

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO  
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES PUERTA DE HIERRO  
INSTITUTO DE CIENCIAS EN REPRODUCCIÓN HUMANA “VIDA”**



**“CALIDAD Y RECUPERACIÓN OVOCITARIA CON EL USO CONCOMITANTE DE  
HORMONA FOLÍCULO ESTIMULANTE, AL MOMENTO DEL DISPARO DE  
HORMONA GONADOTROFINA CORIONICA EN CICLOS DE FIV E ICSI”**

Tesis para obtener diploma en el Post Grado de:

**BIOLOGIA DE LA REPRODUCCION**

Presenta:

**DRA. NADIA LORENA SUAREZ MAGAÑA**

---

**Dr. Efraín Pérez Peña**  
Asesor Académico

---

**Dr. Francisco Rojas Romero.**  
Asesor Operacional

---

**Biol. Antonio Vidal Pascual Rodríguez.**  
Colaboradora.

---

**Biol. Ana Karina Robles Murillo.**  
Colaborador.

**Guadalajara, Jalisco, México, 2012**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

## INDICE

<b><u>CONTENIDO</u></b>	<b><u>PAGINA</u></b>
DATOS GENERALES	1
INDICE	2
INTRODUCCION	3
ANTECEDENTES	4
MARCO TEORICO	6
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	37
JUSTIFICACION	38
OBJETIVOS	39
HIPOTESIS	40
MATERIAL Y METODOS	41
RESULTADOS	44
DISCUSION	65
CONCLUSIONES	69
BIBLIOGRAFIA	70
ANEXOS	78

## INTRODUCCION

En las últimas décadas, se han elevado en forma importante las tasas de éxito de las técnicas de reproducción asistida (TRA), ya que se han logrado mejorar las condiciones del laboratorio y la optimización en los protocolos de estimulación ovárica, incluyendo los métodos para la maduración final de los ovocitos. <sup>(1,2)</sup>

En la mayoría de los mamíferos, la ovulación espontánea es precedida por un aumento de la Hormona folículo estimulante (FSH), así como de la Hormona Luteinizante (LH) <sup>(1,2)</sup>. Este aumento hormonal combinado es necesario para la maduración final de los ovocitos (meiosis) y el inicio de la ruptura folicular, que normalmente ocurre en las 36 horas posteriores. <sup>(1,2)</sup>

En un ciclo estándar de Fertilización In Vitro (FIV), la Hormona Gonadotrofina coriónica (hCG) es administrada 36 horas antes de la captura folicular para estimular el pico de LH y promover la maduración final del ovocito; sin embargo la última dosis de FSH puede ser administrada hasta 2 días previos a la captura, permitiendo que los niveles de FSH caigan antes de la maduración final. Además, en los protocolos modernos hay una supresión pituitaria intencional, limitando la FSH y LH endógena. <sup>(2)</sup>

En función a que surge un aumento fisiológico de FSH antes de la ovulación, partimos de la hipótesis que la FSH suplementaria puede mejorar la recuperación y calidad ovocitaria. Por ello este estudio tuvo por objeto mostrar la calidad y la recuperación ovocitaria obtenida con el uso simultáneo de la hormona folículo estimulante con el disparo de hormona gonadotropina criónica en la estimulación ovárica controlada en ciclos de FIV e ICSI.

## ANTECEDENTES

En muchas especies de mamíferos, incluyendo los primates y las mujeres, un aumento de hormona folículo estimulante (FSH) acompaña al pico de hormona luteinizante (LH) a mitad del ciclo. Sin embargo, las manifestaciones fisiológicas del pico de gonadotrofinas a mitad del ciclo en el folículo preovulatorio (reinicio de la meiosis, ovulación, luteinización de la pared folicular y desarrollo del cuerpo lúteo) han sido atribuidas principalmente a la acción de la LH. <sup>(3)</sup>

Aunque muchos estudios han sugerido un rol de la FSH en la ovulación, su contribución relativa al proceso ovulatorio se sospechó por contaminación residual de LH en las preparaciones de FSH purificada que eran usadas. La disponibilidad reciente de FSH recombinante humana (FSHr), sin actividad de LH permitió estudios que confirmaron la habilidad de la FSH para suplantar el pico de LH promoviendo ciertos eventos periovulatorios en roedores. La ovulación y aumento en la actividad proteolítica de enzimas que degradan la pared folicular, así como la luteinización de células foliculares y la formación del cuerpo lúteo ocurrieron durante una inyección de FSHr en ratas y ratones hipofisectomizados (Galway et al., 1990).

Para maximizar el éxito de la FIV, la estimulación ovárica se lleva a cabo para generar múltiples ovocitos en un ciclo. Este proceso se sobrepone a los mecanismos fisiológicos que normalmente seleccionan a un folículo dominante. La regulación de la selección, crecimiento, y ovulación del folículo dominante es un proceso complejo que involucra a la FSH, LH, y la modulación de una red intraovárica de factores regulados hormonalmente. <sup>(70, 71)</sup> Los picos tanto de FSH y LH preceden a la ovulación espontánea, caracterizada por desprendimiento del complejo cúmulo-ovocito de la pared folicular y la subsecuente expulsión del ovario. Está bien aceptado que la LH es obligada para la maduración nuclear del ovocito y tiene un rol fundamental en la ovulación. Sin embargo, la FSH pura ha mostrado que estimula al factor activador de plasminógeno dentro de las células de la granulosa e induce la ovulación en ratas hipofisectomizadas. La plasmina, esta presumiblemente

involucrada en la disociación del ovocito de la pared folicular y el debilitamiento de la pared para facilitar la ruptura. <sup>(71)</sup>

El primer estudio aleatorizado, doble ciego diseñado para determinar si la competencia ovocitaria puede mejorarse con la modificación del disparo final para maduración ovocitaria fue realizado por Lamb, J., et al., en 2011. Los únicos reportes específicos de administración de FSH al momento del disparo en humanos es un caso de aplicación inadvertida de FSH en lugar de 10,000 IU de hCG 36 horas antes de captura ovocitaria. <sup>(72)</sup> La dosis accidental fue más de 4 veces mayor (2,100 IU) que la administrada en el primer estudio (450 IU). No hubo resultados adversos; al contrario, ocho de los nueve ovocitos recuperados estaban maduros.

Otros estudios han evaluado la FSH suplementaria de forma indirecta, a través del uso de agonistas de GnRH; aunque estos estudios estaban destinados a reducir hiperestimulación ovárica, el disparo con agonista de GnRH resulta en un pico pituitario de LH y FSH. Este pico es similar al visto en ciclos naturales (25 IU/L), pero regresan a niveles basales (11 a 12 IU/L) probablemente por la supresión pituitaria final por el agonista.

## MARCO TEÓRICO

La fecundación in vitro (FIV o IVF por sus siglas en inglés) es una técnica por la cual la fecundación de los ovocitos por los espermatozoides se realiza fuera del cuerpo de la madre. El término in vitro es un término en latín que significa en cristal, en los primeros experimentos biológicos los cultivos de tejido realizados fuera del organismo se realizaban en tubos de ensayo, probetas o placas de Petri cuyo material es el cristal, el término in vitro se utilizaba para diferenciar un experimento in vivo donde se realizaban dentro del organismo. <sup>(1-3)</sup>

La fertilización in vitro aparece como técnica especial para tratar la infertilidad en 1978, de ahí se ha perfeccionado, convirtiéndose en una técnica que realiza la transferencia de embriones (FIV y TE) que consiste en la aspiración transvaginal de ovocitos para inseminarse con espermatozoides previamente preparados, proporcionar condiciones óptimas para la fertilización en el laboratorio, evaluar la división celular de los embriones y transferirlos en el momento oportuno por vía transcervical a la cavidad endometrial. <sup>(2-4)</sup>

Se considera que más de cinco millones de niños han nacido como resultado de esta técnica y múltiples variantes derivadas de ella. Esta técnica de FIV se utiliza en todo el mundo y sólo en Estados Unidos existen más de 400 centros de reproducción asistida (RA). En México menos del 50% de los centros existentes están acreditados e informan anualmente sus resultados a la Red Latinoamericana de Reproducción Asistida. <sup>(4,5)</sup>

La FIV requiere una cavidad uterina adecuada, al menos un ovario funcional y accesible para la obtención de ovocitos y una muestra espermática aceptable. <sup>(5)</sup> Si estos factores no están disponibles se deben considerar otras alternativas, como empleo de madres subrogadas, donación de óvulos, Inyección intracitoplasmática e esperma (ICSI) y empleo de espermatozoides de donador. Como la fertilidad

disminuye con la edad de la mujer, éste es un factor muy importante al evaluar resultados esperados. <sup>(6,7)</sup>

Entre el sexto y séptimo día de desarrollo uno de esos folículos toma el lugar dominante e impide el desarrollo de los demás convirtiéndose en el único que llega al momento de la ovulación. <sup>(8)</sup> En los tratamientos de fertilización asistida convencionales, se suelen utilizar diferentes dosis de hormonas para lograr mayor cantidad de óvulos disponibles para intentar la fertilización y así tratar de transferir al útero más de un embrión. <sup>(8,9)</sup>

Para ello, se lleva a cabo un monitoreo ultrasonográfico y/o de niveles de estradiol sérico para comprobar la respuesta a la medicación administrada. Estos controles permiten ajustar la medicación en función de la respuesta y determinar el mejor momento para realizar la aspiración de los ovocitos.

### **El ciclo de fertilización in Vitro**

El procedimiento normal de un ciclo de fertilización in Vitro incluye cuatro pasos:

- 1) La estimulación ovárica controlada.
- 2) Aspiración folicular
- 3) Fertilización en laboratorio.
- 4) Transferencia de embriones.

La Fertilización in Vitro es un proceso que se desarrolla paulatinamente a lo largo de varias fases. Primero se estimulan los ovarios para obtener ovocitos, que más tarde, se inseminarán in vitro en el laboratorio. <sup>(11)</sup> Después de cultivar estos ovocitos fecundados se procede a la transferencia de los mejores embriones al interior del útero de la mujer para que puedan implantar y dar lugar al tan deseado embarazo. <sup>(12)</sup>

**1ª Fase FIV “Estimulación ovárica controlada”**: El objetivo de esta fase de la fecundación in vitro es el desarrollo de varios folículos en los ovarios. No existe una pauta estándar en esta fase y la medicación que se administra depende mucho de

las características de cada paciente. Algunos de los criterios que se tienen en cuenta a la hora de pautarla son la edad, las características morfológicas de sus ovarios, los resultados de los análisis hormonales, el peso, el tamaño, y en su respuesta a los procesos de estimulación de los ciclos reproductivos. <sup>(12-14)</sup> Se deberán valorar todas estas variables y, entonces pautar la medicación más conveniente para favorecer el desarrollo folicular múltiple (DFM). Un número elevado de folículos aumenta las posibilidades de obtener suficientes embriones de calidad que posibiliten la posterior implantación uterina y, en consecuencia, el éxito del tratamiento. <sup>(15)</sup> Para favorecer este DFM se suelen emplear inyecciones de hormonas gonadotrofinas (FSH), además se mantiene un control exhaustivo de la respuesta ovárica de cada paciente. De tal forma que se pueda determinar cual es el mejor momento para inducir la ovulación. <sup>(16)</sup>

*La “Desensibilización de la hipófisis”, se lleva a cabo durante un tratamiento de FIV y consiste en suministrar a la paciente medicamentos (agonistas ó antagonistas de la GnRH) que se encargan de inhibir la acción de las hormonas secretadas por la hipófisis, para poder controlar su funcionamiento favoreciendo la estimulación ovárica posterior. <sup>(17)</sup>*

**2ª Fase FIV “Estimulación ovárica controlada”**: Esta fase se inicia después de comprobar el desarrollo de los folículos ováricos. Se busca que estos alcancen un tamaño superior a los 18 mm; una vez que se ha verificado esto y que se obtiene una lectura favorable de los niveles de estradiol se puede proceder con la inducción a la ovulación. Para lograrla artificialmente se recurre a la hormona gonadotropina coriónica. Esta hormona induce la maduración final del ovocito y la consiguiente ovulación. <sup>(18,19)</sup>

**3ª Fase “Obtención de los ovocitos”**: Una vez logradas las condiciones óptimas para la maduración de los ovocitos se procede a la extracción de éstos, de los folículos ováricos. Para realizarla se emplea la punción-aspiración transvaginal guiada ecográficamente. <sup>(20)</sup> El líquido folicular aspirado pasa al laboratorio donde el

equipo técnico se encarga de recuperar, lavar y clasificar los óvulos obtenidos. En este proceso se valora tanto la madurez como la calidad de éstos lo que permite escoger los más viables para llevar el proceso a buen término. Una vez clasificados, los ovocitos son almacenados en el interior de incubadoras especiales que los mantienen a 37°C mientras esperan ser inseminados por los espermatozoides.<sup>(21,22)</sup> Esta tercera fase del proceso de Fecundación in Vitro tiene lugar alrededor de 36 horas después de haber procedido a inducir la ovulación. Es una intervención breve, se emplea una sedación ligera y la paciente externarse.<sup>(23)</sup>

### **Preparación de los espermatozoides en el laboratorio**

De manera paralela a la punción folicular es necesario recoger una muestra de semen del futuro padre que será procesada en el laboratorio de andrología, donde se valora su calidad, seleccionando los mejores espermatozoides para emplearlos en el proceso de Fecundación in Vitro. En caso de que en el proceso de Fecundación in Vitro se vaya a emplear una muestra de semen congelado o de un donante anónimo, se procederá primero a su descongelación.<sup>(24-26)</sup>

Debe ser recolectada tras un mínimo de 2 días y un máximo de 7 días de abstinencia sexual. Si se requieren muestras adicionales, el número de días de abstinencia sexual debe ser tan constante como sea posible. Se debe enfatizar que la muestra de semen necesita estar completa y se debe reportar cualquier pérdida.<sup>(28)</sup>

Se evalúan los siguientes parámetros:

#### **Licuefacción:**

Inmediatamente después de la eyaculación, el semen es generalmente una masa semisólida. Mientras la licuefacción continua, el semen se hace más homogéneo y acuoso, y en las etapas finales sólo pequeñas áreas de coagulación permanecen.<sup>(30)</sup> Normalmente toma 15 minutos a temperatura ambiente, aunque raramente puede tomar hasta 60 minutos o más.<sup>(24-27)</sup>

### Viscosidad:

Tras la licuefacción, la viscosidad de la muestra puede estimarse aspirándolo gentilmente en una pipeta de aproximadamente 1.5mm de diámetro, y permitiendo que caiga por gravedad observando la longitud del filamento. Una muestra normal deja la pipeta en pequeñas gotas. Si la viscosidad es anormal, la gota formara un hilo >2 centímetros. <sup>(26)</sup>

### Volumen de Semen:

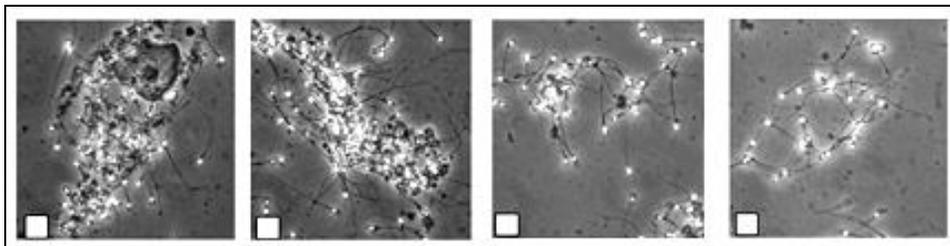
El volumen del eyaculado es una contribución principal de las vesículas seminales y próstata, con una pequeña cantidad de las glándulas bulbouretrales y epididimales. <sup>(33-35)</sup> El límite inferior de volumen seminal es 1.5ml.

### pH Seminal:

El pH del semen refleja el balance entre los valores de pH de las diferentes secreciones glandulares, principalmente la secreción alcalina de las vesículas seminales y la secreción ácida de la próstata. <sup>(25-27)</sup> El valor consenso es 7.2 como el límite inferior. <sup>(28)</sup> Si el pH es <7.0 en una muestra con poco volumen y bajo conteo espermático, puede haber obstrucción de conductos o agenesia congénita. El pH del semen aumenta con el tiempo, pues los mecanismos de amortiguador disminuyen, por lo que valores elevados de de pH proveen poca información clínica. <sup>(27,28)</sup>

### Agregación de los espermatozoides:

La adherencia de espermatozoides inmóviles uno con otro, o espermatozoides móviles a fibras de mocos, otras células o residuos celulares se considera agregación no específica. <sup>(25)</sup>



Agregación no específica en semen.

