo. En pacientes con endometriosis la concentración de G-CSF fue menor que en las

pacientes sin endometriosis correspondiendo con las bajas respondedoras por lo que bajas concentraciones de G-CSF en estas pacientes pueden ser indicadoras de un mal desarrollo folicular con menor capacidad para implantarse. La expresión característica de G-CSF en los días postcaptura ovular sugieren que este juega un papel importante en el proceso de implantación y en el mantenimiento del embarazo ya que al no ocurrir implantación sus concentraciones cayeron significativamente. Se concluye que el G-CSF correlaciona directamente con tasa de embarazo y capacidad de respuesta ovular a la estimulación.¹⁵

En 2008 se realizó un estudio con la intención de encontrar un factor predictivo de calidad embrionaria en el líquido folicular de cada ovocito. Se cuantificaron en 132 pacientes 28 citocinas, incluido el G-CSF, encontrando que concentraciones superiores a 20 pg/ml en líquido folicular el G-CSF se correlaciona con embriones de muy buena calidad y fue el único en correlacionar con la calidad embrionaria y su capacidad de implantación. Además su concentración en líquido folicular fue significativamente menor en pacientes mayores de 36 años. Establecen varias hipótesis por las cuales el G-CSF podría influenciar la implantación, la primera es que promueve la generación de IL10 produciendo células T reguladoras promoviendo una tolerancia de transplante, característica relevante de los eventos inmunoreguladores que ocurren en la pre, peri y postimplantación, contribuyendo así a la capacidad del ovocito de preparar al útero a una tolerancia inmunológica. La segunda hipótesis es que el G-CSF influye en el contenido del RNAm del ovocito, induciendo moléculas de adhesión (incluyendo L-selectina) en la superficie del ovocito para promover la adhesión del futuro embrión a las células endometriales. Alternativamente, G-CSF podría inducir el cúmulo en las células de la granulosa para producir citocinas al inducir un cambio hacia las TH2 lo que podría ser el responsable de producción de IL4 y subsecuentemente LIF o factores de crecimiento los cuales son necesarios para el desarrollo e implantación del embrión resultante. Otra hipótesis es que el G-CSF le brinda al embrión información crucial de cómo auto repararse lo cual ha sido descrito en células madre hematopoyéticas lo cual parece afectarse por la

edad así como se observa en embriones. El G-CSF se ha descrito en varios modelos (corazón, hígado) como agente promotor de reparo endógeno. Concluye que el G-CSF está involucrado en el proceso de desarrollo folicular y ovulación y puede ser un método de seleccionar aquellos ovocitos con mayor capacidad de implantación.¹⁶

En ese mismo año se realizó un estudio similar en 43 mujeres y cuantificación en líquido folicular de cada ovocito de 11 citocinas, estradiol y progesterona sin incluir G-CSF sin encontrar correlación con calidad embrionaria ni embarazo.¹⁷

En 2009 se publicó un estudio clínico aleatorizado doble ciego, donde se utilizó en aplicación subcutánea G-CSF (filgrastim), a dosis de 1µg (100 000 UI) /kg/día en 68 mujeres menores de 39 años con diagnóstico de pérdida gestacional recurrente de etiología desconocida. Se inició el día 6 posterior a la ovulación hasta la menstruación y en los casos de embarazo, se continuó por nueve semanas. La tasa de nacimiento en el grupo tratado con G-CSF fue de 82.8% (29 de 35 pacientes) y en el grupo placebo de 48.5% (16 de 33 pacientes) obteniendo una diferencia estadísticamente significativa ($p=0.0061$, OR:5.1;95% IC 1.5-18.4)). El número de pacientes necesario a tratar (NNT) por nacido vivo fue 2.9 (95% IC 2.1-10.3). También cuantificaron semanalmente durante el primer trimestre las concentraciones de gonadotropina coriónica en ambos grupos y a un control de 15 pacientes fértiles y observaron un aumento significativo en el grupo tratado con G-CSF entre las semanas 5 a 9 ($p<0.001$). No se observaron efectos adversos excepto por una erupción cutánea leve que resolvió espontáneamente al poco tiempo y en 2 casos presentaron leucocitosis de 25 0000/ml. Este artículo hace mención de un estudio en 125 mujeres embarazadas que recibieron tratamiento con filgrastim de forma prolongada por neutropenia crónica sin reportar efectos adversos en el embarazo o en los fetos. (Dale et al., 2003) Las 29 pacientes que recibieron el filgastrim tuvieron un recién nacido sano sin evidencia de malformaciones mayores o menores y con desarrollo perinatal normal.¹⁸

En el 2010 se publica en RBM online un artículo de un estudio multicéntrico, prospectivo placebo controlado y doble ciego donde se examina el efecto en la constitución cromosómica al añadir en cultivo embrionario G-CSF a dosis de 2 ng/ml. Se realizó en 86 óvulos donados de 73 mujeres a los que se agregó en el medio de cultivo desde la fertilización hasta el día 3 de crecimiento sin encontrar diferencias estadísticas por FISH al analizar cromosomas 13,16, 18, 21, 22, X y Y.¹⁹

El último artículo publicado al respecto es también del año 2010 por Salmassi²⁰ en donde cuantificaron la respuesta en suero de G-CSF a la estimulación ovárica para FIV en 95 mujeres agrupadas en bajas, moderadas y buenas respondedoras y a su vez determinaron las concentraciones de G-CSF entre pacientes embarazadas y no embarazadas a lo largo de distintas etapas del ciclo de FIV. Las pacientes con buena respuesta a la estimulación recibieron menores dosis de FSH recombinante, obtuvieron mayores niveles de estradiol, mayor número de ovocitos y una mayor tasa de embarazos (51.7%) en comparación con las de baja y moderada respuesta. La concentración de G-CSF fue mayor en las buenas respondedoras implicando que esta citocina se asocia al proceso de foliculogénesis y ovulación.

Entre las pacientes embarazadas y no embarazadas se determinó la cantidad de G-CSF en los días 3-5, 6-8, 9-11, el día de la aplicación de HCG (día de disparo), día de captura ovular, día de transferencia y en la semanas 1, 2, 3 y 4 postransferencia. El G-CSF aumentó gradualmente desde el inicio de la estimulación ovárica hasta el día de disparo alcanzando un pico el día de la captura folicular tanto en embarazadas como en las no embarazadas; sin embargo, en las que lograron embarazo hubo un aumento significativo desde el día de la transferencia alcanzando un pico 2 semanas después (día de confirmación del embarazo) y luego presentó un descenso gradual en las semanas 3 y 4 postransferencia en contraste con las que no se embarazaron que no tuvieron cambios en la concentración de G-CSF a partir del día de transferencia.

Esta expresión característica del G-CSF en las pacientes embarazadas los días posteriores a la captura ovular respecto a las no embarazadas sugiere que el G-CSF juega un papel importante en el proceso de implantación.