Vista de espermatozoides agregados con células epiteliales (a), residuos (b) o espermatozoides (c, d).

Aglutinación de espermatozoides:

La aglutinación se refiere específicamente a espermatozoides móviles adhiriéndose unos con otros, cabeza-cabeza, cola-cola, o de forma mezclada. La motilidad es generalmente vigorosa con un movimiento frenético, pero a veces están tan aglutinados que su movimiento es limitado. <sup>(26)</sup> El tipo (reflejando los grados (1–4) y sitio de unión (grados A–E)) debe ser registrado:

Degree of agglutination				
Parts involved	1. Isolated (< 10 sperm/agglutinate, many free sperm)	2. Moderate (10–50 sperm/agglutinate, free sperm)	3. Large (agglutinates > 50 sperm, some sperm still free)	4. Gross (all sperm agglutinated, and agglutinates interconnected)
A. Head-to-head				
B. Tail-to-tail (heads are seen to be free and move clear of agglutinates)				
C. Tail-tip-to-tail-tip				
D. Mixed (clear head-to-head and tail-to-tail agglutinations)				
E. Tangle (heads and tails enmeshed. Heads are not clear of agglutinates as they are in tail-to-tail agglutination)				

La presencia de aglutinación no es suficiente evidencia para deducir una causa inmunológica de infertilidad, pero es muy sugestiva de la presencia de anticuerpos anti-espermatozoide. <sup>(27)</sup>

### Motilidad espermática.

Se gradúa como sigue:

- a) Motilidad progresiva (PR): Espermatozoides moviéndose activamente, ya sea lineal o en círculos grandes, sin importar la velocidad.
- b) Motilidad No-progresiva (NP): Todos los demás patrones de motilidad con ausencia de progresión.
- c) Inmovilidad (IM): Sin movimiento.

El límite bajo para motilidad total (PR+NP) es 40%. El límite bajo de referencia para motilidad progresiva (PR) es 32%.<sup>(27)</sup>

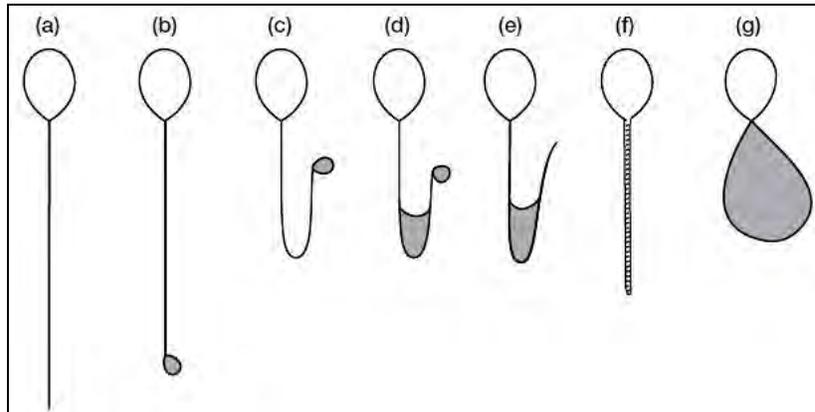
### Vitalidad espermática.

Es de especial importancia para muestras con menos de 40% de espermatozoides móviles progresivos.<sup>(27)</sup>

El porcentaje de espermatozoides vivos es establecido identificando aquellos con una membrana intacta, por tinción o inflamación hipotónica. En la siguiente figura, se aprecia un frotis con Eosina-nigrosina, donde se puede observar en óptica de luz. Los espermatozoides con cabeza roja (D1) o rosa oscuro (D2) son considerados muertos, mientras que aquellos con cabeza blanca (L) o rosa pálido están considerados vivos (membrana intacta).<sup>(24-28)</sup>



El esquema siguiente representa los cambios morfológicos típicos en espermatozoides sometidos a estrés hipo-osmótico. (a) sin cambio (b)–(g) varios tipos de cambios en la cola. Hinchazón en la cola se indica en la zona gris.



El límite inferior de referencia para vitalidad (membrana-intacta) es 58%.<sup>(28)</sup>

### Conteo Espermático.

El límite inferior de referencia para concentración espermática es  $15 \times 10^6$  espermatozoides por mililitro. El límite de referencia para espermatozoides totales es  $39 \times 10^6$  por eyaculado.<sup>(28)</sup>

### **Inseminación de los ovocitos:**

Se trata de la fase en la que se produce el contacto entre los espermatozoides y los ovocitos. Es la fase de la fecundación propiamente dicha y puede realizarse mediante dos técnicas diferentes. La elección de una u otra dependerá, sobretudo, de la calidad de los espermatozoides recuperados y del número de ovocitos disponibles.<sup>(29)</sup>

En la inseminación clásica se realiza entre las 3 y las 6 horas posteriores a la recuperación de los ovocitos. (En nuestro instituto se realiza a las 4 hrs posterior a la recuperación). Consiste en poner en contacto los espermatozoides con los ovocitos aislados anteriormente de los folículos ováricos de la mujer y esperar que de forma natural puedan fertilizar.<sup>(30)</sup>

Se preparan placas de cultivo adecuadas donde se colocan microgotas (de 30 microlitros) de medio de cultivo (cubiertas por parafina líquida) que contienen al menos una concentración aproximada de 100.000 espermatozoides móviles por mililitro (350,000/ $\mu$ l) Se introduce cada ovocito en el interior de cada una de las microgotas .Las placas de cultivo con los ovocitos inseminados se introducen en el interior de las incubadoras que los mantienen en un ambiente adecuado dónde tendrá lugar la fecundación del ovocito por el espermatozoide. <sup>(31)</sup>

### ***Inyección intracitoplásmica de Espermatozoides (ICSI)***

Es una técnica especial de inseminación asistida de los ovocitos que consiste en la microinyección de un sólo espermatozoide en el interior del citoplasma del ovocito. Con esta técnica se intenta facilitar la fecundación reduciendo o eliminando los obstáculos que se encuentran los espermatozoides en su intento de llegar al ovocito y fecundarlo. Se utiliza cuando el semen posee un número escaso de espermatozoides, una morfología menor a 5% utilizando criterio de Kruger, o astenozoospermia. <sup>(32)</sup>

### **Valoración de la fecundación:**

Entre 17 y 19 horas después de la inseminación y entre 15 y 18 horas después de un proceso ICSI se debe valorar si la acción ha tenido éxito y se ha logrado una correcta fecundación de los ovocitos. Los ovocitos fecundados se distinguen por poseer dos pronúcleos en el citoplasma y dos corpúsculos polares en el espacio perivitelino. Cuando observamos estas características podemos hablar ya de un cigoto. <sup>(33)</sup>

Mediante el proceso de fecundación se habrán obtenidos varios y todos ellos continuarán su desarrollo embrionario en el interior de incubadoras. Una vez que alcancen el estado apropiado de desarrollo se procederá a su implantación en el útero de la mujer. <sup>(34)</sup>

### **Cultivo “in Vitro” del embrión humano**

Este proceso de desarrollo se inicia en el momento de la penetración del espermatozoide al interior del citoplasma del ovocito formándose el cigoto. Posteriormente tiene lugar la fusión de los pronúcleos masculino y femenino dando lugar al comienzo del proceso de división embrionaria.<sup>(35)</sup>

Durante los siguientes días el embrión irá pasando por sucesivos estadios de desarrollo hasta alcanzar la etapa de Blastocisto. En esta etapa el embrión está formado por una cavidad interna llena de líquido o blastocele rodeada por una capa fina de células alargadas denominada trofotodermo.

En el interior del blastocisto se encuentra un grupo de células que forman la denominada masa celular interna (MCI) que son las que formarán el futuro embrión. Desde el día +5 al día +6, el blastocisto pasa por los distintos estadios: blastocisto temprano, blastocisto expandido (Día +5), blastocisto eclosionando, blastocisto eclosionado (Día +6).<sup>(36)</sup>

En este último estadio, conocido como blastocisto eclosionado, cuando ha salido ya de la zona pelúcida que lo envolvía, es cuando se dan las condiciones apropiadas para proceder a la implantación en el endometrio del útero materno.<sup>(37)</sup>

### **ESTIMULACION OVARICA**

La estimulación ovárica controlada ha pasado por fases, el primer nacimiento por fertilización in vitro, en 1978, se logró a través de un ciclo natural. Las bajas tasas de embarazo ocasionaron que en 1982 se empezara a practicar la estimulación ovárica controlada, inicialmente con mínima estimulación con citrato de clomifeno, complementado con gonadotropinas menopáusicas humanas (HMG) y hCG.<sup>(38)</sup>

El problema frecuente en este tipo de esquemas era que provocaba picos prematuros de LH, que cancelaba los ciclos en 20 a 30% de los casos. En la década de 1990, la aparición de análogos de GnRH, en un principio agonistas, disminuyó la

luteinización prematura al 2%, pero la supresión hipofisaria era tan acentuada en los ciclos largos, que se empezaron a requerir dosis más altas de gonadotropinas, lo cual fomentó complicaciones como el síndrome de hiperestimulación ovárica y los embarazos múltiples, con secuelas graves, en especial los de alto orden fetal. <sup>(39)</sup>

Hay varias líneas de evidencia que sugieren la importancia biológica para el incremento de FSH al momento de la maduración final del ovocito. Por ejemplo, la FSH tiene un efecto estimulador de la adquisición de la competencia ovocitaria en maduración in vitro. En el modelo animal en monos, la FSH por si sola, puede inducir la maduración ovocitaria y ovulación. <sup>(38,39)</sup>

Varios estudios realizados en ratas hipofisectomizadas, ratones, y más recientemente en macacos, han mostrando que la administración de hormona folículo estimulante recombinante (r-FSH) tras la inducción de un crecimiento folicular múltiple, en vez de hormona luteinizante (LH) o gonadotropina coriónica humana, tiene la habilidad de inducir eventos periovulatorios como maduración ovocitaria, luteinización de células de la granulosa, y fertilización durante FIV. <sup>(40)</sup>

Esto explica la tendencia a recurrir a los ciclos naturales o con estimulación mínima, aunado a la necesidad de lograr endometrios más receptivos fisiológicamente, procurando transferir menos embriones y mejorar esquemas de selección y criopreservación embrionaria. <sup>(40)</sup>

## **ESTIMULACIÓN OVÁRICA MÍNIMA**

Es un método que se utiliza con más frecuencia, se han creado sociedades y congresos regulares anuales dedicados exclusivamente a ella. El propósito es reducir las complicaciones de la estimulación ovárica controlada y convertir la reproducción asistida en un procedimiento menos costoso y seguro. Se procura obtener menos y mejores embriones para transferir en condiciones más fisiológicas, disminuir costos y dar oportunidad a que se apliquen más ciclos de tratamiento. Esto

no se limita a la estimulación ovárica mínima, sino también a transferencias electivas de un solo embrión o de dos embriones. <sup>(40-42)</sup>

Los esquemas que se utilizan son variados, incluyen CC o inhibidores de aromatasas solos o combinados con HMG. Los estudios retrospectivos en los que se reclutó a un gran número de pacientes sin seleccionar, muestran tasas de cancelación por ciclo que varían entre 40 y 50%, y el número de óvulos y su calidad son mucho menores que con los esquemas convencionales con análogos de GnRH y gonadotrofinas. Con indicaciones específicas, en especial en pacientes con buen pronóstico, es una alternativa que produce resultados similares a los obtenidos con esquemas más agresivos.

Puede realizarse también con FSH recombinante o HMG a dosis no mayores a 150 UI diarias. Con frecuencia, se utiliza en forma conjunta con antagonistas de GnRH, lo cual también resulta viable. En países del tercer mundo, para reducir costos y aumentar la accesibilidad, se administra citrato de clomifeno y en lugar del antagonista, dosis altas de indometacina, no es tan efectiva como el antagonista, además de que produce efectos colaterales. La estimulación ovárica mínima en reproducción asistida es idónea cuando se realiza en pacientes con buen pronóstico, que reciben una dosis establecida de 150 UI de FSHr y antagonista de GnRH en esquema fijo diario. <sup>(43)</sup>

## **ESQUEMAS DE ESTIMULACION OVARICA**

Con conocimientos más profundos de la fisiología de la ovulación y mayor disponibilidad de fármacos, los esquemas tradicionales pueden adaptarse a la medida década paciente. El objetivo es tener esquemas más fisiológicos, en los que se alcancen menores concentraciones de estradiol y se obtenga un número no exagerado de óvulos, para minimizar riesgos sin reducir la efectividad.

Se debe considerar las características de las pacientes (edad, reserva ovárica, concentraciones de FSH, estradiol, Hormona antimülleriana (AMH), cuenta folicular antral, peso, estatura, respuestas previas, tabaquismo, etcétera).<sup>(44)</sup>

Las gonadotropinas FSH y LH han sido parte fundamental en la evolución de la estimulación ovárica controlada en la reproducción asistida. Las urinarias iniciales con relación fija de FSH/LH dificultaban el diseño de esquemas a la medida de cada paciente. Con la creciente demanda de gonadotropinas debida al mayor uso de técnicas de reproducción asistida, es cada vez más complejo mantener la inocuidad de preparaciones urinarias, aunque los métodos de purificación se van perfeccionando, y los resultados en tasas de embarazos son similares a los de las recombinantes. Existe FSH sola altamente purificada de origen urinario. Desafortunadamente, dados los mayores requerimientos de purificación, han aumentado los costos de las urinarias, que aun así son inferiores a los de las recombinantes.<sup>(45)</sup>

La aparición de las gonadotropinas obtenidas con tecnología de ADN recombinante (ADNr) han sido un hito en la estimulación ovárica controlada, ya que desde su inicio, mostraron múltiples ventajas sobre las gonadotropinas extraídas de la orina, como: pureza, seguridad, consistencia en resultados, mayor bioactividad y capacidad de producción ilimitada con excelentes parámetros de control de calidad. Otra ventaja es la posibilidad de diseñar estrategias terapéuticas individualizadas con las nuevas presentaciones comerciales que ofrecen gonadotropinas aisladas o combinadas, según la necesidad.<sup>(46)</sup>

Disponer de preparaciones líquidas y de ingeniosos dispositivos facilita la administración y disminuye la posibilidad de errores. Hay una presentación de FSH y LH recombinante mezcladas en una proporción de 150:75 UI (11:3 µg) que permite la adición de LH recombinante sin agregar preparaciones urinarias, para los casos que así lo requieran. La administración por vía subcutánea brinda la ventaja de que las mismas pacientes pueden inyectarse.<sup>(47)</sup>

La reciente aparición de FSH de larga duración simplifica los esquemas, ya que puede administrarse cada siete días; se comercializa en dos presentaciones: de 100 y 150 µg, para pacientes que pesen menos y más de 60 kg, respectivamente. No hay duda de que esta presentación evita fallas por olvido.

En los esquemas con antagonistas, éstos se inician al cuarto o quinto día de la administración de la hormona folículo estimulante. El desarrollo de análogos orales de gonadotropinas por vía oral representa mejorías a mayor plazo. Aunque hay avances en la purificación de gonadotropinas urinarias, es imposible mantener el control sobre las donadoras de orina, dado el aumento en los requerimientos. En algunos países, por ley, se debe incluir información escrita sobre los riesgos potenciales de la administración de productos biológicos urinarios. Al analizar HMG altamente purificada se encuentra 30% de proteínas extrañas diversas, lo cual, según la experiencia de los autores, no ha ocasionado problemas serios.<sup>(48)</sup>

Cuando se comparan HMG y FSHr para decidir si son mejores las gonadotropinas urinarias que las recombinantes, es fundamental considerar aspectos como inocuidad, comodidad, disponibilidad y costos; lo fundamental es decidir cuándo se requiere agregar actividad de LH a la estimulación con FSH. Como la determinación de las concentraciones de LH endógena detecta inmunorreactividad y no bioactividad, la decisión no es fácil, y persiste la controversia sobre si resulta mejor la FSH sola en cualquiera de sus presentaciones, recombinante o altamente purificada, o la combinación de FSH y actividad de LH en combinaciones diversas.<sup>(47,48)</sup>

Se encuentran meta análisis y estudios prospectivos, con distribución al azar y controlados, a favor y en contra de cada uno de estos esquemas. La diferencia no parece estar en la presentación, sino en las circunstancias en las cuales es conveniente agregar actividad de LH a la FSH. En la mayor parte de los casos, la supresión de los agonistas deja LH endógena en cantidades suficientes para que no se requiera administración adicional. La supresión exagerada se observa con

agonistas de depósito, esquemas largos en dosis completas junto con anticonceptivos orales, y antagonistas, en especial cuando se utiliza bajo esquemas fijos en fases muy tempranas. En estos casos, es necesario agregar actividad de LH a la estimulación con FSHr, lo que se puede lograr con hormona luteinizante recombinante (LHr). En la actualidad, existen preparaciones comerciales con ambas gonadotropinas recombinantes en una sola presentación; otras opciones son administrar FSHr al inicio, y agregar posteriormente LHr, HMG o dosis bajas (20 a 50 UI) de HCG.<sup>(49)</sup>

### **COADYUVANTES PARA LA ESTIMULACION OVARICA**

Los coadyuvantes son esenciales en la estimulación ovárica, y su uso juicioso optimiza los resultados. Se denomina así a los fármacos que aunque no estimulan directamente a los ovarios, favorecen una mejor respuesta. Entre los más conocidos están los análogos de GnRH, agonistas y antagonistas, que por su amplia utilización casi no se consideran coadyuvantes. Los mejores resultados se han obtenido con agonistas en ciclo largo, es decir, los que se administran desde la mitad de la fase lútea del ciclo precedente. Facilitan la programación de los ciclos y se logra una cohorte folicular más uniforme; sin embargo, la supresión hipofisaria es mayor, por lo que se requieren dosis más altas de gonadotropinas, actividad de LH y mayor soporte lúteo.