IMPLANTACIÓN

La reproducción humana es fundamental para la supervivencia de la especie; sin embargo el proceso es relativamente ineficiente. La fecundabilidad (la probabilidad de conseguir un embarazo en un ciclo menstrual) es de aproximadamente 30%. Sólo el 50 al 60% de todas las concepciones avanzan más allá de las 20 semanas. La falla de implantación constituye la causa del 75% de los embarazos que se pierden y por lo tanto no son clínicamente reconocidos. La falla de implantación se considera un factor limitante en la reproducción asistida. La comprensión de los mecanismos moleculares responsables de la implantación y placentación es necesaria para el tratamiento de la infertilidad y pérdida temprana del embarazo.²¹

Existe poca información en especímenes acerca del desarrollo embrionario en las primeras semanas en los seres humanos. Algunos de los acontecimientos más importantes, como la adhesión inicial del blastocisto al endometrio, nunca han sido observados. Por lo tanto, gran parte de la información del desarrollo humano en etapas tempranas se desprenden de los estudios en animales. Las etapas consideradas más importantes identificadas en la implantación y placentación en animales muy probablemente se aplican a humanos.²¹

Tradicionalmente se ha considerado al endometrio como la membrana uterina que constituye la parte pasiva de la gestación. Sin embargo, el endometrio es considerado un órgano dinámico cuya función primordial es hacer posible la implantación y el desarrollo fetal.²²

La implantación inicia aproximadamente seis o siete días después de la fertilización en un periodo llamado “ventana de implantación” cuya extensión varía entre el día 6 al día 10 posovulación. Por lo que inicia en el día 20 al 24 en un ciclo menstrual ideal de 28 días y se cree que dura menos de 48 horas.²³

La incidencia de pérdida gestacional después de la implantación es bastante elevada, estimándose en 25 a 40%. Aunque las pérdidas implican muchas veces anomalías genéticas, a menudo la causa es desconocida. Los factores hormonales, el factor de inhibición de la leucemia y las vías prostanoideas juegan importante papel en la implantación exitosa. Pero, dada la complejidad del desarrollo temprano, es probable que muchos otros mecanismos también participen.²¹

El objetivo principal de la comprensión de la implantación a nivel molecular es mejorar el diagnóstico y tratamiento de la infertilidad. El fracaso de la implantación sigue siendo un problema importante y puede resultar de una receptividad uterina disminuida al haber diálogo defectuoso entre el embrión y el endometrio o bien de embriones de pobre calidad.²⁴

Los embriones en fertilización in vitro se pueden clasificar según Lucinda Veeck en 5 grados. Grado 1 blastómeras de igual tamaño sin fragmentación citoplasmática, grado 2 blastómeras de igual tamaño con fragmentación citoplasmática menor al 15 %, grado 3 blastómeras de distinto tamaño con fragmentación variable, grado 4 blastómeras de igual o distinto tamaño con más del 20% de fragmentación y grado 5 blastómeras de cualquier tamaño con más del 50% de fragmentación. Los embriones clase 1 y 2 son los que tiene mayor pronóstico de implantación aunque pueden ocurrir embarazos con embriones grado 4 y 5.²⁵

CITOQUINAS E IMPLANTACIÓN

Las citocinas y quimioquinas son fundamentales los procesos inmunológicos de adaptación y esenciales para la iniciación y progresión del embarazo. Ellos proporcionan las señales de comunicación intercelular que rigen el reclutamiento de leucocitos y la proliferación, regulan la función y diferenciación fenotípica, y regulan una respuesta inmune apropiada para el embarazo.²⁶

Las citoquinas son polipéptidos o glicoproteínas de bajo peso molecular. Tienen múltiples actividades biológicas y están involucradas en diversos procesos fisiológicos. Son parte fundamental en la regulación del crecimiento, desarrollo y activación del sistema inmunológico y en la mediación de la respuesta inflamatoria. Son pleiotrópicas, actuando de una forma paracrina o autocrina y algunas veces inclusive como mediadores endocrinológicos.²⁷

Son constantemente producidas por el endometrio y han demostrado ser importantes en la comunicación embrionaria-endometrial. La IL1, LIF y el G-CSF han demostrado papeles importantes en el proceso de implantación.²⁷

El G-CSF es una citocina hematopoyética con efectos sobre la supervivencia, proliferación y diferenciación mieloide de los leucocitos y sus precursores. El estado de activación y comportamiento funcional de los monocitos maduros, macrófagos, granulocitos y células dendríticas son también controlados por el G-CSF, el cual puede favorecer la quimiotaxis y la adhesión, la fagocitosis y la citotoxicidad, la elaboración y presentación de antígenos, y/o la inducción de inmunidad antitumoral. Estas propiedades hacen del GM-CSF un regulador clave de la defensa del huésped y la respuesta al ataque externo, contribuyendo a la fisiopatología de enfermedades autoinmunes e inflamatorias, infecciones y malignidad.²⁶

El receptor del G-CSF se encuentra en tejido endometrial desde la etapa preimplantación y hasta el primer trimestre de embarazo por lo que su producción puede estar ligada a la implantación, función decidual y crecimiento placentario.²⁷

En las células hematopoyéticas, GM-CSF ejerce sus efectos en la superficie celular a través de la unión con alta afinidad, a complejos de receptores heterodímeros que comprenden una subunidad a y una b, miembros de la superfamilia de receptores de hemopoyetinas. La subunidad a, conocido como GM-Ra, es exclusivo de GM-CSF y se une al ligando con baja afinidad.²⁶

El útero y los tejidos de la placenta se consideran desde hace décadas potentes fuentes de estimulación de actividad de colonias hematopoyéticas, y el GM-CSF fue identificado como uno de sus componentes importantes de la bioactividad de factores estimulantes en estos tejidos.²⁶

En el tracto reproductivo humano, la síntesis de GM-CSF es más alta durante el período correspondiente a la concepción e implantación. En el ciclo menstrual, la expresión se localiza en las células epiteliales luminal y glandular del endometrio, con una expresión máxima en la fase secretora. Las células epiteliales que recubren la trompa de Falopio también expresan GM-CSF en un ciclo de forma dependiente, con niveles máximos al final de la fase proliferativa y a principios y mediados de la secretora.

Una vez que comienza la implantación, las células en las vellosidades coriónicas de la placenta contribuyen a la producción de GM-CSF, incluidas las células del citotrofoblasto invasor, las células de Hofbauer (macrófagos placentarios) y fibroblastos de las vellosidades, con síntesis estimulada por factores derivados del trofoblasto, incluyendo factor de necrosis tumoral- α (TNF α) y la IL-1. Las células trofoblásticas recolectadas en el primer trimestre o de la placenta a término, así como de las células trofoblásticas sintetizan GM-CSF ARNm.

El GM-CSF ARNm también está presente en el tejido decidual materno, donde gran parte se origina en las células asesinas (NK) naturales uterinas que son los leucocitos más abundantes en este tejido.²⁶

Estudios en ratones con una mutación nula en el gen GM-CSF “knockout” demuestran que la fertilidad se ve afectada en la ausencia de GM-CSF. A pesar del número normal de lugares de implantación en el embarazo temprano, la pérdida del feto en gestación avanzada y la muerte de las crías durante el primer período posterior al parto causa una reducción del 25% en el tamaño de la camada en el momento del destete. Los sobrevivientes son más pequeños y su tasa de mortalidad durante las primeras tres semanas de vida es de 4.5 veces más alta que en los controles de tipo salvaje.²⁶

Hay estudios en los cuales el GM-CSF se administran durante el período previo a la implantación para revertir la elevada tasa de fracaso en la implantación y la reabsorción fetal en ratones.²⁶

Los efectos embriotróficos in vitro de GM-CSF son más profundos en los embriones humanos donde las altas tasas de desarrollo del embrión se caracterizan por ser difíciles de conseguir in vitro. La adición de esta citoquina al medio de cultivo ejerce un aumento de 2 veces en la proporción de embriones fecundados in vitro que se desarrollan a la fase de blastocisto. La capacidad para el desarrollo de estos blastocistos, según la evaluación de la disolución de la zona pelúcida y el apego a la matriz extracelular en las placas de cultivo, también se mejora con GM-CSF. Los embriones cultivados en presencia de GM-CSF alcanzar la etapa de blastocisto en 14h promedio más rápido, y contienen aproximadamente un 35% más de células esto es debido principalmente a un aumento en el tamaño del compartimento de células masa interna, asociado con una reducción del 50% en muerte celular. En humanos embriones fecundados in vitro cultivados con células autólogas de endometrio, la cantidad de GM-CSF secretada en medio de cultivo se correlaciona con la probabilidad de éxito de embarazo después de la transferencia.²⁶

Diversos estudios en roedores han comprobado que las citocinas TH1 son perjudiciales para el embarazo. Inyecciones de estas en roedores les producen abortos. Durante el embarazo se ha sugerido un aumento en la proporción Th2/Th1, ya que las enfermedades mediadas por TH1 como la Artritis Reumatoide mejoran en el embarazo y las que son mediadas por TH2 como el Lupus Eritematoso Sistémico empeoran. No existen reportes de citocinas endometriales TH1 o TH2 en pacientes infértiles o con falla de implantación luego de FIV.²⁸

Existe poca duda respecto a la importancia del papel que juegan las citocinas en el control endometrial, decidual y del citotrofoblasto, por lo que defectos en su expresión o a nivel de receptor es probable que resulten en falla de implantación.