Por la comodidad que representan para las pacientes y por su efectividad, los antagonistas se han vuelto muy populares. Las diferencias con los agonistas son cada vez menores. Se ha calculado que por cada 21 pacientes tratadas con uno u otro esquema, se obtendrá un embarazo más con agonistas. Otras de las ventajas de los antagonistas son: que la incidencia del síndrome de hiperestimulación ovárica es más baja, y que en casos de alto riesgo puede utilizarse para el disparo el agonista de GnRH solo o acompañado de dosis menores de HCG.<sup>(50)</sup>

Esta alternativa no es tan efectiva en las tasas de embarazo como la administración de HCG tradicional, pero disminuye significativamente el riesgo del síndrome de

hiperestimulación ovárica. La utilización de anticonceptivos orales como auxiliares en la estimulación ovárica controlada es más reciente. Esta opción facilita la programación de los ciclos, disminuye la aparición de quistes residuales, sincroniza la cohorte folicular, evita la supresión hipofisaria profunda y reduce los requerimientos de gonadotropinas. Esto también se ha logrado con la administración de estrógenos solos en la fase lútea precedente e incluso hay informes de una mejor respuesta a la estimulación ovárica controlada cuando se dan a pacientes con baja respuesta. El mecanismo de acción de los anticonceptivos y de los estrógenos es provocar una supresión de FSH. <sup>(50)</sup>

La metformina es una biguanida que sensibiliza a la acción de la insulina y reduce la resistencia a ésta, así como la hiperinsulinemia resultante. En la estimulación ovárica controlada de pacientes con síndrome de ovarios poliquísticos, la metformina minimiza la incidencia de síndrome de hiperestimulación ovárica. Esto se explica porque la insulina es un factor importante en la activación de VEGF por las células luteinizadas de la granulosa. Otro de los mecanismos sugeridos es que los andrógenos inducen la síntesis de receptores para FSH en las células de la granulosa, por lo que la metformina, al disminuir la acción conjunta de la insulina y LH en la producción androgénica, reduce el exceso de respuesta ovárica a la estimulación controlada. <sup>(51)</sup>

Aunque la administración de metformina a pacientes con síndrome de ovarios poliquísticos se ha vinculado con tasas mayores de embarazos y menores de abortos, en un metanálisis realizado hace tiempo no se encontraron diferencias significativas, mientras que en otro más reciente en el que se reclutó una muestra mayor, sí. La mayoría de los autores está de acuerdo en que minimiza el riesgo de síndrome de hiperestimulación ovárica y también el requerimiento de gonadotropinas. <sup>(52)</sup>

Otro de los efectos positivos de la metformina es que reduce las concentraciones de testosterona y aumenta las de glicodelina, lo que mejora el flujo vascular uterino e

influye positivamente en el riesgo cardiovascular. Por lo anterior, se prescribe metformina a las pacientes con síndrome de ovarios poliquísticos antes de la estimulación ovárica controlada, sin que sea necesario corroborar que padecen resistencia a la insulina. La más pequeña reducción en el riesgo de sufrir la complicación más frecuente lo justifica.<sup>(53)</sup>

La hormona del crecimiento (HGH) se ha utilizado como auxiliar de la estimulación ovárica controlada en pacientes con baja respuesta, con base en los informes de aumento de apoptosis en células de la granulosa en edad avanzada, y en que la HGH y su intermediario, el factor I de crecimiento similar a la insulina (IGFI), son los antiapoptóticos mejor conocidos. Las células de la granulosa son fundamentales para la nutrición del ovocito en desarrollo. Los resultados han sido desalentadores, aunque algunos metanálisis y estudios revelan resultados positivos en este grupo de pacientes, sin que sus conclusiones hayan podido ser repetidas por la mayoría de los autores. Su administración es una alternativa más en bajas respondedoras, en especial cuando tienen concentraciones mínimas de HGH.<sup>(54)</sup>

La experiencia con corticoides en el síndrome de ovarios poliquísticos fue favorable en todos los casos donde había elevación de andrógenos de origen suprarrenal y en los resistentes al citrato de clomifeno. Los corticoides frenan el exceso de estimulación hipofisaria por un mecanismo de retroalimentación negativa. En reproducción asistida, el incremento de andrógenos es el resultado de la estimulación de FSH. La supresión o disminución en la producción de andrógenos mediada por corticoides contribuye a mejorar la receptividad uterina y la concentración de éstos en el líquido folicular; incluso, algunos estudios han corroborado la reducción de ciclos cancelados y tasas más altas de implantación y de embarazo en pacientes con ovarios poliquísticos. Los corticoesteroides se indican principalmente a mujeres con cifras elevadas de andrógenos de origen suprarrenal, y se contraindican en las que tienen intolerancia a la glucosa, osteoporosis, úlceras pépticas, etcétera.<sup>(51-54)</sup>

Como se ha visto, administrar HCG en pequeñas dosis junto con FSH para agregar actividad de LH en un ciclo de estimulación ovárica controlada es una excelente alternativa en los casos en que la concentración de LH es baja o nula. La HCG reduce la necesidad de incrementar la dosis de FSH cuando se utiliza HMG (FSH/LH), puesto que en las preparaciones comerciales vienen ambas gonadotropinas combinadas. De hecho, para asegurar la actividad de FSH es práctica común añadir aproximadamente 10 UI de HCG a cada ampolla de 75 UI de FSH y LH. Se necesitarían 75 a 225 UI de HMG para obtener 10 a 30 UI de HCG.

Cuando se utiliza HCG en pequeñas dosis como sustituto de LH no se requiere agregar FSH al esquema. Como se ha señalado, ciertos esquemas causan una supresión exagerada de LH, y la restitución de esta actividad se vuelve indispensable. Esto también puede lograrse con LH recombinante en dosis equivalentes. La desventaja de la HCG es que como no hay preparación comercial disponible en pequeñas dosis se tienen que efectuar diluciones de las existentes.<sup>(55)</sup>

La necesidad de incrementar la actividad de LH en los esquemas de estimulación ovárica controlada se ha vuelto frecuente dada la tendencia a usar cada vez más FSH recombinante sola. Esto puede cambiar con las nuevas preparaciones que mezclan FSH y LH recombinantes, o con la LH recombinante sola. Las dosis de HCG que se han administrado varían entre 10 a 50 UI de acuerdo con las concentraciones endógenas de LH. La dosis más alta se recomienda en casos de hipogonadismo hipogonadotrófico.<sup>(56)</sup>

La HCG como sustituto de la actividad de LH se ha utilizado ampliamente, y múltiples estudios corroboran su efectividad en la estimulación ovárica controlada. Una acción interesante de la HCG es la sugerida por Filicori, quien indicó dosis bajas de HCG en lugar de FSH en la fase final de la estimulación, para disminuir el riesgo de síndrome de hiperestimulación ovárica en pacientes con ovarios poliquísticos. La cabergolina y otros agonistas dopaminérgicos reducen la expresión del receptor del VEGF y los efectos del VEGF que ocasionan hiperestimulación ovárica.<sup>(57)</sup>

Estos fármacos se utilizan con fines de prevención de este síndrome en pacientes de alto riesgo, sin que se afecten las tasas de fertilización, implantación y embarazo. Algunos estudios revelan disminución de la hemoconcentración, ascitis y permeabilidad vascular cuando se administran 0.5 mg diarios durante ocho días a partir de la inyección de HCG. De acuerdo con la experiencia de los autores, el uso de agonistas dopaminérgicos en la etapa periconcepcional no produce efectos adversos significativos en recién nacidos, por lo que las dosis menores administradas durante un corto lapso son inocuas.

Los andrógenos aumentan la actividad de los receptores de FSH, y se utilizan para incrementar la respuesta a la estimulación ovárica controlada en pacientes con baja respuesta. No se han realizado estudios con controles adecuados y criterios de inclusión estrictos, motivo por el cual los resultados son variables. Las pacientes con síndrome de ovarios poliquísticos con hiperandrogenemia son más sensibles a la estimulación ovárica, y están en mayor riesgo de padecer síndrome de hiperestimulación ovárica. Las concentraciones séricas de testosterona se elevan cuando ésta se administra en parches transdérmicos. Las cifras de andrógenos en la sangre se incrementan con inhibidores de la aromatasa, como el letrozol, cuya administración se suspende 10 a 12 días antes de la transferencia embrionaria para disminuir riesgos de teratogénesis. <sup>(58)</sup>

En un estudio en el que se aplicaron parches transdérmicos de testosterona cinco días antes de iniciar la estimulación ovárica, se observó un mayor número de folículos y concentraciones más altas de estradiol e IGF-I en las pacientes. Es necesario llevar a cabo más estudios prospectivos, con asignación al azar y controlados, para corroborar la efectividad y la inocuidad de estos fármacos en un grupo de mujeres que tradicionalmente ha sido difícil de clasificar, el de las bajas respondedoras. <sup>(59)</sup>

El ASA en dosis infantiles orales diarias incrementa el flujo sanguíneo al modificar el equilibrio entre sustancias vasoconstrictivas (como el tromboxano) y vasodilatadoras (como la prostaciclina), según indica la experiencia en profilaxis de infartos cardíacos y problemas tromboembólicos. También aumenta el flujo ovárico y uterino, lo que favorece la respuesta a la estimulación ovárica controlada. El inicio y la terminación de la dosis de ASA son muy variables, aunque se considera que a mayor flujo ovárico mayor exposición a las gonadotropinas, en especial entre la administración de HCG y la captura folicular, que es cuando se reinicia la meiosis.

La optimización del flujo uterino favorece la implantación, sobre todo por el incremento en el flujo subendometrial, lo que adquiere particular importancia en pacientes con fallas de implantación repetidas, a pesar de tener embriones de buena calidad y transferencias embrionarias no traumáticas, o cuando el desarrollo endometrial es insuficiente, no obstante la buena respuesta ovárica a la estimulación controlada. Algunos estudios revelan incremento en el flujo ovárico uterino, con mejor respuesta a la estimulación y altas tasas de embarazo.<sup>(60)</sup>

En los metanálisis se han observado resultados contradictorios, pues mientras que algunos no indican diferencias significativas en la respuesta a la estimulación ovárica o en las tasas de implantación. Se recomienda iniciar la administración antes de la estimulación ovárica controlada y hasta después de la transferencia embrionaria. Algunos investigadores han expresado su preocupación por el aumento de sangrado durante la captura folicular y sugieren suspender la administración antes de esta fase, aunque no se ha observado este efecto adverso. Una ventaja adicional de suministrar ASA en la estimulación ovárica controlada es que contrarresta la posibilidad de hipercoagulabilidad, e incluso puede disminuir el riesgo de un evento trombótico. Se requiere la realización de metanálisis acuciosos para demostrar su efectividad; sin embargo, debido a las bajas dosis administradas, que representan riesgos mínimos, su utilización se ha vuelto común en los centros de reproducción asistida.<sup>(61)</sup>

Los inhibidores de fosfodiesterasa, como el sildenafil, el vardenafil y el tardenafil han sido útiles en el tratamiento de la disfunción eréctil; si bien, su administración se ha extendido a las mujeres dado su principio vasodilatador. El objetivo es optimizar el flujo sanguíneo ovárico y subendometrial para mejorar la respuesta a la estimulación ovárica controlada y elevar las tasas de implantación. Se han utilizado principalmente en los casos de mal desarrollo endometrial y como alternativa en pacientes con baja respuesta.

Se pueden alcanzar altas tasas de embarazo si se diseñan esquemas a la medida de cada paciente. La finalidad es encontrar tratamientos más fisiológicos con los que se obtenga un número aceptable de óvulos de buena calidad, sin sacrificar la eficiencia. Todos los autores se basan o fundamentan en estos lineamientos, han utilizado el ciclo natural de mínima estimulación y esquemas modernos con gonadotropinas, antagonistas de GnRH y coadyuvantes. Debe evaluarse meticulosamente cada caso a tratar y decidir el esquema de estimulación óptimo. <sup>(62)</sup>

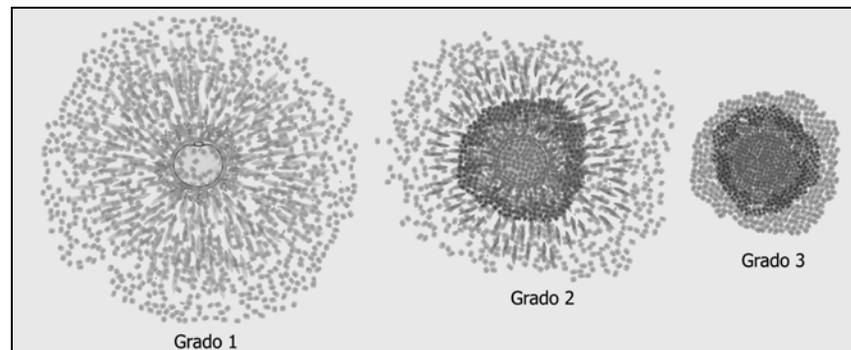
### **CALIDAD OVOCITARIA**

Poca atención se le ha prestado a la morfología del ovocito en reproducción asistida estándar. Hay una falta de datos en la literatura en la relación entre morfología del ovocito y tasas de embarazo. <sup>(66)</sup> La morfología ovocitaria es un importante predictor de embarazo para el ICSI. Por otro lado, se ha reportado que la morfología ovocitaria no se correlaciona con la tasa de fertilización y la calidad embrionaria tras el ICSI. Estos resultados inconsistentes pueden estar relacionados a los diferentes criterios usados para valorar los fenotipos citoplasmáticos dismórficos en ovocitos. Desde que varias anormalidades citoplasmáticas se han derivado de de diferentes causas, necesitamos examinar de forma independiente la influencia en el desarrollo, así como la etiología para cada fenotipo anormal. <sup>(67)</sup>

Se ha sugerido que los fenotipos dismórficos observados durante ciclos estimulados puede reflejar una alta frecuencia de aneuploidías relacionadas a la estimulación ovárica. <sup>(68)</sup>

## 1. MADUREZ NUCLEAR

1.1 Evaluación del complejo cúmulo-corona-ovocito y Estado genético (Metafase II, Metafase I, y Vesícula germinal) = La clasificación morfológica del CCCO, que es muy subjetiva y no siempre corresponde al estado de maduración del ovocito, el cual sólo puede evaluarse si está desnudo de las células de la granulosa. La más utilizada es la de tres grados, donde el grado 1 corresponde a ovocitos con cúmulo y corona expandida laxa, en los que en ocasiones es posible observar un corpúsculo polar y que con gran frecuencia correlaciona con ovocitos maduros en metafase II (M-II); el grado 2 correlaciona con ovocitos en metafase I (M-I), donde el cúmulo y la corona radiada se encuentran en un estado intermedio de compactación; el grado 3 se asocia a ovocitos en estado de vesícula germinal (VG) y presentan cúmulo y corona muy compactos.



1.2 Tamaño = La habilidad de los ovocitos para fertilizar y desarrollar en embriones competentes depende de múltiples factores durante el proceso de ovogénesis. La maduración meiótica, la etapa final de la ovogénesis, es de particular importancia. Este paso consiste en dos procesos separados pero interrelacionados: la maduración nuclear y citoplasmática. La maduración nuclear se refiere a la progresión del ovocitos de la profase de la primera división meiótica hasta la metafase de la meiosis II. La maduración citoplasmática incluye los cambios intracelulares que preparan el ovocito para la activación, fertilización y apoyo de la embriogénesis temprana. La disrupción del mecanismo o falla en la sincronización entre la maduración nuclear y citoplasmática lleva a una alteración en la calidad del ovocito e incremento en anomalías cromosómicas, además de falla en la fertilización o desarrollo

embrionario. La falla en la citogénesis durante la división mitótica de la ovogonia puede resultar en gametos gigantes—ovocitos con cerca del doble de volumen citoplasmático comparado con un ovocito de tamaño regular. Alternativamente, los ovocitos gigantes pueden formarse a partir de la fusión de dos ovogonias.

La incidencia de ovocitos gigantes es de 0.1% en ratas y ratones, 0.45% en conejos, y <0.3% en humanos. En hamsters y humanos, los cigotos gigantes han sido reportados que se desarrollan hasta blastocisto. Sin embargo, los análisis citogenéticos en ovocitos gigantes humanos ha revelado que los ovocitos no fertilizados gigantes son diploides y que los cigotos son genéticos anormales aún cuando exhiben dos pronúcleos y dos cuerpos polares.<sup>(62)</sup>

1.3 Cuerpo polar = Es aceptado que la calidad ovocitaria es reflejada por características fácilmente detectables, como el grado de expansión del cúmulus, la presencia del primer cuerpo polar (PBI), y la ausencia de anomalías citoplasmáticas y de la zona pelúcida. Sin embargo, estas características no son suficientes para conferir la habilidad al ovocito de apoyar un embarazo a término, pareciendo inadecuado establecer un criterio de selección seguro. La adquisición de la competencia del ovocito es aún pobremente comprendida. En particular, inmediatamente previo a la ovulación, tanto los compartimientos nuclear y citoplasmático están involucrados en una serie de cambios coordinados. La ruptura de la vesícula germinal, que significa el reinicio de la meiosis, y la extrusión del PBI son indicadores de los procesos meióticos.

Sin embargo, esto no asegura que el aparato meiótico del ovocitos ha progresado correctamente a metafase II (MII) en preparación para la fertilización. Varios factores, como condiciones inapropiadas para maduración in vitro, pueden perturbar el huso y la organización del citoesqueleto, con la consecuente segregación de la meiosis II y quizás más eventos mediados por el huso pueden estar comprometidos. Al mismo tiempo durante la maduración final, varios eventos tienen lugar en el ambiente citoplasmático que permite al ovocito apoyar su desarrollo. En la base de que la

extrusión del PBI marca una importante transición en la adquisición de competencia meiótica, varios autores han considerado la posibilidad que la morfología de esta estructura pueda expresar, al menos en parte, la competencia ovocitaria. <sup>(63)</sup>

Ebner al. (1999) describieron 5 diferentes apariencias morfológicas del primer cuerpo polar. El grado 1 (redondos u ovoides e intactos) difirió del grado 2 (también redondo u ovoide e intacto) en que los primeros tienen una superficie lisa. Los grado 3 (más de 2 fragmentos) y grado 4 (partidos en 2) fueron definidos como fragmentados, mientras que el grado 5 se caracterizaron por su apariencia grande siendo extruidos a un espacio perivitelino también grande. La clasificación basada en este sistema de graduación reveló una correlación significativa con la apariencia del primer cuerpo polar y tasa de fertilización y calidad embrionaria. La transferencia electiva de embriones seleccionados en base a la morfología del primer cuerpo polar se asoció con una tasa de implantación y embarazo mayores. <sup>(64)</sup> Otros autores han disputado estos estudios. En particular Verlinsky (2003) no encontró correlación entre la morfología del PBI y la tasa de fertilización, número de blastómeras al día 2 y tasa de blastocisto. <sup>(63)</sup>

Eichenlaub-Ritter et al. (1995) primero propusieron que la elevada fragmentación del PBI puede reflejar envejecimiento post-ovulatorio del ovocito. Un enlace posible entre la morfología del PBI y la calidad del ovocitos es apoyado por estudios conducidos en ratones, en alterados genéticamente para ser infértiles y generar ovocitos con PBI anormalmente grandes (Choi et al., 1996). <sup>(63)</sup>

Aunque se ha especulado que las aberraciones cromosómicas pueden ser una de las razones por las que un porcentaje disminuido de blastocistos encontrados con el primer cuerpo polar fragmentado, mostraron que las tasas de aneuploidía no se relacionado con el estado del primer cuerpo polar (Verlinsky et al., 2003). Se ha encontrado una relación positiva entre la frecuencia de fragmentación del primer cuerpo polar y el tiempo que ocurre entre la denudación y el ICSI. Parece que los cambios en la morfología de primer cuerpo polar tras una horas de cultivo in vitro, y

puede variar de acuerdo al tiempo en que la observación se lleva a cabo. Por lo que la morfología del primer cuerpo polar puede no servir como marcador confiable de calidad ovocitaria y competencia. <sup>(64)</sup>

Aparte del cuerpo polar, en los últimos años el huso meiótico también ha sido sujeto de la investigación en el intento por establecer criterios seguros para la selección ovocitaria. La función del huso meiótico es reconocido ampliamente al respecto de la segregación de cromosomas durante la meiosis, aunque no siempre se aprecia que esta estructura es también crucial para la fertilización y establecimiento de la polaridad del ovocito. La medición de los microtúbulos puede tener relevancia clínica porque es concebible que la densidad de ellos pueda influenciar la función, con consecuencias obvias en la alineación de la metafase de los cromosomas y segregación durante la meiosis II. <sup>(63)</sup>

## 2. MARCADORES MORFOLÓGICOS

2.1 Evaluación de la expansión del cúmulo y corona = La madurez ovocitaria el tiempo de la captura es difícil de evaluar pues esta oscurecida por un gran cúmulo infiltrado con abundante ácido hialurónico. Estudios por Hammit et al. (1992, 1993) mostraron que el grado de expansión del cúmulo-corona es un pobre marcador de madurez pues está muy dependiente de la experiencia del embriólogo. Aunque hay una alta relación (28%) de asincronía se reporta entre la madurez del núcleo y la masa cúmulo-corona, estudios recientes sugieren la utilización de este último, pues muestra una cercana relación con tasas de fertilización y embarazo (Ng et al., 1999) así como desarrollo del blastocisto, que usaron el sistema modificado de Wolf (Tabla 1), mostró que el grado 3 de madurez de los complejos cúmulo-corona-ovocito (CCCO) se asoció con altas tasas de fertilización. Se ha sugerido que hay grados variables de asincronía entre la morfología del cúmulo-corona y madurez nuclear en ciclos estimulados. Un estudio más reciente graduó la madurez ovocitaria en una escala del 1 al 5 basada en la morfología del ooplasma, cúmulo, corona radiada, y la membrana de las células de la granulosa (Tabla 2). El grado 1 (maduros) son ocitos incluidos en el primer grupo, mientras que el segundo grupo consistió de ovocitos del

2 al 5 (inmaduros). En este grupo mostró que los ovocitos maduros mostraron más altas tasas de fertilización, el porcentaje de mala morfología al día 3 del grupo inmaduro fue significativamente más alto que en el grupo maduro. <sup>(64)</sup>

**Table 1. Grading system for cumulus–oocyte complexes adapted from Wolf *et al.* (1988).**

Grade 1 (A): Absent to sparse cumulus cells and 1–3 layers of corona cells
Grade 2 (B): Dense cumulus cells and tightly packed corona cells
Grade 3 (C): Expanded, fluffy cumulus cells and expanded corona cells
Grade 4 (D): Expanded, scanty cumulus cells and expanded, often partially lost corona cells

**Table 2. Oocyte maturity grading system by Lin *et al.* (2003).**

Grade 1 (mature or pre-ovulatory): expanded cumulus, very radiant corona, distinct zona pellucida, clear ooplasm, expanded well aggregated membrana granulosa cells
Grade 2 (approximately mature): expanded cumulus mass, slightly compact corona radiata, expanded well aggregated membrana granulosa cells
Grade 3 (immature): dense compact cumulus if present, very adherent compact layer of corona cells, ooplasm if visible with the presence of the germinal vesicle, compact and non-aggregated membrana granulosa cells
Grade 4 (post-mature): much expanded cumulus with clumps, radiant corona radiata yet often clumped, irregular or incomplete, very visible zona, slightly granular or dark ooplasm, small and relatively non-aggregated membrana granulosa cells
Grade 5 (atretic): rarely with associated cumulus mass, clumped and very irregular corona radiata if present, very visible zona, dark and frequently misshapen ooplasm, membrana granulosa cells with very small clumps of cells

Cuando se realiza FIV, la madurez ovocitaria puede ser evaluada indirectamente de acuerdo a la apariencia morfológica de complejo cúmulo-corona-ovocito (CCCO); sin embargo, las inferencias de la madurez ovocitaria usando este sistema de evaluación no son necesarios en ICSI, pues los ovocitos son denudados para la inseminación. Se puede concluir que en mujeres que serán sometidas a ICSI para fertilización, la evaluación del CCCO no tiene sentido, pues no hay correlación entre la morfología del CCCO y la fertilización. Para FIV convencional, la morfología del CCCO puede ser útil para selección de gametos si la pareja desea limitar el número de ovocitos para evitar exceso de embriones para criopreservación. <sup>(64)</sup>

## 2.2 Calidad citoplasmática

**Granularidad** = En muchas especies de vertebrados e invertebrados, la exocitosis de gránulos corticales (GC) tras la penetración del espermatozoide al ovocito inicia una modificación rápida de la matriz extracelular del ovocito. Este fenómeno juega un rol esencial en el bloqueo contra la poliespermia asegurando que sólo un espermatozoide entre al ovocito. Durante la maduración del ovocito, una reorganización de los GC se observa. Forman una continua capa por debajo de la membrana del ovocito durante su maduración. La relocalización de los GC durante la maduración prepara al ovocito para la extrusión tras la fertilización. <sup>(65)</sup>

La calidad ovocitaria es un factor pronóstico importante pues la madurez nuclear y citoplásmica del ovocito pueden estar directamente relacionadas con el éxito de las técnicas de reproducción asistida. En algunos casos se puede observar granulación dentro del citoplasma y puede ser homogénea o localizada centralmente. La granularidad homogénea puede afectar todo el citoplasma, y la granularidad central es de preocupación cuando se localiza central en el citoplasma con un borde claro, fácilmente distinguible con una apariencia más oscura que el citoplasma normal. Es frecuentemente difícil valorar la morfología ovocitaria y el grado exacto de maduración, pues el ovocito está rodeado de las células del cúmulo o corona al momento de la captura. La maduración nuclear y citoplasmática y la morfología del ovocito son valoradas claramente antes del ICSI, sin embargo, como el cúmulo-corona debe ser desnudado por medios mecánicos o químicos con hialuronidasa.

La granularidad central citoplasmática es una característica morfológica del ovocito que puede ser observada en algunos casos. Se diagnostica como un área grande, oscura, esponjosa. La severidad se basa en el diámetro del área granular y la profundidad de la lesión. <sup>(66)</sup>

**Inclusiones** = Serhal et al., mostraron que la fertilización y el desarrollo normal del embrión en ovocitos, como el citoplasma granulado o citoplasma con inclusiones, pero los embriones resultantes fallaron al demostrar el mismo potencial de

implantación que aquellos derivados de ovocitos con citoplasma normal. Tasas menores de fertilización, crecimiento embrionario y menor calidad ovocitaria fue reportada para el grupo de ovocitos con inclusiones citoplasmáticas cuando se comparó con ovocitos con citoplasma normales. La incidencia de ovocitos con inclusiones citoplasmáticas fue significativamente mayor para factor femenino de infertilidad comparada con factor masculino. La apariencia de las inclusiones citoplasmáticas aumenta en mujeres mayores de 35 años comparadas con mujeres más jóvenes. <sup>(67)</sup>

**Cuerpos refráctiles** = De acuerdo a Veeck, el diámetro de un cuerpo refráctil puede ser aproximadamente 10  $\mu\text{m}$  bajo el microscopio, pareciendo como altamente refractario por su composición de material lipídico y gránulos densos. En los ovocitos, los cuerpos refráctiles citoplasmáticos pueden incluir cuerpos lipídicos, vacuolas autofágicas pequeñas y cuerpos de lipofuscina. Las lesiones necróticas descritas por Van Blerkom, pueden también estar incluidas, pero son probablemente muy raros. Todas estas inclusiones pueden variar en tamaño, variando desde 1 a más de 5  $\mu\text{m}$ , y algunos son autofluorescentes. Los cuerpos refráctiles más grandes contienen más probablemente lipofuscina, aunque una tinción especial se requiere para demostrar esta propiedad. Tanto ovocitos maduros como inmaduros se ha demostrado que contienen cuerpos refráctiles y que hay una tendencia a recurrencia en el mismo paciente con ciclos repetidos de tratamiento. Estos cuerpos refráctiles están usualmente asociados con pobre fertilización (2%) cuando procedimientos de FIV son usados. En contraste, los ovocitos que contienen cuerpos refráctiles fertilizan normalmente con ICSI. Sin embargo, la relación entre el tamaño de los cuerpos y el desarrollo de ovocitos competentes no ha sido definida claramente. Además, el desarrollo de estas estructuras citoplasmáticas y su relación con la madurez ovocitaria y viabilidad no están completamente entendidas.

La lipofuscina es un material intracelular descubierto hace más de un siglo y medio. En 1842 fue primero descrito como un pigmento café-amarillo en las neuronas. En 1912 Hueck introdujo el término lipofuscina, basado en lipo (Griego para grasa) y

fuscus (Latín para oscuro), que consiste en polímeros agregados derivados de la oxidación de productos lipídicos y proteicos. La lipofuscina es autofluorescente y se relaciona a la edad con acumulación continua dentro de las células post-mitóticas como las neuronas y miocitos cardiacos. Algunos datos experimentales han mostrado que la acumulación citoplasmática de lipofuscina en las células es acelerada por un incremento en la concentración de oxígeno, y por inhibidores de proteasas lisosomales y lipasas, sugiriendo que el estrés oxidativo y la degradación incompleta de material autofagocitado puede causar lipofuscinogénesis por la acumulación de lípidos peroxidados y proteínas en los lisosomas secundarios. <sup>(67)</sup>

***Agregados del retículo endoplásmico (aREL)*** = Se ha observado la localización de citoplasmática de vacuolas traslucidas del tamaño de los pronúcleos en ovocitos metafase II tras la denudación para ICSI. Se ha reportado que estas formaciones vacuolares son el resultado de acumulación de REL. Esta acumulación también se ha observado en embriones dividiendo y post-vitrificados con 1 pronúcleo (PN) y cigotos con 3 PN. Los aREL pueden ser claramente distinguibles morfológicamente de vacuolas con líquido al microscopio. La vacuolización citoplasmática es considerada como degeneración celular y atresia ovocitaria. El mecanismo responsable del aREL no se conoce. No se han reportado embarazos en pacientes con ovocitos con inclusiones (aREL, cuerpos refráctiles y vacuolas), y se ha sugerido que estos ovocitos no deben usarse en ICSI.

Hay al menos 3 formas de aREL, que pueden ser clasificados, por conveniencia, por tamaño. Los grandes (18 mm) y los medianos ( $10\pm 17$  mm) son visibles por microscopía de luz, sin embargo, los pequeños ( $2\pm 9$  mm) no lo son. Los ovocitos obtenidos de ciclos con aREL, se usaron con ICSI y se transfirieron si no se encontraban aRELs grandes o medianos. Éstos fertilizaron normalmente y mostraron división celular normal; sin embargo las tasas de embarazo fueron menores. Durante el cultivo, los aREL medianos crecieron a grandes en 18 hrs, sugiriendo que las tres formas de aREL se derivan del mismo origen. Los aREL aparecieron en 90% de los ovocitos en los que no se había observado antes en la denudación en cultivo de 2+-5

días, lo que implica la posibilidad de que el deterioro citoplasmático y cambios en el envejecimiento ovocitario estén implicados. <sup>(68)</sup>

**Vacuolas** = A nivel microscópico, el ooplasma de un ovocito presumiblemente normal y maduro tiene una textura uniforme, y su organización se refleja por una distribución aparentemente normal de los organelos celulares (ej., mitocondrias y retículo endoplásmico) y otros componentes citoplásmicos (ej., gotas de lípidos), con todo el ooplasma siendo poblado por gránulos corticales. Una gran variedad de el dismorfismo citoplásmico puede ser observado en el cultivo in vitro.