²⁸

Se han realizado estudios para hacer predicciones de éxito en implantación en ciclos de FIV mediante métodos eficientes y no invasivos como lo es la cuantificación de citocinas como la IL15 y G-CSF. Niveles elevados de IL15 se han asociado a falla de implantación. Se ha demostrado que el G-CSF es secretado por células de la granulosa, durante la ovulación, durante la fase lútea endometrial y finalmente durante la gestación por la placenta y un aumento temprano significativo al inicio del embarazo. A su vez se ha identificado una disminución de su concentración en pacientes con abortos recurrentes. Estudios han propuesto una combinación de G-CSF e IL15 en líquido folicular como un modelo óptimo para predecir nacimientos en base a un estudio donde se obtuvo tasas de nacimiento del 48.9% (16/33) si 2 factores de buen pronóstico estaban presentes: G-CSF>12 pg/ml e IL15< 7pg/ml.²⁹

Las células asesinas “natural killer” (NK) pueden ser inducidas para formar citocinas tipo 1 o 2 por lo que pueden facilitar decidualización, controlar la invasión trofoblástica y promover angiogénesis en el sitio de implantación. Se ha identificado un predominio de TH1 por NK en mujeres no embarazadas con antecedentes de abortos recurrentes y falla de implantación. Asimismo se han

reportado bajas concentraciones de G-CSF en estas pacientes. Se hizo un estudio en pacientes con aborto recurrente o con antecedente de 2 FIVTE previas fallidas, a pesar de transferencias de un total de 4 o más embriones, para determinar la proporción factor de necrosis tumoral alfa y G-CSF para el diagnóstico de aborto recurrente o falla de implantación. Se logró demostrar que el G-CSF, producido por las NK, disminuyó en las pacientes con aborto recurrente o falla de implantación en comparación con los controles. La proporción FNTa/G-CSF fue mucho más alta en pacientes con aborto recurrente o falla de implantación respecto a los controles. Este estudio demostró que este marcador podría utilizarse como diagnóstico para aborto recurrente o fallo de implantación.³⁰

En las mujeres con fallo de implantación durante ciclos de FIV, la aparente causa de infertilidad ha sido corregida por el tratamiento de FIV y embriones de buena calidad; pero no se logra la implantación. Este fallo puede deberse a problemas endometriales o del embrión. Si se han transferido embriones de buena calidad en diversas ocasiones, la probabilidad de que la causa sea un endometrio anormal es alta.²⁸

Con esta información concluimos de nuestra revisión de la literatura que el G-CSF es indispensable para el proceso de maduración ovocitaria, para la fertilización embrionaria y su posterior desarrollo y juega un papel fundamental en el proceso de implantación. Los mecanismos exactos se desconocen por lo que trataremos de evidenciar si la administración exógena de G-CSF a partir del día de la captura ovular, es capaz de modificar la implantación en mujeres que previamente se les han transferido, en al menos dos ocasiones, embriones de adecuada calidad obtenidos mediante fertilización in Vitro; pero no habían logrado un embarazo.

© 2013 Pearson Education, Inc. All rights reserved. This publication is protected by copyright. Any unauthorized use or distribution of this work is prohibited. For more information, contact Pearson Education, Inc., 501 Boylston Street, Boston, MA 02116.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El G-CSF es una citocina, que se ha empleado en forma sintética, para mejorar la tasa de implantación en mujeres con pérdida gestacional recurrente de etiología desconocida. La evidencia actual muestra efectos benéficos del G-CSF en humanos, en cuanto a calidad ovocitaria, embrionaria y capacidad de implantar. El presente estudio pretende comparar los resultados obtenidos al usar G-CSF en mujeres con falla de implantación en ciclos previos de FIV.

JUSTIFICACIÓN

La evidencia actual sobre los potenciales efectos del G-CSF en la receptividad endometrial, en mujeres con pérdida gestacional recurrente de etiología desconocida; nos sugiere el probable beneficio, en mujeres con al menos dos ciclos previos de FIV con transferencia de buena calidad de embriones, sin lograr el embarazo.

Con el presente estudio pretendemos conocer la utilidad de la aplicación de G-CSF como tratamiento para mujeres con falla de implantación en ciclos previos de FIV.

De corroborarse nuestra hipótesis se podría beneficiar a la población que requiere un segundo o tercer intento de fertilización in vitro, obteniendo resultados óptimos en las tasas de embarazo clínico.

OBJETIVOS

Objetivo primario

Conocer la efectividad clínica de la aplicación de G-CSF para lograr embarazo clínico, en mujeres con falla de implantación en ciclos previos de FIV comparado con un control histórico.

Objetivo secundario

Comparar la proporción de embarazo bioquímico al usar G-CSF durante un ciclo de FIV en mujeres con falla de implantación contra un control histórico

HIPÓTESIS

La efectividad para lograr el embarazo clínico en pacientes que reciben G-CSF es mayor que el control histórico, en mujeres con falla de implantación en ciclos previos de FIV.

Capítulo 2

MATERIALES Y MÉTODOS

TIPO Y DISEÑO DEL ESTUDIO

Tipo de Investigación: Observacional.

Tipo de diseño: cohorte histórica.

Características del estudio: comparativo, retrospectivo.

UNIDADES DE INVESTIGACIÓN

UNIVERSO: Pacientes con infertilidad que asisten a la Unidad de Reproducción Asistida del INPerIER candidatas a FIV.

UNIDADES DE OBSERVACIÓN: Pacientes que cumplan con los criterios de inclusión.

SELECCIÓN Y RECLUTAMIENTO DE LA MUESTRA

MÉTODO DE MUESTREO: No probabilístico, de casos consecutivos.

TAMAÑO DE LA MUESTRA: se compararon 6 pacientes que voluntariamente aceptaron la aplicación de G-CSF y un grupo de 7 pacientes atendidas dos años previos, como control histórico pareadas por edad y tiempo de infertilidad.

LUGAR Y DURACIÓN

Instituto Nacional de Perinatología Isidro Espinosa de los Reyes. Duración: 12 meses.

CRITERIOS DE INCLUSION Y EXCLUSIÓN

Criterios de inclusión

Edad menor a 39 años

FSH basal < 10 UI/ml

Estradiol < 80 pg/ml

Antecedente de dos ciclos previo de FIV, con captura, fertilización y transferencia de al menos 2 embriones calidad I-II, sin lograr el embarazo clínico.

Criterios de no inclusión

Miomatosis uterina > 3 cm

Hidrosalpinx uni o bilateral

Morfología espermática < 4%

Criterios de eliminación

Pacientes que no concluyan el seguimiento.

Pacientes que no deseen continuar en el estudio.

Criterios de bioseguridad

Se realizó biometría hemática completa a cada paciente previo y posterior al inicio del tratamiento en los días previo al inicio del ciclo, y en los días 7 y 14 postransferencia, para vigilar la cuenta leucocitaria.