A la fecha, este morfotipo no ha sido estudiado en detalle, pero la vacuolización es considerada como la única característica ooplásmica que se asocia a falla en la fertilización tanto en FIV e ICSI. <sup>(69)</sup>

**Forma ovocito** = Los embriólogos tienden a facilitar el proceso de selección en términos de la transferencia embrionaria introduciendo criterios morfológicos en diferentes fases de desarrollo embrionario. Definir las características del ovocito que permitan predecir el potencial de desarrollo puede incrementar las oportunidades de mejor selección de embriones. A este respecto, numerosas malformaciones morfológicas de los gametos son combinadas para permitir un análisis adecuado. Usualmente, los dismorfismos están clasificados como citoplasmáticos y extracitoplasmáticos. Un dismorfismo que definitivamente afecta la estructura de la zona pelúcida es una anomalía en la forma, por ejemplo, una apariencia ovoidea. Aunque un reporte de caso indica que el ovocitos con zona pelúcida ovoide puede resultar en un embarazo exitoso, la capacidad de fertilización y destino de los gametos ovoides no ha sido analizado a fondo.

Los embriones derivados de ovocitos ovoides se enfrentarían a una expresión reducida de la asociación entre células. Más aún, teóricamente, una correlación negativa puede existir entre el grado de distorsión y el número de blastómeras en contacto. De hecho, datos actuales muestran que la zona ovoide (pero no los ooplasmas ovoides) favorecen la generación de patrones de división atípicos,

resultando en compactación retrasada y formación del blastocisto. Suzuki et al. (1995) encontró que los embriones con el 87% de zona intacta en ratones se dividen de manera regular, con otro 13% mostrando 5 blastómeras. Sin embargo, tiene que hacerse énfasis que los embriones que derivan de ovocitos esféricos también pueden mostrar patrones de desarrollo retrasado presumiblemente por que el patrón de división es subóptimo, ejemplo, por arreglos de fragmentación específicos que pueden dificultar el contacto entre blastómeras. <sup>(70)</sup>

Dos posibles mecanismos pueden ser causa de ovocitos ovoides. Primero, estrés mecánico durante la punción del ovocito y/o el proceso de desnudación puede deformarlo. En la gran mayoría, puede asumirse que la deformación es una anomalía pre-existente causado por problemas en el folículo, por ejemplo durante la secreción de proteínas de la zona. <sup>(70)</sup>

**Espacio perivitelino y Zona pelúcida** = Aunque no es esencial para el desarrollo del embrión in vitro, la forma de la zona pelúcida (ZP) y en paralelo el tamaño del espacio perivitelino puede influenciar el mantenimiento del desarrollo de la preimplantación normal. Esto explicaría el fenómeno de división de la ZP que se ha visto se asocia con ciclos fallidos de FIV. Aunque la capa interna de la ZP realice la función de dar forma en este tipo de ovocitos ovoides, no está claro si estas alteraciones en la estructura de la zona pueden afectar la eclosión y/o implantación. Puede ser que la eclosión asistida (Assisted Hatching) pueda rescatar algunos de los embriones/blastocistos ovoides en términos de implantación. <sup>(70)</sup>

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La infertilidad es reconocida como un problema de salud pública a nivel mundial por la Organización Mundial de la Salud (OMS). La infertilidad puede afectar a 1 de cada 6 a 10 parejas, por lo cual estas parejas necesitarán ayuda médica para resolver su paternidad la cual, no se logra en forma espontánea.

Las técnicas de reproducción asistida (TRA) en las últimas dos décadas han permitido a miles de parejas infértiles tener hijos, actualmente los reportes bibliográficos muestran que las TRA son responsables del 1% de todos los nacimientos y 18% de nacimientos múltiples en los Estados Unidos.

Las TRA incluyen todos los tratamientos de fertilidad en los que los ovocitos y el espermatozoides son manejados fuera del cuerpo humano, como Fertilización in vitro (FIV) con o sin inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI), cultivo embrionario, diagnóstico genético preimplantatorio, transferencia de embriones en fresco o congelados, donación de ovocitos.

No hay duda de que se pueden alcanzar altas tasas de embarazo si se diseñan esquemas a la medida de cada paciente. La finalidad es encontrar tratamientos más fisiológicos con los que se obtenga un número aceptable de óvulos de buena calidad, sin sacrificar la eficiencia.

Por ello, la pregunta de investigación fue:

**¿Cuál es la calidad y la recuperación ovocitaria con el uso concomitante de hormona folículo estimulante con disparo de hormona gonadotrofina coriónica en ciclos de FIV e ICSI?**

## JUSTIFICACION

### **MAGNITUD:**

En la literatura médica encontramos que, en países desarrollados la incidencia de infertilidad llega hasta un 15% de las parejas, esta infertilidad puede ser primaria o secundaria de acuerdo a la vida reproductiva. Por desgracia en nuestro medio existen limitantes que impiden conocer con precisión el número de parejas afectada por infertilidad. Las TRA surgen como la solución para estas parejas que buscan la paternidad.

### **TRASCENDENCIA:**

En la FIV la estimulación ovárica es una parte integral de las técnicas de reproducción asistida. El objetivo de la estimulación ovárica es inducir el desarrollo de múltiples folículos dominantes y madurar varios ovocitos para mejorar las oportunidades de concepción. El desarrollo de nuevas herramientas moleculares en el campo de la farmacogenómica provee nuevas oportunidades en fisiología ovárica y el impacto a nivel molecular de la estimulación. La trascendencia de este estudio estriba en que fue diseñado para determinar si la maduración ovocitaria pueden mejorarse utilizando la administración de FSH concomitante al momento de el disparo de hCG comparada con el disparo hCG solo.

### **FACTIBILIDAD:**

Durante los últimos años el Instituto de Ciencias en Reproducción Humana Vida en el Hospital Puerta de Hierro ha realizado un registro hospitalario de logros de fertilización, por lo cual este estudio contó con la información requerida para la realización de los objetivos de la investigación.

### **VIABILIDAD:**

Para la realización de este protocolo de investigación se contó con el conocimiento científico del asesor así como la experiencia y cooperación del personal del Instituto que intervino en la FIV.

## **OBJETIVOS**

### **OBJETIVO GENERAL:**

Mostrar la calidad y la recuperación ovocitaria obtenida con el uso concomitante de hormona folículo estimulante con el disparo de hormona gonadotropina coriónica en la estimulación ovárica controlada en ciclos de FIV e ICSI.

### **OBJETIVOS ESPECIFICOS:**

- 1) Realizar una base de datos con todos los registros de pacientes tratadas con TRA para FIV e ICSI en el Instituto Vida en el Hospital Puerta de Hierro durante el periodo enero a julio del 2012.
- 2) Registrar la Técnica de Reproducción Asistida aplicada a cada paciente
- 3) Identificar la respuesta ovocitaria obtenida.
- 4) Identificar la calidad y recuperación ovocitaria obtenida con el uso concomitante de hormona folículo estimulante (FSH) durante disparo de hormona gonadotropina coriónica y la obtenida por disparo sin FSH.
- 5) Describir las diferencias encontradas en cuanto a calidad y recuperación ovocitaria en las TRA.
- 6) Identificar el logro porcentual de fertilización en las parejas tratadas durante el periodo enero a julio del 2012.

## HIPOTESIS

### Hi:

“La calidad y la recuperación ovocitaria obtenida con el uso concomitante de hormona folículo estimulante y hormona gonadotropina coriónica en la estimulación ovárica controlada en ciclos de FIV e ICSI es **mayor** a la obtenida sin el uso de FSH”

### Ho:

“La calidad y la recuperación ovocitaria obtenida con el uso concomitante de hormona folículo estimulante y hormona gonadotropina coriónica en la estimulación ovárica controlada en ciclos de FIV e ICSI es **menor** a la obtenida sin el uso de FSH”

### Ha:

“La calidad y la recuperación ovocitaria obtenida con el uso concomitante de hormona folículo estimulante y hormona gonadotropina coriónica en la estimulación ovárica controlada en ciclos de FIV e ICSI es **igual** a la obtenida sin el uso de FSH”

## **MATERIAL Y METODOS**

### **TIPO DE ESTUDIO:**

Estudio clínico terapéutico.

### **UNIVERSO DE ESTUDIO:**

Pacientes que se sometieron a ciclos de mediana y alta complejidad (FIV e ICSI) durante el periodo comprendido enero a julio 2012.

### **CRITERIOS DE SELECCION**

#### **Criterios de Inclusión**

- 1) Expedientes y/o registro de pacientes tratadas con TRA.
- 2) Técnica de reproducción asistida: FIV o ICSI
- 3) Pacientes en protocolo corto, con antagonista.
- 4) Atendidas en el Instituto Vida en el Hospital Puerta de Hierro durante el periodo enero a julio 2012.

#### **Criterios de no inclusión**

- 1) Pacientes en otro protocolo de EOC al descrito previamente.
- 2) Expedientes de pacientes incompletos o que no muestren la continuidad del control de la TRA.

#### **Criterios de Exclusión:**

- 1) Expedientes de pacientes que reporten una suspensión de la terapia indicada o prescrita.

### **ESTE ESTUDIO SE REALIZO:**

En el Instituto de Ciencias de la Reproducción Humana Vida Guadalajara, con sede en el Hospital Puerta de Hierro.

## VARIABLE INDEPENDIENTE:

Hormona folículo estimulante con disparo de hormona gonadotropina.

**VARIABLES DEPENDIENTES:** Calidad y la cantidad de ovocitos recuperados.

## VARIABLES INTERVINIENTES:

- 1) Edad
- 2) TRA: Con y sin hormona folículo estimulante en el disparo de hormona gonadotropina criónica

## OPERACIONALIZACION DE LAS VARIABLES:

VARIABLE	DEFINICION	TIPO DE VARIABLE	INDICADOR	MEDICIÓN ESTADÍSTICA
Edad	Tiempo transcurrido desde el nacimiento hasta el momento de la realización de este estudio	Cuantitativa	Menor de 20 años 21 a 30 años 31 a 40 años	X, DE, IC Medidas de tendencia central y dispersión
TRA con disparo de hormona gonadotropina criónica	Técnica de estimulación ovárica farmacológica en la cual se busca aumento en número y calidad ovocitaria.	Interviniente Dicotónica	Con disparo de hormona gonadotropina coriónica  Sin disparo de hormona gonadotropina coriónica	Proporciones
Calidad ovocitaria	Llamaremos ovocitos de calidad a ovocitos obtenidos en Metafase II, debiendo ser el 80% de los obtenidos en la punción.  <b>En el caso de los ciclos de FIV</b> , se analizará la calidad de acuerdo al grado de maduración basándonos en la siguiente clasificación, que es la más usada; donde:  <b>En el caso de los ciclos de ICSI</b> en los que se realiza denudación de los ovocitos (retiro de células de la granulosa), se tomará en cuenta el grado de maduración.	Dependiente Cualitativa	<b>Ciclos de FIV.</b>  <b>Grado 1</b> corresponde a ovocitos con cúmulo y corona expandida laxa, en los que en ocasiones es posible observar un corpúsculo polar y que con gran frecuencia correlaciona con ovocitos maduros en metafase II (M-II) <b>Grado 2</b> correlaciona con ovocitos en metafase I (M-I), donde el cúmulo y la corona radiada se encuentran en un estado intermedio de compactación <b>Grado 3</b> se asocia a ovocitos en estado de vesícula germinal (VG) y presentan cúmulo y corona muy compactos.  <b>Ciclos de ICSI</b>  Metafase II Metafase I Vesícula Germinal	Proporciones
Cantidad ovocitaria	Cantidad de ovocitos tomados como parámetro para describir una obtención adecuada	Dependiente Cuantitativa.	Menor 6 ovocitos 6 a 15 ovocitos Más de 15 ovocitos	Proporciones

**TAMAÑO DE MUESTRA:** no probabilística, muestreo por conveniencia.

**TÉCNICA DE RECOLECCION DE INFORMACIÓN:**

Se identificaron todos los registros y/o expedientes clínicos de pacientes a quienes se trató con estimulación ovárica durante el periodo comprendido enero a julio de 2012, analizando la información se formaron dos grupos, el primer grupo incluyo a aquellas pacientes que recibieron disparo con hormona folículo estimulante (FSH) y gonadotropina (hCG) y el segundo grupo a pacientes que no recibieron la FSH junto con la hCG. En ambos grupos se buscó la respuesta ovárica lograda en cuanto a número de ovocitos y calidad de los mismos. Así también se describe el logro porcentual de embarazos en ambos grupos.

**MÉTODO ESTADÍSTICO:** El análisis estadístico de las variables de intervalo se hizo como media y desviación estándar, así como T de student.

**CONSIDERACIONES ETICAS:** Este estudio de investigación se apegó a los principios emanados de la 18ª asamblea médica de Helsinki, Finlandia en 1964, de las modificaciones hechas por la propia asamblea en Tokio, Japón en 1975 y en el 2001 donde se contempló la investigación médica (Investigación Clínica). Acorde con la Ley General de Salud de México. Se manifestó el respeto a la persona, la vida y la seguridad así como a todos los derechos de confidencialidad de quienes integraron la unidad de investigación. En ningún momento fueron revelados en el estudio tanto nombres u otras características que pudieran permitir la identificación del paciente en específico. Se cumplió con las consideraciones de la norma de instituciones en materia de investigación científica realizando la investigación personal calificado del Hospital Puerta de Hierro.

**RECURSOS:**

**Humanos:** Investigador y asesores.

**Materiales:** Expedientes clínicos, computadora, impresora, calculadora, 200 hojas blancas, lápiz, y diverso material de oficina.

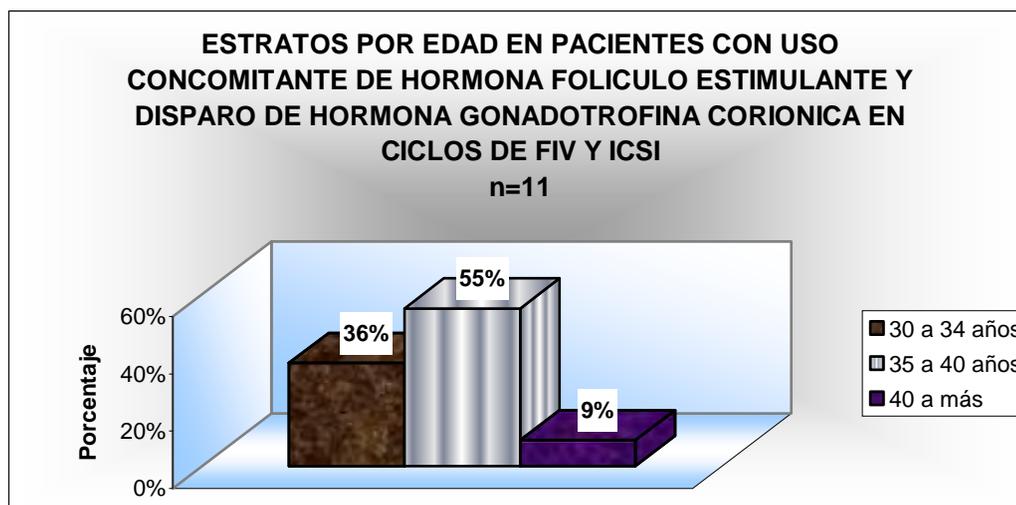
**Financiamiento:** El costo de este protocolo de investigación, fue cubierto por el investigador y los recursos propios del hospital.

## RESULTADOS

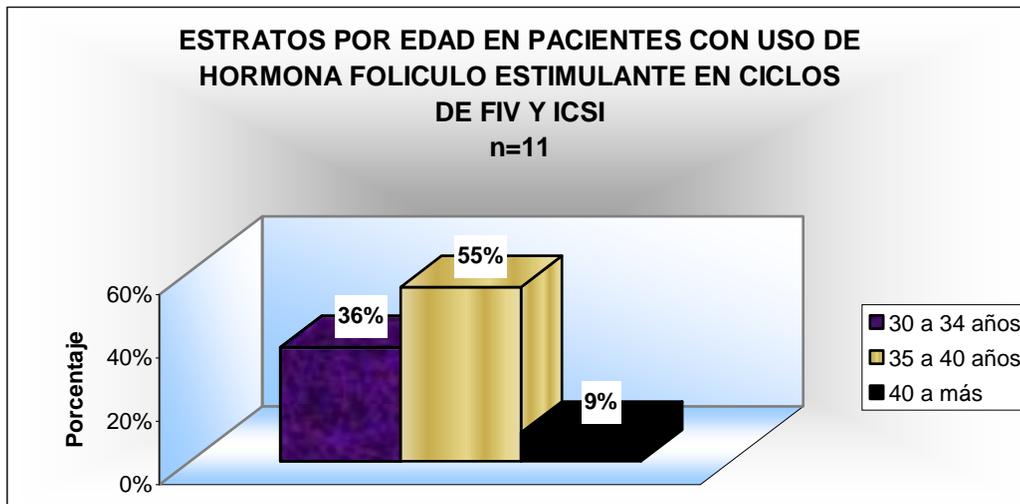
Las edades de las pacientes en el grupo de estudio se encontraban entre los 30 a 42 años con un promedio de 35.4 y DE  $\pm 1.005$ . En el grupo control se encontraron entre los 31 a 42 años DE  $\pm 1.023$ , Mostrando la similitud de los grupos en la muestra poblacional. En la Tabla 1 y gráficas 1 y 2 se muestran estos estratos.

Tabla I

EDAD	CASOS		CONTROLES	
	Num. Grupo	% Grupal	Num. Grupo	% Grupal
30 a 34 años	4	36%	4	36%
35 a 40 años	6	55%	6	55%
40 a Más	1	9%	1	9%



Gráfica 1

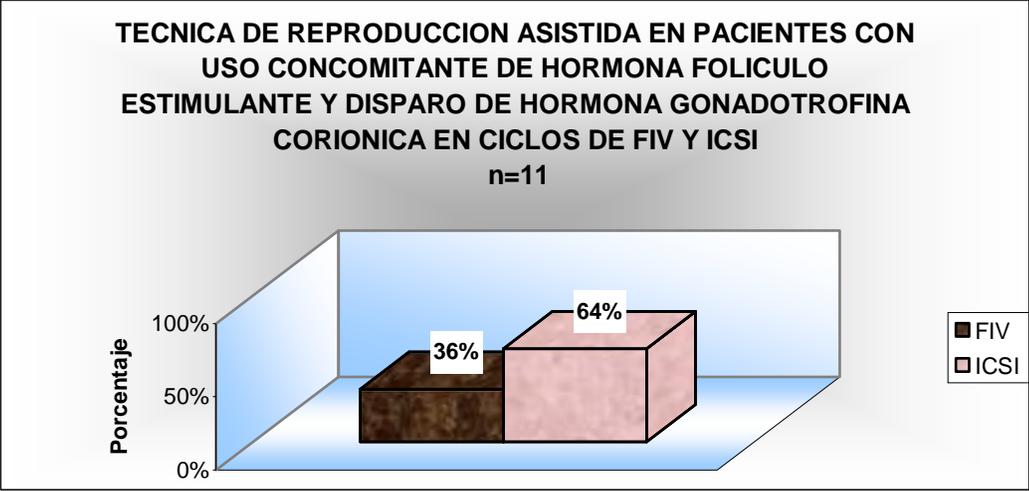


**Gráfica 2**

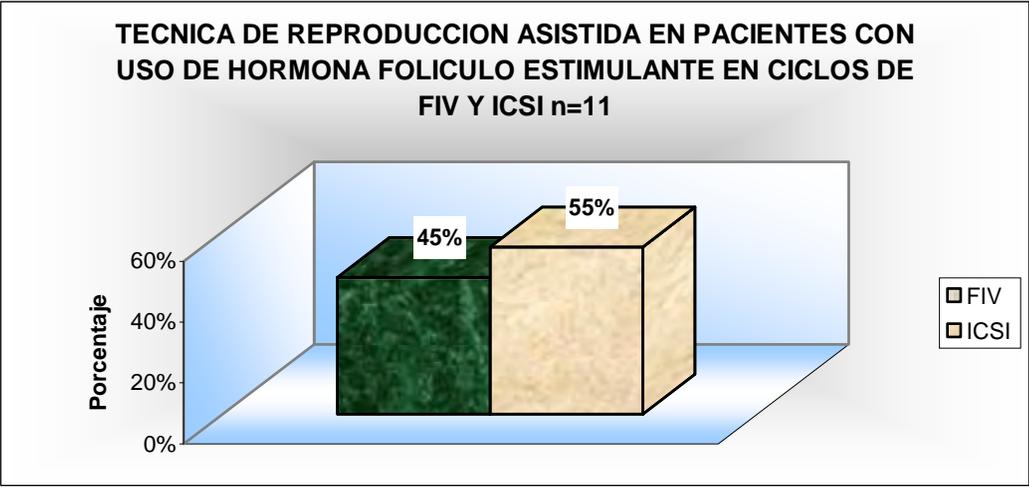
En cuanto a la técnica de reproducción asistida ofrecida a las pacientes encontramos que en nuestro grupo de estudio un 36% (4 pacientes) recibieron FIV y un 64% (7 pacientes) ICSI. En el grupo control un 45% (5 pacientes) se aplicó FIV y un 55% (6 pacientes) ICSI. (Tabla II, Gráfica 3 y 4)

**Tabla II**

TECNICA	CASOS		CONTROLES	
	Num. Grupo	% Grupal	Num. Grupo	% Grupal
FIV	4	36%	5	45%
ICSI	7	64%	6	55%



Gráfica 3



Gráfica 4

En las tablas III y IV se muestra la Indicación en cada una de las técnicas de reproducción asistida

Tabla III

ICSI INDICACION	GRUPO DE ESTUDIO n=7		GRUPO CONTROL n=4	
	Num. Grupo	% Grupal	Num. Grupo	% Grupal
FM	2	29%	2	50%
Falla IAH /FIV previo	3	42%	2	50%
Biopsia Test	2	29%	0	0%

Tabla IV

FIV INDICACION	GRUPO DE ESTUDIO n=4		GRUPO CONTROL n=5	
	Num. Grupo	%Grupal	Num. Grupo	% Grupal
FM	1	25%	1	20%
PGR (G2 A2)	1	25%	0	0%
FTP	1	25%	3	60%
Falla IAH/ Semen donante	1	25%	0	0%
Falla a C.P.	0	0%	1	20%

En la tabla V y VI se muestran los Niveles Hormonales encontrados en las pacientes comparando el grupo de estudio y el grupo control.

Tabla V

PACIENTES	FSH		LH	
	CASOS	CONTROLES	CASOS	CONTROLES
1	5.8	6.3	3.5	4.7
2	-	5	-	3.6
3	9.2	11	6.7	8
4	8.6	6.3	3.8	4.5
5	9.5	8.8	-	12.9
6	9.2	7.4	3.9	4.1
7	6.6	1.7	7.8	1
8	6.4	12.8	5.7	9
9	-	7.4	-	5.5
10	1.7	7.2	1.2	4.4
11	6.7	7.7	2.9	5.1
<b>Promedio</b>	<b>7.07777778</b>	<b>7.418181818</b>	<b>4.4375</b>	<b>5.709090909</b>
<b>Máximo</b>	<b>9.5</b>	<b>12.8</b>	<b>7.8</b>	<b>12.9</b>
<b>Mínimo</b>	<b>1.7</b>	<b>1.7</b>	<b>1.2</b>	<b>1</b>

Tabla VI

PACIENTES	E2		Prl	
	CASOS	CONTROLES	CASOS	CONTROLES
1	43.2	40.5	10.5	9.1
2	30	28.6		9
3	20	25.9	12.1	7.3
4	23.1	25.7	17.8	5.8
5	23.9	25	9.1	1.9
6	50	20		6.2
7	65	20	4.4	20
8	26.4	50.3	10.8	15.7
9		22.5		23.9
10	88.9	20	10.2	12.2
11	20	50.6	2.4	19.3
<b>Promedio</b>	<b>39.05</b>	<b>29.91818182</b>	<b>9.6625</b>	<b>11.85454545</b>
<b>Máximo</b>	<b>88.9</b>	<b>50.6</b>	<b>17.8</b>	<b>23.9</b>
<b>Mínimo</b>	<b>20</b>	<b>20</b>	<b>2.4</b>	<b>1.9</b>

En la tabla VII se muestra el Perfil Infeccioso de las pacientes en ambos grupos.

Tabla VII

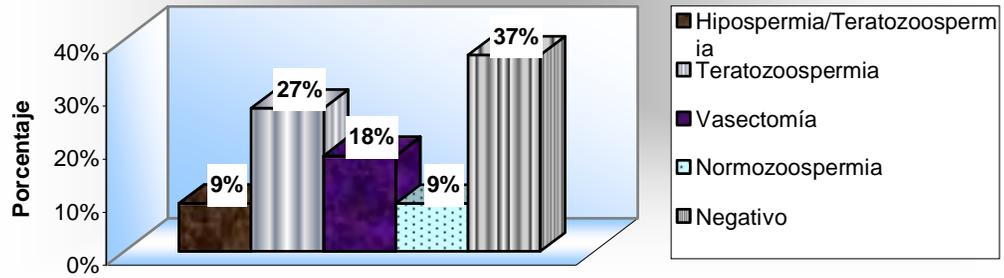
PACIENTES	PERFIL INFERIOR	
	CASOS	CONTROLES
1	Negativo	Negativo
2	Negativo	Negativo
3	Negativo	Negativo
4	Negativo	Negativo
5	Negativo	Negativo
6	Negativo	Negativo
7	Negativo	Negativo
8	Negativo	Negativo
9	Negativo	Negativo
10	Negativo	Negativo
11	Negativo	Negativo
<b>GRUPAL</b>	<b>NEGATIVO</b>	<b>NEGATIVO</b>

En la tabla VIII y gráficas 5 y 6 se muestra el Factor masculino

Tabla VIII

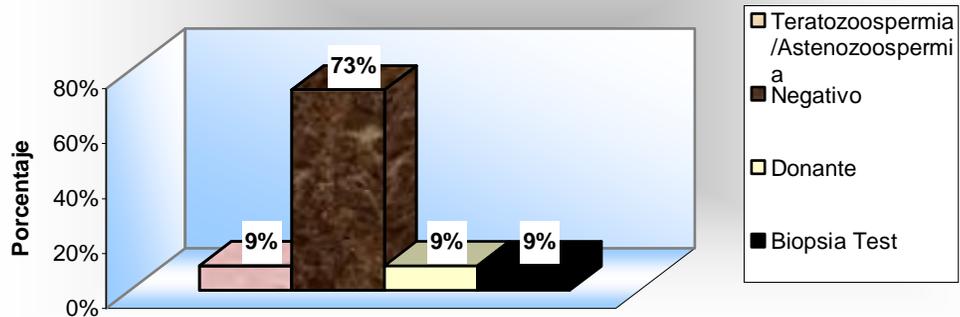
FACTOR MASCULINO	CASOS N=11		CONTROLES N=11	
	Num. Grupo	% Grupal	Num. Grupo	% Grupal
Hipospermia/Teratozoospermia	1	9%	0	0%
Teratozoospermia	3	27%	0	0%
Vasectomía	2	18%	0	0%
Normozoospermia	1	9%	0	0%
Negativo	4	37%	8	73%
Teratozoospermia/Astenozoospermia)	0	0%	1	9%
Donante	0	0%	1	9%
Biopsia Test	0	0%	1	9%

**FACTOR MASCULINO EN LAS PACIENTES CON USO CONCOMITANTE DE HORMONA FOLICULO ESTIMULANTE Y DISPARO DE HORMONA GONADOTROFINA CORIONICA EN CICLOS DE FIV Y ICSI**  
n=11



Gráfica 5

**FACTOR MASCULINO EN PACIENTES CON USO DE HORMONA FOLICULO ESTIMULANTE EN CICLOS DE FIV Y ICSI**  
n=11



Gráfica 6

En el grupo de estudio encontramos que los días de estimulación hormonal fueron de 4 a 11 días con un promedio grupal de 8.8 días, mientras que en el grupo control fueron de 9 a 14 días con un promedio grupal de 10.7 días. (Tabla IX)

Tabla IX

Pacientes	<i>Días Estimulación</i>	
	CASOS	CONTROLES
1	9	10
2	9	10
3	9	11
4	8	11
5	9	10
6	9	10
7	4	13
8	9	10
9	11	14
10	11	10
11	9	9
<b>Promedio</b>	<b>8.818181818</b>	<b>10.72727273</b>

La Tabla X muestra las dosis de FSH utilizadas

Tabla X

Paciente	<i>Dosis Hormona Folículo Estimulante ( FSH)</i>	
	CASOS	CONTROLES
1	3000	2250
2	2400	2250
3	2250	1800
4	2025	3300
5	2250	2250
6	3000	2250
7	1125	0
8	2025	2250
9	1800	2475
10	2475	1800
11	2025	2025
<b>Promedio</b>	<b>2215.909091</b>	<b>2059.090909</b>

La Tabla XI muestra las dosis de hMG utilizadas

Tabla XI

Paciente	<i>Dosis hMG</i>	
	CASOS	CONTROLES
1	675	450
2	450	450
3	1200	525
4	375	525
5	1875	0
6	900	900
7	75	2925
8	375	450
9	600	1350
10	525	900
11	375	750
<b>Promedio</b>	<b>675</b>	<b>838.6363636</b>

La Tabla XII muestra las dosis de hMG utilizadas

Tabla XII

Paciente	Dosis Antg. GnRH	
	CASOS	CONTROLES
1	1	1.75
2	1.75	1.75
3	1.5	2
4	1.5	2
5	1.5	1.75
6	1.75	1.75
7	0.5	1.5
8	1.5	1.75
9	2	2
10	2	1.75
11	1.5	1.5
<b>Promedio</b>	<b>1.5</b>	<b>1.772727273</b>

La Tabla XIII muestra la cantidad de complejos cúmulo-corona-ovocito esperados:

Tabla XIII

Pacientes	CCCO esperados	
	CASOS	CONTROLES
1	10	15
2	6	13
3	6	7
4	5	14
5	7	18
6	10	9
7	5	6
8	10	7
9	8	10
10	13	13
11	5	12
<b>Promedio</b>	<b>7.727272727</b>	<b>11.27272727</b>

La Tabla XIV muestra la cantidad de complejos cúmulo-corona-ovocito recuperados:

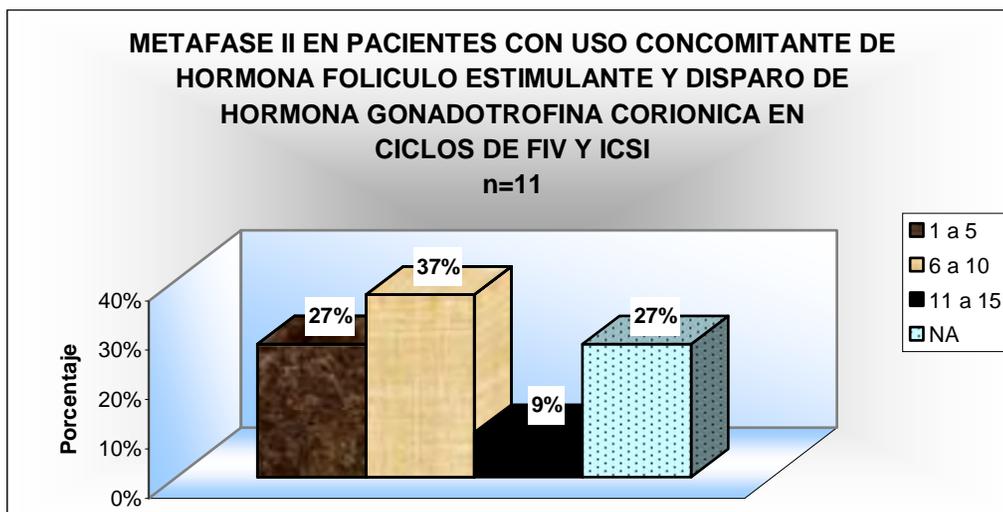
Tabla XIV

Paciente	CCC recuperados	
	CASOS	CONTROLES
1	13	11
2	6	17
3	10	7
4	5	18
5	10	25
6	12	15
7	5	6
8	16	12
9	11	10
10	15	13
11	5	10
<b>Promedio</b>	<b>9.818181818</b>	<b>13.09090909</b>

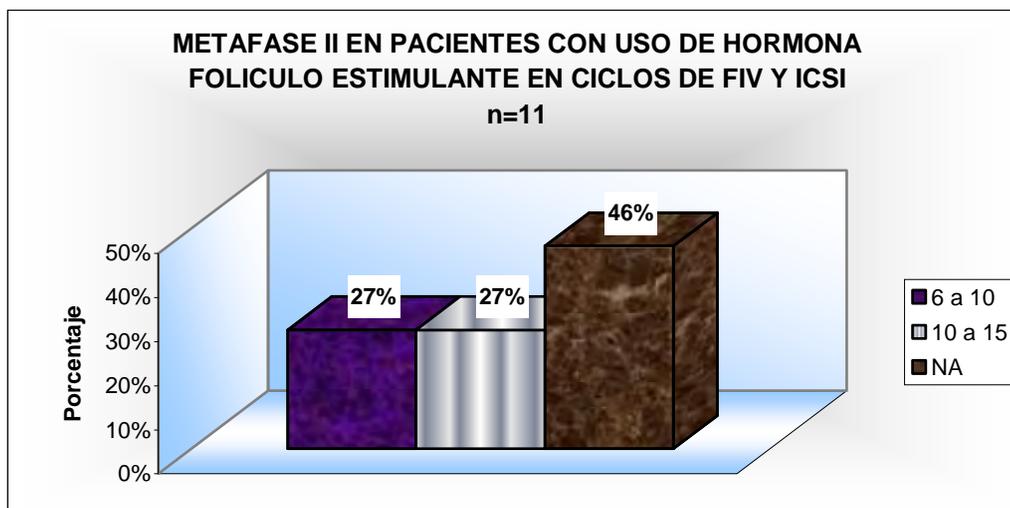
En la tabla XV y gráficas 7 y 8 se muestra la cantidad de Ovocitos Metafase II obtenidos.