VARIABLES EN ESTUDIO

VARIABLES INDEPENDIENTES

Grupo 1: control histórico:

Definición operacional: grupo de pacientes que cumplen los criterios de inclusión, pareadas por edad y tiempo de infertilidad, con tres ciclos de FIV previos, que se obtuvieron de la base de datos de pacientes atendidas durante los dos años previos al presente estudio.

Tipo de variable: Cualitativa nominal.

Nivel de medición: 1: SI

2: NO

Grupo 2 G-CSF:

Definición operacional: grupo de pacientes, que cumplen criterios de inclusión y fueron asignadas, a la aplicación subcutánea, de 1 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$ (3.33 $\mu\text{L}/\text{kg}/\text{día}$) de G-CSF a partir del día de la captura ovular y hasta 17 días después de la misma.

Tipo de variable: Cualitativa nominal.

Nivel de medición: 1: SI

2: NO

VARIABLES DEPENDIENTES (Variables resultado)

Efectividad clínica:

Definición operacional: Capacidad del fármaco para facilitar el embarazo clínico.

Embarazo Clínico

Definición operacional: Presencia de saco gestacional y embrión con frecuencia cardiaca fetal, 4 a 6 semanas después de la transferencia.

Tipo de variable: Nominal dicotómica.

Nivel de medición: 1: SI

0: NO

VARIABLES CONFUSORAS

Dosis total de rFSH

Definición operacional: Dosis total de rFSH al sumar la dosis diaria hasta el día del disparo.

Tipo de variable: Cuantitativa continúa.

Nivel de medición: Unidades Internacionales.

Progesterona del día de inducción de madurez ovocitaria o “disparo”

Definición operacional: Cantidad de progesterona sérica determinada el día del disparo con HCG.

Tipo de variable: Cuantitativa continúa.

Nivel de medición: ng/mL

Estradiol del día de disparo

Definición operacional: Cantidad de estradiol sérico determinada el día del disparo con HCG.

Tipo de variable: Cuantitativa continua.

Nivel de medición: pg/mL.

Folículos mayores de 18mm

Definición operacional: Número de folículos mayores o iguales a 18 mm en su diámetro mayor, medidos por ultrasonido transvaginal, un día previo o el día del disparo con HCG.

Tipo de variable: Cuantitativa discreta.

Nivel de medición: Número total: 1-30.

Ovocitos metafase 2

Definición operacional: Número de ovocitos capturados en metafase 2, observadas al microscopio.

Tipo de variable: Cuantitativa discreta.

Nivel de medición: Número total de ovocitos en metafase 2, 1-30

Calidad embrionaria

Definición operacional: Grado de calidad embrionaria al momento de la transferencia de acuerdo a la escala de Lucinda Veeck .

Tipo de variable: Ordinal.

Nivel de medición: 1=1, 2=2, 3=3, 4=4, 5=5.

DESCRIPCIÓN GENERAL DE ESTUDIO

PROTOCOLO CLÍNICO

La secuencia que se seguirá para el estudio clínico se describe a continuación:

Identificación de pacientes que reúnen criterios de inclusión.

Explicación del estudio y firma de consentimiento informado.

La paciente acudirá a ultrasonido basal el día 2-3 del ciclo si no tiene contraindicaciones para iniciar, se iniciará la estimulación ovárica. Se seguirá el protocolo de estimulación establecido en la unidad de reproducción. (Determinación basal de FSH, LH y Estradiol).

Cita a seguimiento folicular en día 8 del ciclo (determinación de FSH, LH, Estradiol y Progesterona) en caso necesario se incrementará la dosis de medicamento rFSH o menotropinas. Y así sucesivamente cada 24 a 48 Hrs hasta el día del disparo con HCGr.

Cuando se observe un folículo dominante igual o mayor a 14mm se iniciará el antagonista cetorelix 0.25mg vía subcutánea cada 24 horas hasta el día del disparo.

Cuando el mayor número de folículos midan 18 o más milímetros en promedio (al sumar el diámetro mayor con el diámetro menor y dividirlo entre 2) se realizará el disparo con HCGr.

La captura folicular se programará 34 a 36 horas posteriores a la aplicación de HCG. A partir del día de la captura ovular, se iniciara la aplicación subcutánea, de G-CSF (filgrastim); 1 µg/kg/día (3.33 µL/kg/día) cada 24 Hrs por 17 días. El ciclo se cancelará si no se capturan al menos 1 ovocito.

Todas las pacientes iniciarán progesterona micronizada 200mg, vía vaginal cada 8 horas, a partir del día de la captura y se continuará hasta la semana 10 en pacientes con embarazo clínico.

El número de ovocitos en metafase 2 se determinará inmediatamente a la captura folicular.

En caso de observar una morfología espermática inferior a 4 % o movilidad espermática A menor a 5% o A+B menor a 45%, se ofrecerá como alternativa la realización de ICSI.

La tasa de fertilización se evaluará a las 16 a 18 horas posterior a la inseminación por FIV.

La calidad embrionaria será evaluada previo a la transferencia embrionaria.

La transferencia embrionaria se realizará 72 horas posteriores a la captura ovular.

El día 14 posterior a la transferencia, se determinará HCG. Se considerará embarazo bioquímico si es mayor o igual a 20 mUI/mL sin observar saco gestacional.

En pacientes con HCG positiva se realizará USG dos semanas posteriores a la determinación de HCG para determinar la presencia de embarazo clínico.

RECOLECCIÓN DE DATOS

Se realizó mediante una hoja de recolección de datos prediseñada en donde se encuentren comprendidas todas las variables que se van a analizar.

ANÁLISIS DE DATOS

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se utilizaron pruebas estadísticas no paramétricas para establecer si existen diferencias entre los dos grupos debido a que por el tamaño de muestra no se alcanza la distribución normal. Se utilizará prueba de ji cuadrada de independencia para variables cualitativas dicotómicas y U de Mann-Whitney para variable cualitativas continuas.

ASPECTOS ÉTICOS

Investigación sin riesgo.

Capítulo 3

RESULTADOS

Se les invitó a participar en un estudio a un grupo de 6 pacientes que consistió en la administración de G-CSF a partir de la captura ovular durante 17 días y se comparó con un control histórico de 7 pacientes que ya habían ingresado a tres ciclos de FIV en el Instituto Nacional de Perinatología. Tres pacientes recibieron el G-CSF en el ciclo del mes de abril y 3 pacientes en el ciclo de mayo del año en curso. Las 7 pacientes control fueron sometidas a su último ciclo de FIV a partir del año 2008.

Las características basales de la población en estudio están reportados en la tabla 1. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos en cuanto a edad, peso, talla, IMC o duración de infertilidad. La diferencia en el número de gestas fue estadísticamente significativa en el grupo 1, $p=0.048$.

Tabla 1. Características basales de la población de estudio

Características basales	Grupo 1 n=7	Grupo 2 n=6	P
Edad	35.57 (29-39)	33.83 (25-39)	0.506
Peso	62.34 (55-76.9)	60.5 (51-72)	0.974
Talla	1.54 (1.41-1.69)	1.54 (1.48-1.61)	0.945
IMC	26.17 (23.8-30.6)	25.59(20.48-28.8)	0.96
Gestas	1.71 (0- 3)	0.33 (0-1)	0.048
Duración de Infertilidad	7.57 (5-12)	9(5-14)	0.234

En base a los antecedentes reproductivos, descritos en la tabla 2, entre los grupos de estudio se encontró un predominio de infertilidad secundaria del grupo 1 sobre el grupo 2 el cual fue estadísticamente significativo, $p=0.07$. El factor tubario fue mayor en el grupo 1 sin alcanzar una diferencia estadísticamente significativa, $p=0.43$. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos respecto a factores endocrinológicos,

masculino, o endometriosis. Solamente una paciente del grupo 2 tuvo factor idiopático para un 16.7%, mientras que ninguna del grupo 1 presentó dicho factor, la diferencia no fue estadísticamente significativa, $p=0.28$.