Tabla XV

OVOCITOS METAFASE II				
NUMERO	CASOS		CONTROLES	
	Num. Grupo	% Grupal	Num. Grupo	% Grupal
1 a 5	3	27%	0	0%
6 a 10	4	37%	3	27%
Más de 10	1	9%	3	27%
No Aplica	3	27%	5	46%



Gráfica 7

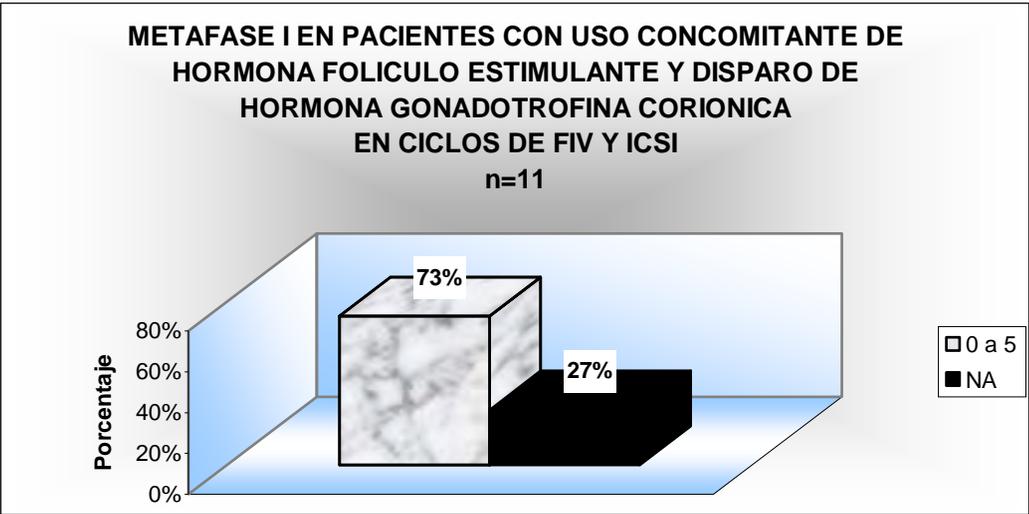


**Gráfica 8**

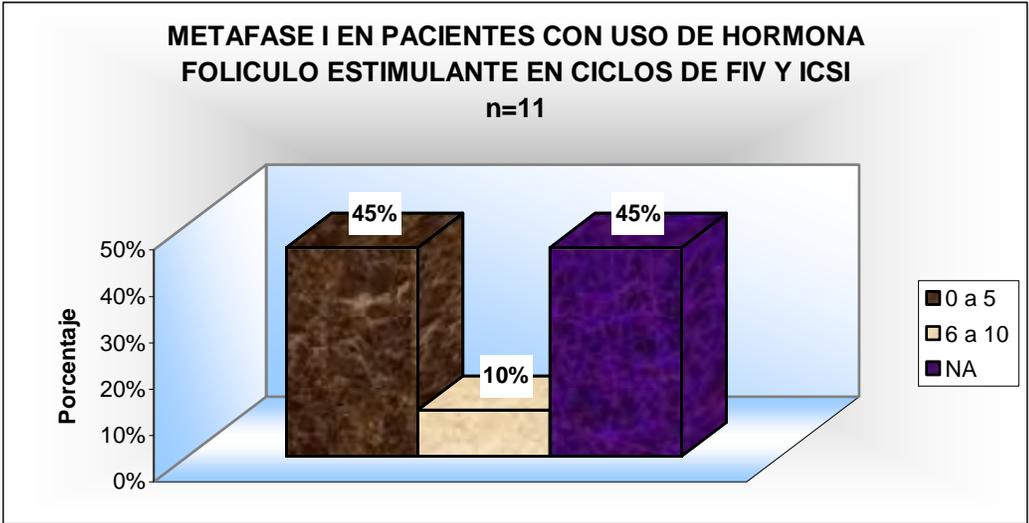
En la tabla XV y gráficas 9 y 10 se muestra la cantidad de Ovocitos Metafase I obtenidos.

**Tabla I**

<b>OVOCITOS METAFASE I</b>				
<b>NUMERO</b>	<b>CASOS</b>		<b>CONTROLES</b>	
	<b>Num. Grupo</b>	<b>% Grupal</b>	<b>Num. Grupo</b>	<b>% Grupal</b>
0 a 5	8	73%	5	45%
6 a 10	0	0%	1	10%
No Aplica	3	27%	5	45%



Gráfica 9

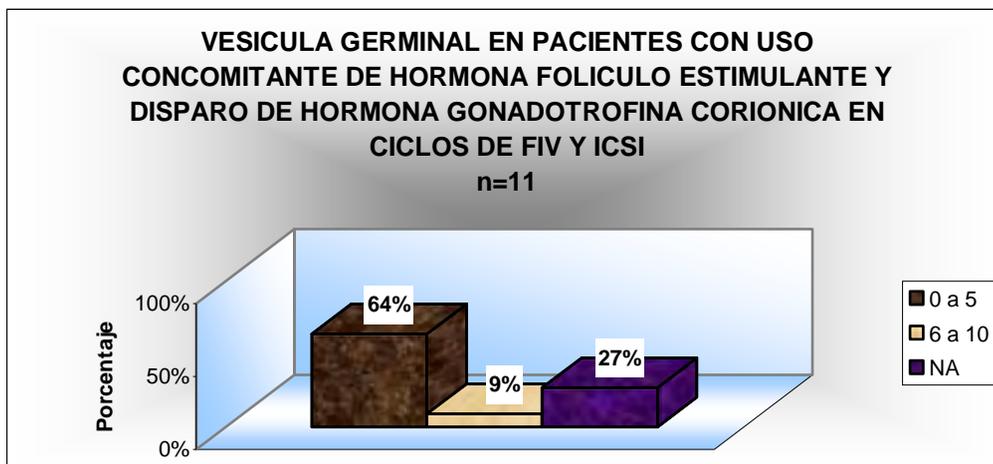


Gráfica 10

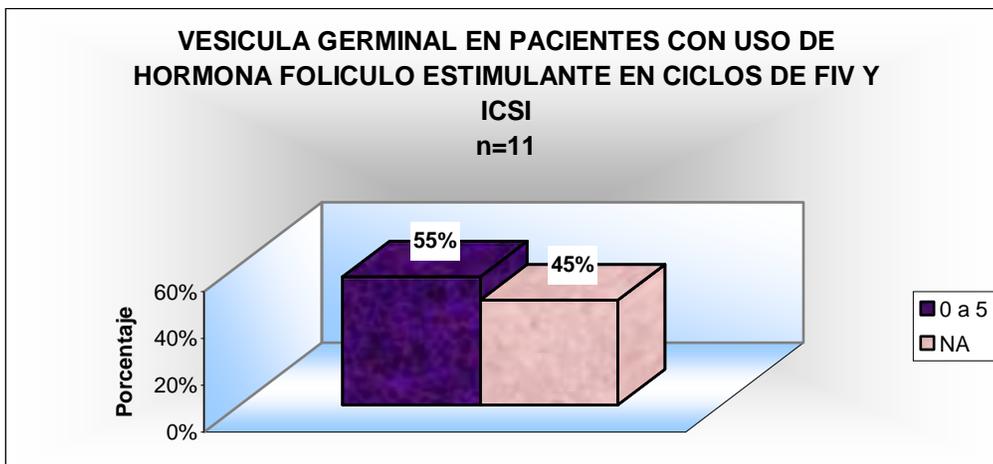
En la tabla XVI y gráficas 11 y 12 se muestra el número de Vesícula Germinal en ambos grupos.

Tabla XVI

VESICULA GERMINAL				
NUMERO	CASOS		CONTROLES	
	Num. Grupo	% Grupal	Num. Grupo	% Grupal
0 a 5	7	64%	6	55%
6 a 10	1	9%	0	0%
No Aplica	3	27%	5	45%



Gráfica 11

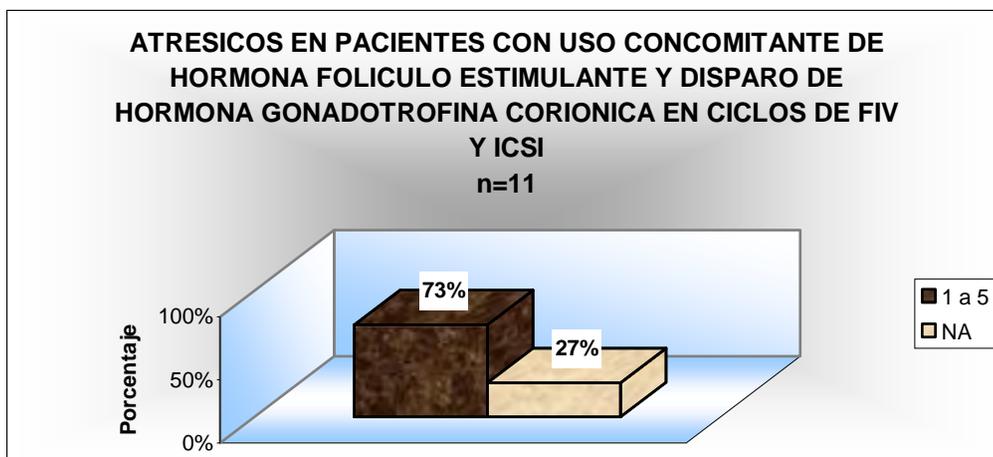


Gráfica 12

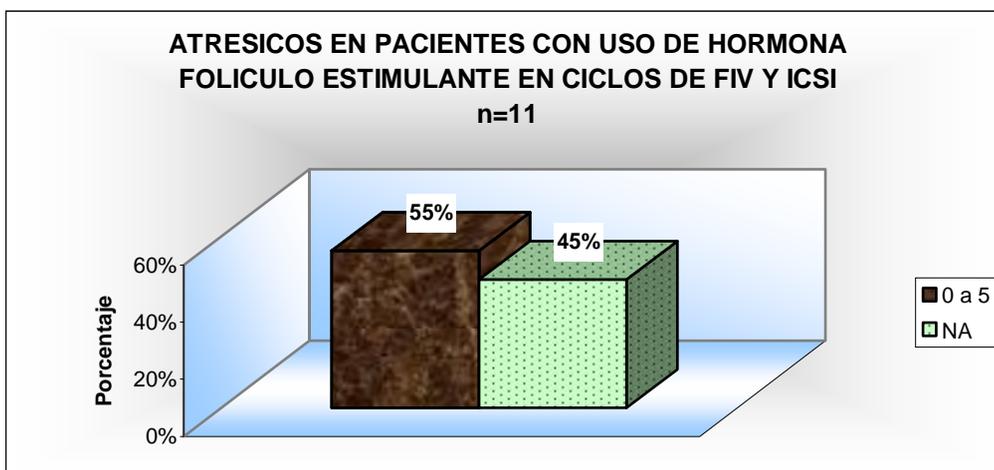
En la tabla XVII y gráficas 13 y 14 se muestra el número de Ovocitos Atrésicos en ambos grupos

Tabla XVII

OVOCITOS ATRESICOS				
NUMERO	CASOS		CONTROLES	
	Num. Grupo	% Grupal	Num. Grupo	% Grupal
1 a 5	8	73%	6	55%
No Aplica	3	27%	5	45%



Gráfica 13



Gráfica 14

En la tabla XVIII se muestra el número de Ovocitos Inseminados/Inyectados. En el grupo de estudio fueron de 3 a 15, con un promedio de 7, mientras que en el grupo control fue de 6 a 16 con un promedio de 10.

Tabla XVIII

Paciente	Ovocitos Inseminados/Inyectados	
	CASOS	CONTROLES
1	7	11
2	6	12
3	5	7
4	5	16
5	10	12
6	11	10
7	3	6
8	9	12
9	9	8
10	15	13
11	5	10
<b>Promedio</b>	<b>7.727272727</b>	<b>10.63636364</b>

En la tabla XIX se muestra el número de Ovocitos Fertilizados. En el grupo de estudio fueron de 3 a 9, con un promedio de 5, mientras que en el grupo control fue de 4 a 10 con un promedio de 7.

Tabla XIX

Pacientes	Ovocitos Fertilizados	
	CASOS	CONTROLES
1	3	5
2	4	6
3	5	7
4	4	10
5	7	9
6	5	10
7	3	4
8	8	9
9	9	6
10	7	10
11	5	7
<b>Promedio</b>	<b>5.454545455</b>	<b>7.545454545</b>

En la tabla XX se muestra el número de Ovocitos Transferidos. En el grupo de estudio fueron de 2 a 3, con un promedio de 2 mantuvo la misma proporción.

Tabla XX

Pacientes	Transferidos	
	CASOS	CONTROLES
1	3	3
2	2	3
3	3	2
4	2	3
5	3	2
6	3	3
7	3	3
8	3	3
9	2	3
10	2	3
11	3	3
<b>Promedio</b>	<b>2.636363636</b>	<b>2.818181818</b>

En la Tabla XXI muestra el día de transferencia fue en el grupo de estudio entre el día 2 y 3 con promedio de 2, en el grupo control fue entre el día 2 y 4 con promedio del día 3.

Tabla XXI

Pacientes	Día Transferencia	
	CASOS	CONTROLES
1	2	3
2	3	3
3	3	3
4	2	3
5	3	3
6	3	4
7	3	3
8	3	3
9	2	3
10	3	2
11	3	3
<b>Promedio</b>	<b>2.727272727</b>	<b>3</b>

En la Tabla XXII se muestra el número de ovocitos congelados.

Tabla XXI

Pacientes	Ovocitos Congelados	
	CASOS	CONTROLES
1	0	0
2	2	1
3	0	3
4	0	2
5	2	5
6	2	0
7	0	1
8	0	0
9	3	3
10	3	0
11	0	3
<b>Promedio</b>	<b>2.4</b>	<b>1.636363636</b>

En la Tabla XXII se muestra el número de ovocitos no viables.

Tabla XXII

Pacientes	Ovocitos no viables	
	CASOS	CONTROLES
1	0	2
2	0	2
3	2	2
4	2	5
5	2	2
6	0	7
7	0	0
8	5	6
9	4	0
10	2	7
11	2	4
<b>Promedio</b>	<b>1.9</b>	<b>3.363636364</b>

En la Tabla XXIII y XXIV se muestran los grados de maduración ovocitaria.