Tabla 2. Antecedentes reproductivos por grupo de estudio

Antecedentes	Grupo 1	Grupo 2	P
Infertilidad primaria	1 (14.3%)	4 (66.7%)	0.07
Infertilidad secundaria	6 (85.7%)	2 (33.3%)	0.07
Factor tubario	6 (85.7%)	4 (66.7%)	0.43
Factor endócrino	2 (28.6%)	2 (33.3%)	0.85
Factor idiopático	0	1 (16.7%)	0.28
Factor masculino	1 (14.3%)	1 (16.7%)	0.91
Endometriosis	3 (42.9%)	2 (33.3%)	0.72

Al comparar las características del ciclo, descritas en la tabla 3, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas respecto al estradiol basal, LH basal y LH del día de inducción de maduración o “disparo”, FSH basal y del día de disparo. El grupo 1 recibió mayor dosis de FSHr con una media de 3407 y un rango de 1500 a 4050, mientras que el grupo 2 tuvo una media de 2883 con un rango entre 1800 a 4050, sin llegar a ser estadísticamente significativo, $p=0.234$. No obstante, se encontró una diferencia estadísticamente significativa en el estradiol de disparo. El grupo 1 tuvo un rango de 1012 a 3150 con una media de 2127.85 mientras que el estradiol de disparo del grupo 2 tuvo un rango de 486 a 1798 con una media de 1242.16, $p=0.022$. La progesterona del día de disparo fue a su vez estadísticamente significativa con un rango que va de 1.45 a 5.01 con una media de 2.72 en el grupo 1, mientras que el grupo 2 tuvo un rango de 0.95 a 2.06 con una media de 1.44, $p=0.038$.

En relación al resto de las características del ciclo no se encontraron diferencias estadísticamente significativas respecto a la media de la cantidad de folículos con diámetro medio mayor a 18 mm. En grupo 1 se obtuvo una media de 12.14 folículos con un rango de 5 a 21, mientras que en el grupo 2 se obtuvo una media de 6.5 con un rango de 1 a 17 folículos ($p=0.445$). La media de la

morfología espermática en el día de la muestra seminal para la inseminación del grupo 1 no fue estadísticamente significativa respecto a la del grupo 2. El grupo 1 obtuvo una media de 13.85 con rango de 7 a 22 y la media del grupo 2 fue de 6.83 con un rango de 1 a 11 ($p=0.167$). Con respecto a la media del número de ovocitos capturados en el grupo uno fue de 13.85 con un rango de 7 a 22 y en el grupo dos fue de 11 con un rango de 2 a 26, sin evidenciar una diferencia estadísticamente significativa, $p=0.473$. La comparación entre la media del número de ovocitos fertilizados del grupo uno: 8.71 con rango de 2 a 20 versus la del grupo dos: 6.83, con rango de 1 a 11, no tuvo una diferencia estadísticamente significativa, $p=0.751$. (Tabla 3)

Tabla 3. Características de último ciclo de FIV por grupo de estudio

Características Ciclo	Grupo 1 n=7	Grupo 2 n=6	P
Dosis total FSHr	3407 (1500-4050)	2883(1800-4050)	0.234
Estradiol basal	27.42 (13.47-40.4)	18.92(3.62-51.9)	0.135
Estradiol día disparo	2127.85(1012-3150)	1242.16(486-1798)	0.022
LH basal	2.13(0.89-3.27)	2.57(0.1-4.3)	0.445
LH día disparo	0.72(0.04-1.67)	0.50(0.22-0.9)	0.865
FSH basal	6.42(1.97-10.8)	7.23(3.63-16.7)	0.96
FSH día de disparo	25.40(12.9-31.4)	24.88(11.7-41.5)	0.445
Progesterona día disparo	2.72(1.45-5.01)	1.44(0.95-2.06)	0.038
Folículos mayores 18mm	12.14(5-21)	6.5(1-17)	0.067
Morfología espermática	8.14(5-12)	10.33(6-13)	0.167
Ovocitos capturados	13.85(7-22)	11(2-26)	0.473
Ovocitos fertilizados	8.71(2-20)	6.83(1-11)	0.751

Al analizar la evolución del ciclo, descrito en la tabla 4, respecto a las características de los ovocitos, el número y calidad de embriones transferidos y tasa de embarazo no se encontraron diferencias estadísticamente significativas.

Se capturaron un total de 97 ovocitos en el grupo 1 y un total de 66 ovocitos en el grupo 2. Del total de ovocitos, en el grupo 1 se obtuvieron 28 en metafase I para un 28.8% y 9 ovocitos en metafase I del grupo 2 para un 13.6%, $p=0.52$. A

su vez se lograron obtener mayor cantidad de ovocitos en metafase II para ambos grupos, 58 ovocitos (59.7%) en el grupo 1 y 53 ovocitos (80.3%) en el grupo 2, $p=0.43$. Tabla 4.

Respecto al número de embriones transferidos, se transfirieron un total de 21 embriones en el grupo 1 y 14 embriones en el grupo 2. A dos pacientes (33.3%) del grupo 2 se les transfirió únicamente un embrión, mientras que todas las pacientes del grupo 1 se les transfirió más de un embrión.

En 2 pacientes (28.6%) del grupo 1 se transfirieron 2 embriones. A la mayoría de las pacientes (66.7%) del grupo 2 se le transfirieron 3 embriones y a 42.9% del grupo 1 sin llegar a ser una diferencia estadísticamente significativa, $p=0.41$. En ninguna paciente del grupo 2 se transfirieron más de 3 embriones mientras que en 2 pacientes (28.6%) del grupo 2 se les transfirieron 4 embriones. Tabla 4.

El mayor número de embriones transferidos en ambos grupos fueron calidad 2. En el grupo 1 se transfirieron 11 embriones (52.4%) y el grupo dos 10 embriones (71.4%) clase 2, $p=0.49$. Los porcentajes de embriones calidad 1 obtenidos en el grupo 1 y 2 fueron 9.5% y 14.3% respectivamente. $p=0.79$.

El número de embriones calidad 3 transferidos fue mayor en el grupo 1 que en el 2 sin llegar a ser una diferencia estadísticamente significativa. Se transfirieron 8 embriones calidad 3 en el grupo 1 (38.1%) y 2 embriones (14.3%) en el grupo 2, $p=0.35$. Tabla 4.

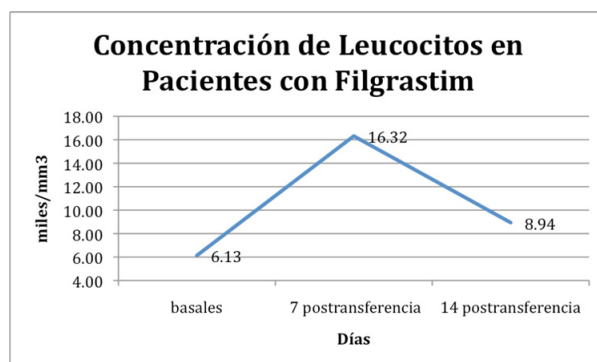
La tasa de embarazo fue del 28.6% en el grupo 1 vs. 16.7% en el grupo 2, $p= 0.62$. Tabla 4.

Tabla 4. Evolución de último ciclo de FIV en la población de estudio

Evolución	Grupo 1 n=7	Grupo 2 n=6	P
Número de ovocitos metafase I	28 (28.8%)	9 (13.6%)	0.52
Número de ovocitos metafase II	58 (59,7%)	53 (80,3%)	0.43
Pacientes con 1 embrión transferido	0	2 (33.3%)	0.12
Pacientes con 2 embriones transferidos	2 (28.6%)	0	0.18
Pacientes con 3 embriones transferidos	3 (42.9%)	4 (66.7%)	0.41
Pacientes con 4 embriones transferidos	2 (28.6%)	0	0.18
Número de embriones calidad 1	2 (9.5%)	2 (14.3%)	0.79
Número de embriones calidad 2	11 (52.4%)	10 (71.4%)	0.49
Número de embriones calidad 3	8 (38.1%)	2 (14.3%)	0.35
Embarazo	2 (28.6%)	1 (16.7%)	0.62

En las pacientes a las que se les administró G-CSF se les cuantificó las concentraciones de leucocitos de forma basal, previo al inicio del ciclo, obteniéndose una media de 6133.3 con un rango de 4700 a 8400. En el día 7 postransferencia la concentración de leucocitos aumentó para alcanzar una media de 16316.6 con un rango de 13200 a 17600. Finalmente a los 14 días postransferencia la concentración disminuyó nuevamente hacia una media de 8940 con un rango de 7100 a 11600. Gráfica 1.

Gráfica 1. Concentración de leucocitos en pacientes de filgrastim



Capítulo 4

DISCUSIÓN

Las características basales de la población en estudio son bastante similares para ambos grupos con una diferencia estadísticamente significativa únicamente en cuanto a las gestas previas a favor del grupo 1. Esto es un factor pronóstico alentador para este grupo, lo cual logra mostrar una tendencia en la tasa de embarazo en el ciclo estudiado; pero no es estadísticamente significativo.

Respecto a las características del último ciclo de FIV se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos en cuanto a concentración de progesterona y estradiol de disparo a favor del grupo 1. Esto pudo ser consecuencia de la utilización de mayores dosis de FSHr en este grupo a pesar de que no hubo una diferencia estadísticamente significativa.

No se reportó ningún efecto adverso con la aplicación del filgrastim. Se evidenció un aumento en leucocitos en el día 7 postransferencia como era de esperarse; sin embargo estos valores no superaron de 17 600 leucocitos y disminuyeron considerablemente para el día 14 postransferencia. En la literatura se ha descrito un aumento de hasta 25000 leucocitos en pacientes que fueron sometidas a este fármaco pero con una duración del mismo mucho más prolongada.¹⁸

A pesar de la gran cantidad de artículos que asocian al factor estimulante de colonias de granulocitos con la implantación no se ha publicado a la fecha ningún estudio que establezca la efectividad de este fármaco en pacientes con falla de implantación sometidas a ciclos de FIV.

En el 2009 se publicó un artículo ¹⁸ que logró demostrar la efectividad del G-CSF en cuanto a embarazo clínico en pacientes con pérdida gestacional recurrente de etiología desconocida. De 68 pacientes, 35 recibieron el medicamento, de las cuales se embarazaron 29 (82.8%) las cuales tuvieron un recién nacido sano.

De las 33 pacientes que recibieron placebo, 16 tuvieron un recién nacido sano (48.5%) ($p=0.0061$, $OR=5.1$; IC 95% 1.5-18.4). La similitud entre las pacientes con PGR de etiología desconocida y las pacientes en el grupo al que se le aplicó G-CSF radica en que a pesar de tener embriones de buena calidad no lograron embarazarse en al menos 2 ocasiones. Es por esta razón que estimando una falla de implantación como etiología en común en estas pacientes, se decidió administrarles el fármaco a las pacientes sometidas a FIV por tercera vez, para determinar si la adición de esta citocina pudiera influenciar en la implantación de una forma benéfica partiendo del hecho que se ha confirmado en la literatura su presencia e importancia específicamente en esta etapa en particular y por la demostración de que en su ausencia existe falla de implantación en ratones knock out.²⁶

El presente estudio está limitado por el número reducido de pacientes por lo que no es posible realizar conclusiones en relación a la efectividad del factor estimulante de colonias de granulocitos para mejorar la tasa de implantación en este tipo de pacientes. Otra deficiencia del estudio es que se está comparando contra un control histórico en quienes se utilizaron mayores dosis de gonadotropinas y además constituido por un mayor número de de pacientes con infertilidad secundaria, factores que en un momento dado podrían cesgar el estudio a favor del control. Por esta razón se propone realizar un ensayo clínico aleatorizado donde se puedan controlar dichas variables y de esta forma establecer la efectividad clínica del filgrastim en la implantación y conocer si tiene o no un beneficio en estas pacientes.

Es importante mencionar que pacientes con 2 ciclos previos de FIV sin éxito son pacientes con mal pronóstico reproductivo, por lo que la tasa de embarazo esperada en ambos grupos es menor a la esperada en pacientes sometidas a su primer ciclo de FIV. No es una sorpresa que la tasa de embarazo en ambos grupos sea menor a 30%.

Cabe mencionar que el embarazo clínico ocurrido en el grupo que recibió filgrastim fue en la única paciente que tenía un factor reproductivo idiopático, sin endometriosis, joven (33 años), factor masculino normal (morfología de 12%), perfil hormonal basal normal, ultrasonido basal de características normales, adecuada respuesta a la estimulación (estradiol de disparo de 1562 ng/dl y se capturaron 12 ovocitos en metafase II), con antecedente de 2 ciclos previos con transferencia de al menos 2 ovocitos calidad 1 y 2 en cada ciclo. Esto nos podría sugerir que en este caso en particular, al agregar el medicamento en su tercer ciclo, como única variable distinta respecto a los otros 2 ciclos, influyó en el logro del embarazo.

Capítulo 5

CONCLUSIONES

Este estudio parece indicar que la aplicación factor estimulante de colonias de granulocitos en mujeres con falla de implantación en ciclos de fertilización in vitro no causa alteraciones hematológicas significativas ni modifica las probabilidades de lograr un embarazo, queda por aclarar si su aplicación pudiera ser benéfica durante la fase de implantación.

Capítulo 6

ANEXOS

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Responsables del proyecto:

Dr. Álvaro Santibáñez Moreno Teléfono: 55209900 ext.239 y 110

Dr. Enrique Reyes Muñoz. Teléfono: 55209900 ext.299

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN: Efectividad clínica de la aplicación de factor estimulante de colonias de granulocitos, en mujeres con falla de implantación en ciclos de fertilización in vitro.

PROPÓSITO: El propósito de este estudio es comparar el porcentaje de embarazo al utilizar un medicamento que contiene factor estimulante de colonias de granulocitos (células de la sangre), llamado: Filgrastim, durante un ciclo de fertilización in vitro (FIVTE), en mujeres que no lograron el embarazo en dos FIVTE ó ICSI previos. El factor estimulante de granulocitos (G-CSF), es una sustancia que se produce naturalmente en el útero, trompas de Falopio y ovarios. Los estudios actuales muestran efectos benéficos del G-CSF en humanos, en cuanto a calidad de los óvulos, embriones y capacidad de lograr el embarazo. Dicha sustancia se logró fabricar en el laboratorio en forma de solución inyectable (Filgrastim), con la misma función que la producida en forma natural.

El Filgrastim, se ha utilizado en mujeres con antecedente de dos ó mas abortos logrando un mayor porcentaje de embarazo, en comparación con las mujeres que no utilizaron el medicamento. No se ha utilizado el medicamento en mujeres con infertilidad que no lograron el embarazo después de dos FIVTE o ICSI previos. Deseamos conocer, si esta sustancia ayuda a mejorar el porcentaje de embarazo en mujeres que no lograron el embarazo después de dos ciclos previos de FIV/ICSI comparado con solución inyectable sin Filgrastim.

METODOLOGIA: Si usted esta de acuerdo en participar voluntariamente en este estudio, se aplicará el Filgrastim, vía subcutánea, iniciando el día de la captura de ovocitos, hasta 17 días después.

RIESGOS: El Filgrastim es un medicamento aprobado por la Secretaria de Salud y que se utiliza de manera segura, para el tratamiento de varias enfermedades como; leucemias, virus de inmunodeficiencia humana, pié diabético e infarto agudo de miocardio, con dosis de 5 microgramos por kilo día.

El Filgrastim se ha utilizado en pacientes 35 mujeres con tres o mas abortos, a dosis de 1 microgramo por kilo por día, (cuatro veces menor de la dosis habitual), durante 10 semanas, en este grupo de mujeres no se presentaron efectos adversos importantes, solo una mujer presentó irritación leve en la piel y dos presentaron aumento de leucocitos (células de la sangre). Ningún recién nacido presentó anormalidades mayores o menores ni malformaciones y todos tuvieron un embarazo normal; sin embargo, no contamos con evidencia de alteraciones en los recién nacidos a largo plazo. Se han realizado estudios de embriones con medios de cultivo adicionados con factor estimulante de granulocitos y no se han observado alteraciones genéticas.

BENEFICIOS: Al participar en el estudio usted podría verse beneficiada, ante la posibilidad de una mayor probabilidad de embarazo.

COSTOS FINANCIEROS: Independientemente que decida o no participar en el estudio, usted deberá pagar los procedimientos relacionados con estimulación ovárica, seguimiento folicular, procedimiento de fertilización in vitro (captura de óvulos, fertilización y transferencia de embriones) en el INPERIER, como cualquier otra paciente perteneciente al Instituto. El Filgrastim será otorgado en forma gratuita, sin costo adicional para usted.

ALTERNATIVAS: Si usted decide no participar en el estudio, su atención médica no se vera afectada de ninguna manera en el Instituto.

COMPENSACION: Si usted decide participar en el estudio, le notificamos que no existirá ningún tipo de compensación extra por su participación.

CONFIDENCIALIDAD: Toda la información obtenida en este estudio será estrictamente confidencial, excepto la requerida por la ley, se asignará un código de letras para conservar la confidencialidad de cada participante. Una vez publicados los resultados del estudio, su nombre no será mencionado.

INFORMACION ADICIONAL: Cualquier información que se identifique durante el estudio y que perjudique su bienestar, le será informado de inmediato.

ABANDONO DEL ESTUDIO: Su participación en el estudio es totalmente voluntaria y es muy importante que sepa que podrá negarse a participar en cualquier momento, sin que esto afecte su atención médica presente o futura en el INPERIER.

LESIONES / COMPLICACIONES: En caso de cualquier lesión física como resultado de la metodología del estudio, se le proporcionará atención y tratamiento médico; sin costo alguno para usted; sin embargo, no se le dará ningún tipo de compensación económica por parte del INPERIER. En el caso de que se presente algún tipo de gasto médico no atribuible a las condiciones del estudio, este deberá ser financiado por usted o por la persona responsable de sus gastos.

DERECHOS DEL SUJETO: Si usted requiere obtener mayor información acerca de sus derechos como sujeto de investigación, puede solicitarla al médico responsable a los teléfonos que aparecen en la primera pagina. Tenga en cuenta que usted tiene la oportunidad de hacer cualquier pregunta relacionada con el estudio y que esta le sea contestada a su entera satisfacción.

CONCLUSIONES: 1) Usted ha leído y entendido la presente forma de consentimiento informado. 2) Usted esta de acuerdo en participar en este estudio de investigación. 3) Al firmar usted recibirá una copia de esta carta. Para los fines que se estime conveniente, firmo la presente junto al investigador que me informó y dos testigos.

México D.F. a _____ de _____ del 200_____

Nombre de la paciente _____ Firma: _____

Nombre del Investigador: _____ Firma: _____

Nombre testigo 1: _____ Firma: _____

Relación con la paciente: _____

Nombre testigo 2: _____ Firma: _____

Relación con la paciente: _____

HOJA DE RECOLECCION DE DATOS

TITULO DEL PROYECTO: Efectividad clínica de la aplicación de “Factor estimulante de colonias de Granulocitos” en mujeres con falla de implantación en ciclos de fertilización in vitro.

INICIALES: _____ Registro: _____ Edad: _____							
Gesta: A: _____ P: _____ C: _____ E: _____ Peso: _____ Talla: _____ IMC: _____							
Tipo de infertilidad: _____							
Factores identificados: Tubario _____ Endócrino _____ Masculino _____ Idiopático _____							
Endometriosis: Si _____ No _____							
Duración en años de infertilidad: _____							
Medicamentos: _____							
Grupo 1 _____ Grupo 2 _____							
Análogo GnRH: Agonista _____ Antagonista _____							
Gonal _____ Menotropinas _____							
VARIABLE	Basal	Día	Día	Día	Día	Día	Disparo
LH							
FSH							
ESTRADIOL							
PROGESTERONA							
Dosis FSH							
No. Folículos ≥18mm: _____ No. Ovocitos capturados: _____							
Morfología espermática: _____							
No. ovocitos en Metafase I: _____ Metafasell: _____ Profase1: _____ Degenerados: _____							
No. ovocitos fertilizados _____							
Calidad de embriones transferidos: Calidad 1 _____ Calidad 2 _____ Calidad 3 _____							
Técnica de reproducción asistida: FIVTE _____ ICSI _____							
Embarazo bioquímico: _____ embarazo clínico: _____ embarazo múltiple: _____ _____ RN vivo _____ Aborto _____							
Filgrastim: basales _____ postransferencia _____ postransferencia _____						Leucocitos Leucocitos día 7 Leucocitos día 14	

Capítulo 7

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Gutierrez-Delgado F, Bensinger W. Safety of granulocyte colony-stimulating factor in normal donors. *Curr Opin Hematol* 2001;8:155–160.
2. Demetri GD, Griffin JD. Granulocyte colony-stimulating factor and its receptor. *Blood* 1991;78:2791–2808.
3. Vanz A, Renard G, Palma M, Chies JM, Dalmora S, Basso L et al. Human granulocyte colony stimulating factor (hG-CSF): cloning, overexpression, purification and characterization. *Microbial Cell Factories* 2008;7:1-13.
4. U.S Food & Drug Administration. U.S Department of Health and Human Services Therapeutic Biological Products Approvals.
5. [<http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/onctools/druglist.cfm>].
6. ¹ Ho VT, Mirza NQ, Junco Dd D, Okamura T, Przepiorka D. The effect of hematopoietic growth factors on the risk of graft-vs-host disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a meta-analysis. *Bone Marrow Transplant*. 2003;32: 771–775.
7. Abdel-Latif A, Bolli R, Zuba-Surma EK, Tleyjeh IM, Hornung CA, Dawn B. Granulocyte colony-stimulating factor therapy for cardiac repair after acute myocardial infarction: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Am Heart J* 2008;156:216-226.
8. Kuritzkes DR, Parenti D, Ward DJ, Rachlis A, Wong RJ, Mallon KP et al. Filgrastim prevents severe neutropenia and reduces infective morbidity in patients with advanced HIV infection: results of a randomized, multicenter, controlled trial. *Aids* 1998;12:65-74.
9. Zhao Y, Rong H, Chegini N. Expression and Selective Cellular Localization of Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor (GM-CSF) and GM-CSF α and β Receptor Messenger Ribonucleic Acid and Protein in Human Ovarian Tissue. *Biol Reprod* 1995;53: 923-930.

10. Giacomini G, Tabibzadeh S, Satyaswaroop P, Bonsi L, Vitale L, Bagnare GP et al. Epithelial cells are the major source of biologically active granulocyte macrophage colony-stimulating factor in human endometrium. *Hum Reprod* 1995;10:3259-3263.
11. Sjoblom C, Wikland M, Robertson SA. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor promotes human blastocyst development *in vitro*. *Hum Reprod* 1999;14:3069-3076.
12. Kawano Y, Kawasaki F, Nakamura S, Matsui N, Narahara H, Miyakawa I. The Production and Clinical Evaluation of Macrophage Colony-Stimulating Factor and Macrophage Chemoattractant Protein-1 in Human Follicular Fluids. *Am J Reprod Immunol* 2001;45:1–5.
13. Sjoblom C, Wikland M, Robertson S. Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor (GM-CSF) Acts Independently of the Beta Common Subunit of the GM-CSF Receptor to Prevent Inner Cell Mass Apoptosis in Human Embryos. *Biol Reprod* 2002; 67:1817-1823.
14. Kawano Y, Fukuda J, Itoh H, Takai N, Nasu K, Miyakawa I. The Effect of Inflammatory Cytokines on Secretion of Macrophage Colony-Stimulating Factor and Monocyte Chemoattractant Protein-1 in Human Granulosa Cells. *AJRI* 2004; 52:124–128.
15. Salmassi A, Schmutzler G, Huang L, Hedderich J, Jonat W, Mettler L. Detection of granulocyte colony-stimulating factor and its receptor in human follicular luteinized granulosa cells. *Fertil Steril* 2004;81:786-791.
16. Salmassi A, Schmutzler A, Schafer S, Koch K, Hedderich J, Jonat W et al. Is granulocyte colony-stimulating factor level predictive for human IVF outcome? *Hum Reprod* 2005;20:2434-2440.
17. Lédée N, Lombroso R, Lombardelli L, Selva J, Dubanchet S, Chaouat G et al. Cytokines and chemokines in follicular fluids and potential of the corresponding embryo: the role of granulocyte colony-stimulating factor. *Hum Reprod* 2008; 23:2001-2009.

18. Asimakopoulos B, Abu-Hassan D, Metzen E, Al-Hasani S, Diedrich K, Nikolettos N. The levels of steroid hormones and cytokines in individual follicles are not associated with the fertilization outcome after intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril* 2008;90:60–4.
19. Scarpellini F, Sbracia M. Use of Granulocyte colony-stimulating factor for the treatment of unexplained recurrent miscarriage: a randomised controlled trial. *Hum Reprod* 2009;24:2703-2708.
20. Agerholm IE, Loft A, Hald F et al. Culture of human oocytes with granulocyte-macrophage colony-stimulating factor has no effect on embryonic chromosomal constitution. *RBMonline* 2010; 4: in press.
21. Salmassi A, Mettler L, Walter J, Sybille B, Kerstin K, Schmutzler A. Circulating level of macrophage colony-stimulating factor can be predictive for human in vitro fertilization outcome. *Fertil Steril* 2010;93:116-123.
22. ¹ Norwitz E, Schust DJ, Fisher S. Implantation and the survival of early pregnancy. *N Engl J Med* 2001;345:1400-1408.
23. Simón C, Horcajadas J, García-Velasco J, Pellicer A. El Endometrio humano. 2009. España: Edit Panamericana. Cap 3 Pág 20-37.
24. Aghajanova L, Hamilton A, Giudice. Uterine receptivity to human embryonic implantation: Histology, biomarkers and transcriptomics. *Cell Develop Biol* 2008;19:204-211.
25. Simón C, Moreno C, Remohí J, Pellicer A. Cytokines and embryo implantation. *J Immunol* 1998;39:117-131.
26. Veeck L, Zaninovic N. An atlas of human blastocysts. 2003. New York:Edit Parthenon. Cap 1. Pág 15-37.
27. Robertson S. GM-CSF regulation of embryo development and pregnancy. *Cytokine Growth Factor Rev* 2007;18:287-298.

28. Lindhard A, Bentin U, Ravn V, Islin H, Hviid T, Rex S et al. Biochemical evaluation of endometrial function at the time of implantation. *Fertil Steril* 2002;78:221-233.
29. Laird S. Cytokine expression in the endometrium of women with implantation failure and recurrent miscarriage. *RBM Online* 2006; 13:13-23.
30. Lédée N, Frydman R, Osipova A, Taieb J, Gallot V, Lombardelli L et al. Levels of follicular G-CSF and interleukin-15 appear as noninvasive biomarkers of subsequent successful birth in modified natural in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection cycles. *Fertil Steril* 2010 in Press.
31. Fukui A, Kwak-kim J, Ntrivalis E, Gilman-Sachs A, Lee S, Beaman K. Intracellular cytokine expression of peripheral blood natural killer cell subsets in women with recurrent spontaneous abortions and implantation failures. *Fertil Steril* 2008;89:157-165.

DATOS DE TESIS TA

DATOS PERSONALES

Nombre: Fiorella Bagnarello González.
Lugar de nacimiento: San José, Costa Rica
Fecha de nacimiento: 13 de setiembre, 1980
Nacionalidad: costarricense
Estado civil: casada
Email: fiobagnarello@yahoo.com
Número de cédula profesional: extranjera. Código 8052
CURP : BAGF800913MNEGNR06

FORMACIÓN

Básica: Primaria y secundaria: Colegio Saint Francis
San José, Costa Rica
Correo electrónico: sfc@stfrancis.ed.cr
Profesional de Pregrado: Universidad de Ciencias Médicas
Escuela Autónoma de Ciencias Médicas de Centro America
Dr. Andrés Vesalio Guzmán Calleja
San José, Costa Rica
Correo electrónico: www.ucimed.com
Profesional de Posgrado: Universidad de Costa Rica.
Residencia en Ginecología y Obstetricia.

ACTIVIDADES PROFESIONALES DOCENTES

Conferencias

Función ovárica después de embolización de arterias uterinas para el tratamiento de miomatosis uterina. Serie de casos.
X Congreso Nacional de Ginecología y Obstetricia
Hotel San José Palacio, San José, Costa Rica
8 de junio, 2008

PRODUCCION CIENTÍFICA

Revistas

Cáncer de Cérvix en Costa Rica. Región Pacífico Central- Área de Salud de Chacarita 2001-2004. Revista Médica de Costa Rica y Centroamérica.
Julio, Agosto, Setiembre 2005
Número 572, Tomo LXII

Libros

Insuficiencia ovárica prematura. Capítulo 23. Tópicos selectos en endocrinología reproductiva, 2010. Editorial Alfil. México DF.

CONGRESOS Y EVENTOS CIENTIFICOS

Asistencia y Participación

VII Congreso Nacional de Ginecología y Obstetricia, Costa Rica (2005)

VIII Congreso Nacional de Ginecología y Obstetricia, Costa Rica (2006)

IX Congreso Nacional de Ginecología y Obstetricia, Costa Rica (2007)

X Congreso Nacional de Ginecología y Obstetricia, Costa Rica (2008)

Curso de Reanimación Neonatal Avanzado (2008) Centro de Desarrollo Estratégico e Información en Salud y Seguridad Social (CENDEISSS) Costa Rica

2ndo Congreso Regional Asociación Mexicana para el Estudio del Climaterio, México DF. (Agosto 2009)

XXVI Reunión Anual Consensos en Salud Materna y Perinatal Objetivo Común-Responsabilidad compartida. INPerIER (Septiembre 2009)

Trabajo Libre: Prevalencia de eyaculación retrógrada en infertilidad asociada a hipospermia. 60vo Congreso Mexicano de Ginecología y Obstetricia . Cancún, Quintana Roo.(Noviembre 2009)

Curso Internacional “Tópicos Selectos y Alternativas Terapéuticas en Infertilidad”. Colegio Mexicano de Especialistas en Ginecología y Obstetricia. México, D.F. (Diciembre 2009)

Curso Monográfico “Actualidades en la Regulación de la Fertilidad Humana”. INPerIER (Julio 2010)

DISTINCIONES

Altos Honores

Pasantía en Endocrinología Reproductiva e Infertilidad.

Universidad de Harvard.

Brigham and Women’s Hospital.

Boston, Massachussets.

Estados Unidos, 2005