Tabla XXIII

Pacientes	Grado 1		Grado 2		Grado 3	
	CASOS	CONTROLES	CASOS	CONTROLES	CASOS	CONTROLES
1	1	2	1	3	1	0
2	4	1	0	1	0	2
3	3	4	1	1	1	2
4	0	0	0	4	2	4
5	4	4	0	3	3	2
6	3	3	0	3	1	3
7	3	1	0	2	0	1
8	1	0	2	0	2	7
9	2	6	3	0	1	0
10	1	1	3	1	2	2
11	0	5	0	2	2	0
<b>Promedio</b>	<b>2</b>	<b>2.454545455</b>	<b>0.909090909</b>	<b>1.818181818</b>	<b>1.363636</b>	<b>2.090909091</b>

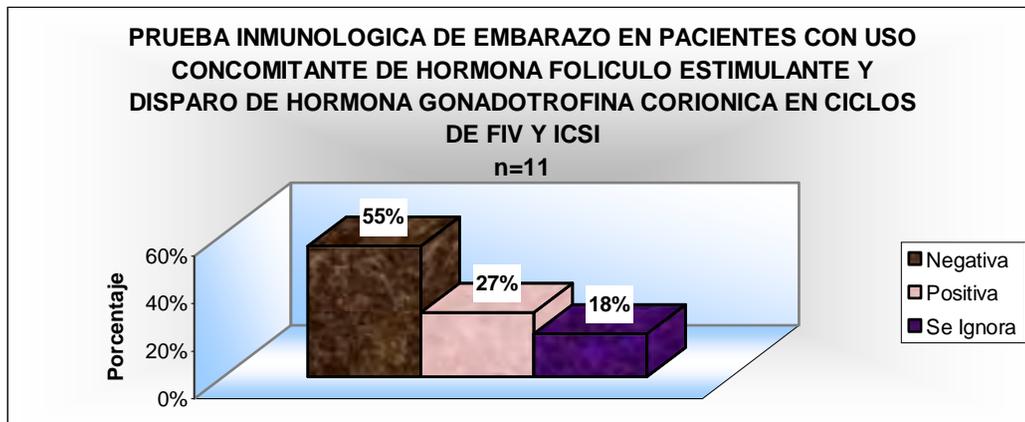
Tabla XXIV

Pacientes	Grado 4		Grado 5	
	CASOS	CONTROLES	CASOS	CONTROLES
1	0	0	0	0
2	0	2	0	0
3	0	0	0	0
4	0	2	0	0
5	0	0	0	0
6	1	1	0	0
7	0	0		0
8	1	0	0	2
9	0	0	0	0
10	0	0	0	3
11	1	0	1	0
<b>Promedio</b>	<b>0.272727</b>	<b>0.454545455</b>	<b>0.1</b>	<b>0.454545455</b>

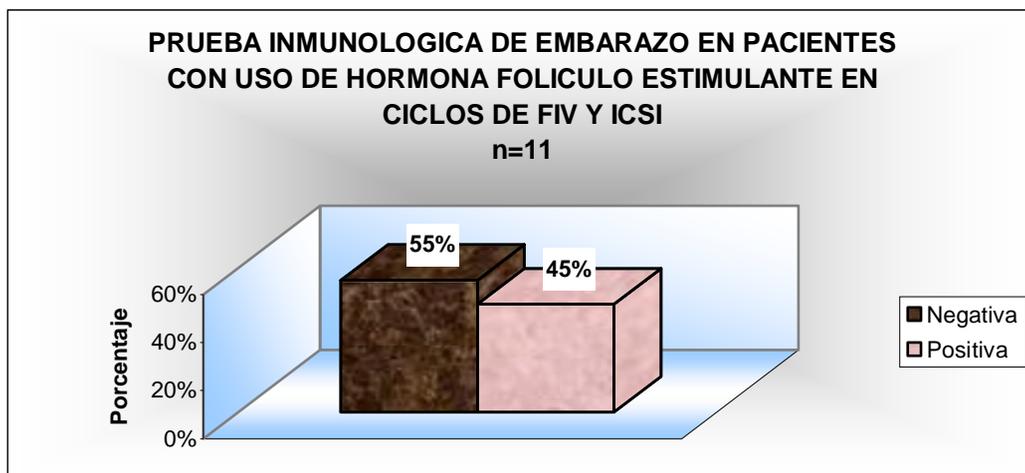
En la tabla XXV y gráficas 15 y 16 se muestran los resultados de la Prueba Inmunológica de Embarazo de las pacientes en ambos grupos.

Tabla XXV

PRUEBA INMUNOLÓGICA DE EMBARAZO				
RESULTADO	CASOS		CONTROLES	
	Num. Grupo	% Grupal	Num. Grupo	% Grupal
NEGATIVA	6	55%	6	55%
POSITIVA	3	27%	4	45%
SE IGNORA	2	18%	0	0%



Gráfica 15



Gráfica 16

En la Figura 1 se muestra el concentrado de resultados y la comparación intergrupal

	DISPARO 450 UI FSHr	Control	p	
Edad	35.45 ± 3.73	35.27 ± 3.02	0.45	NS
No. De pacientes	11	11		
No. De ciclos iniciados	11	11		
No. Ciclos completos	11	11		
Dosis total de rFSH	2215.91 ± 505.01	2059.09 ± 755.00	0.30	NS
Dosis total de hMG	675.00 ± 474.34	838.64 ± 737.50	0.28	NS
Días de administración de rFSH	8.82 ± 1.75	7.42 ± 2.78	0.03	
No. De folículos <b>esperados</b>	7.73 ± 2.56	11.27 ± 3.62	0.01	
No. De folículos <b>recuperados</b>	9.82 ± 3.88	13.09 ± 5.20	0.06	NS
No. De ciclos con ICSI	7 (63.64 %)	6 (55 %)		
Tasa de ovocitos maduros %	79.02	83.10		
No. Ovocitos fertilizados	7.73 ± 3.31	10.64 ± 2.74	0.02	
Tasa de fertilización %	76.41	72.41		
No. De embriones grado I y II	2.29 ± 1.10	2.61 ± 1.50	0.33	NS
No. Embriones congelados	2.40 ± 0.49	1.64 ± 1.61	0.10	NS
No. Embriones transferidos	2.64 ± 0.48	2.82 ± 0.39	0.18	NS
Media ± desv. estándar				
p < 0.05				

Fig. 1

## DISCUSION

En las últimas décadas, las técnicas de reproducción asistida (TRA) han evolucionado, elevando las tasas de éxito debido a los avances en las técnicas y condiciones de laboratorio. En nuestro estudio encontramos que la edad de las pacientes es una buena muestra de la población con la que contamos en nuestro Instituto, la mayoría de las pacientes se encuentran entre 35 y 40 años, siendo este grupo de edad el que más se acerca a recibir ayuda médica para lograr la fertilidad con sus propios óvulos, y también aquellas que se encuentran en edades mayores a los 40 años, aunque en ellas de forma general se ofrece donación de óvulos aunque no todas lo aceptan. Un número importante de pacientes corresponde también a pacientes jóvenes (<35 años), lo que nos habla de una buena muestra poblacional para valorar el efecto del tratamiento en todos los grupos de edad. Coincidimos con lo reportado por Rizk <sup>(3)</sup> en cuanto la frecuencia de atención médica a través de las TRA.

En la mayoría de las pacientes se utilizó como técnica de reproducción asistida la ICSI (inyección intracitoplásmica de espermia), lo que concuerda con las tendencias reportadas por la Red Latinoamericana de reproducción asistida (2009), pues en la mayoría de los casos se observa un factor masculino alterado, o el antecedente de empleo de otras técnicas como IAH (Inseminación Intrauterina heteróloga) o CP (Coito programado). Coincidimos con Gardner <sup>(6)</sup> sobre el éxito logrado en la utilización de esta TRA.

Desde sus inicios, la principal indicación para el empleo de ICSI ha sido la alteración del Factor masculino (FM) como causa de infertilidad, ya sea por alteración en el seminograma, observando teratozoospermia, astenozoospermia o alguna otra alteración, e incluso pacientes que presentan azoospermia obstructiva los cuales en nuestro estudio requirieron biopsia testicular. Otra causa importante del uso de ICSI es la falla de inseminación (IAH), pues al fallar esta técnica nos orienta a el diagnóstico de una probable alteración en la interacción entre óvulo y espermatozoide, por lo que se indica esta técnica, que permite evitar el paso de

contacto directo entre ambos gametos haciéndose a través de la pipeta en el laboratorio. Coincidimos con las técnicas sugeridas por Brinsden <sup>(4)</sup> en la literatura médica de FIV. En nuestro estudio el uso la FIV como TRA tuvo como principal indicación el factor tubo-peritoneal (FTP), pues es en las salpinges donde se lleva a cabo la fertilización y de esta forma se logra la interacción entre gametos en el laboratorio.

Cuando comparamos en los grupos estudiados los niveles hormonales, podemos observar nuevamente las similitudes intergrupales, habiendo niveles de FSH y LH muy similares, lo que nos hace esperar una respuesta parecida en ambos grupos ante la estimulación ovárica controlada, fundamentándose en la observación de que no hay diferencia significativa en los niveles hormonales como tampoco en las dosis requeridas de medicamentos para lograr una adecuada estimulación, aun habiendo pacientes con niveles de FSH bajos, así como pacientes con niveles cercanos a 10, ya que este nivel es el límite superior para realizar una estimulación ovárica con espera de buenos resultados. Coincidimos en esta observación con lo reportado por Pelinck <sup>(10)</sup> y Pérez Peña <sup>(12)</sup> en la literatura médica revisada.

En nuestro estudio, podemos observar que la recuperación ovocitaria fue similar en ambos grupos no habiendo diferencia significativa intergrupar, sin embargo podemos encontrar tendencias importantes como la obtención de un mayor número de ovocitos recuperados en relación a los esperados, con un aumento de 27% de ovocitos recuperados/esperados en el grupo de estudio donde se aplicó el disparo con hormona folículo estimulante (FSH) junto con la hormona gonadotropina coriónica (hCG), comparativamente con el 16% de los ovocitos recuperados esperados en el grupo control sin disparo. Este hallazgo permite inferir un aumento en la cantidad de ovocitos, lo que confirma uno de nuestros objetivos de estudio ( $p < 0.05$ ) mostrando el éxito de nuestra intervención.

Encontramos que la tasa de fertilización es ligeramente mayor en el grupo de estudio, lo que nos permite asegurar que el uso del disparo hormonal genera una

mejoría importante tanto en la cantidad como en la calidad de los ovocitos repercutiendo con ello en la calidad de embriones que se obtienen. De igual forma, la cantidad de embriones congelados fue mayor en el grupo de estudio. Si partimos de la premisa de que solo los embriones de buena calidad (con fragmentación menor a 20%, de 6 a 8 células y simétricos) se congelan, podemos asegurar que nuestra intervención hormonal con el disparo genera una mejoría importante en la calidad. Coincidimos con lo reportado por Arslan <sup>(23)</sup> y Kolibianakis <sup>(29)</sup> en cuanto al éxito en el uso concomitante de hormona folículo estimulante y disparo de hormona gonadotropina coriónica en ciclos de ICSI y FIV.

Si bien este trabajo de investigación tuvo como limitante el tamaño muestra, tenemos la convicción que los resultados obtenidos pueden sentar las bases para nuevos estudios que nos permitan dilucidar mejor el rol de la FSH en los ciclos en las TRA. Creemos que se pueden lograr altas tasas de embarazo si se diseña un esquema de reproducción asistida adecuado a las condiciones de cada paciente que lo solicita. Todo estudio de reproducción asistida debe tener como finalidad encontrar tratamientos más fisiológicos que permitan la obtención de un número aceptable de óvulos con buena calidad sin disminuir la eficiencia de los mismos.

## CONCLUSIONES

- 1) En el Hospital de Especialidades Puerta de Hierro, Instituto de Ciencias en Reproducción Humana “Vida” la edad de las pacientes se encuentra entre los 35 y 40 años, siendo la edad en la mujer que más le preocupa su fertilidad, por lo que suele solicitar ayuda médica para logra la fertilidad de sus óvulos.
- 2) La TRA mas utilizada en nuestro estudio fue ICSI ya que el factor masculino como causa de infertilidad tuvo una alta incidencia, así como la falla de inseminación (IAH).
- 3) La determinación de los niveles hormonales fue similar en ambos grupos, lo que nos permitió esperar una respuesta similar ante la estimulación ovárica controlada.
- 4) Con la estimulación ovárica controlada en el grupo de estudio (casos) se obtuvo un aumento del 27% en el número de ovocitos recuperados/esperados, mientras que en el grupo control el aumento fue tan solo del 16%.
- 5) El disparo de FSH conjuntamente con hCG favorece al aumento en la cantidad y calidad ovocitaria ( $p < 0.05$ ) corroborando nuestro objetivo de estudio.
- 6) El disparo de FSH conjuntamente con hCG aumenta la tasa de fertilización ( $p < 0.05$ ), generando un aumento en la calidad de embriones obtenidos, los cuales pueden ser congelados.
- 7) Este estudio puede sentar las bases para la realización de nuevas investigaciones que permitan esclarecer el rol de la FSH en las TRA, sugerimos realizarlos en muestras poblacionales mayores.
- 8) Si se diseña un esquema de reproducción asistida a la medida de cada paciente se puede elevar la tasa de embarazo, logrando la satisfacción total de la paciente.

## BIBLIOGRAFIA

- 1) Kol, S., Humaidan, P. LH (as HCG) and FSH surges for final oocyte maturation: sometimes it takes two to tango? 2010. Reproductive BioMedicine Online. 1-3.
- 2) Julie D. Lamb, M.D., et.al. Follicle-stimulating hormone administered at the time of human chorionic gonadotropin trigger improves oocyte developmental competence in in vitro fertilization cycles: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. Fertility and Sterility. 2011; 95: 1655-60.
- 3) Rizk B, García-Velasco J, Sallam H, Makrigiannis A. Infertility and assisted reproduction. Cambridge, UK: Cambridge University Press; 2008.
- 4) Brinsden PR (Ed.). Textbook of in vitro fertilization and assisted reproduction. The Bourn Hall Guide to clinical and laboratory practice. 3rd Ed. London: Taylor & Francis Group; 2005.
- 5) Pérez-Peña E, Gutiérrez-Gutiérrez A, Pascual-Rodríguez A, González-Ortega C. Preservación de la fertilidad. En: Barroso Villa JG, editor. Biología de la reproducción en el siglo XXI. Clin Perinat Reprod Hum 2009;p:121-142.
- 6) Gardner DK, Weissman A, Howles CM, Shoham Z (Eds.). Textbook of assisted reproductive techniques. Laboratory and clinical perspectives. 3rd Ed. London: Informa Healthcare; 2009.
- 7) McDonough P. Acupuncture and IVF controversies. Fertil Steril 2007; 87:1000.
- 8) Kolibiankis E, Zikopoulos K, Camus M, Tournaye, et al. Modified natural cycle for IVF responders does not offer a realistic chance of parenthood in poor responders with high day 3 FSH levels, as a last resort prior to oocyte donation. Hum Reprod 2004; 19:2545-2549.
- 9) Cancino VP, González OC, Enríquez FAS, Kohls G, et al. InVP, González OC, Enríquez FAS, Kohls G, et al. In vitro maturation: A low cost alternative that minimizes risks in ART. RBM Online 2008;17 (Suppl 2):P-03,S-34.
- 10) Pelinck MJ, Hoek A, Simons AHM, Heineman MJ. Efficacy of natural cycle IVF: a review of the literature. Hum Reprod Update 2002; 8:129-139.

- 11) Aanesen A, Nygren KG, Nylund L. Modified natural cycle and mild IVF: a 10 year Swedish experience. *RBM Online* 2010; 20:156-162.
- 12) Pérez Peña E. Estimulación ovárica controlada. En: Pérez Peña E, editor. *Atención integral de la infertilidad. Endocrinología, cirugía y reproducción asistida*. 3ª ed. México: McGraw-Hill, 2011.
- 13) Mitwally MFM, Casper RF. Use of an aromatase inhibitor for induction of ovulation in patients with an inadequate response to clomiphene citrate. *Fertil Steril* 2001;75:305- 309.
- 14) Mitwally MFM, Casper RF. Aromatase inhibition reduces gonadotrophin dose required for controlled ovarian stimulation in women with unexplained infertility. *Hum Reprod* 2003; 18:1588-1597.
- 15) Mitwally MFM, Casper RF. Aromatase inhibition improves ovarian response to follicle-stimulating hormone in poor responders. *Fertil Steril* 2002; 77:776-780.
- 16) Garza MA, Cavazos MT, Garza RH, Antagonistas de GnRH. En: Vázquez Benítez E, editor. *Medicina reproductiva*. 2ª ed. México: El Manual Moderno, 2003; p:341-352.
- 17) Teramoto S. Minimal stimulation with clomiphene citrate: a large-scale retrospective study. *RBM On line* 2007; 15:137- 148.
- 18) May JV. Ovarian hyperstimulation. Effects on oocyte quality and communication between physician and embryologist to optimize oocyte quality. *Infertil Reprod Med* 1998; 9:163-179.
- 19) Westergaard LW, Bossuyt PMM, van der Veen F, van Wely M. Human menopausal gonadotropin versus recombinant follicle stimulation hormone for ovarian stimulation in assisted reproductive cycles. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. In: The Cochrane Library, 2009, Issue 3, Art. CD003973. DOI: 10.1002/14651858.CD003973.pub1
- 20) Coomarsamy A, Afnan M, Cheema D, van der Veen F, et al. Urinary hMG versus recombinant FSH for controlled ovarian hyperstimulation following an agonist long down-regulation protocol in IVF or ICSI treatment: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod* 2008; 23:310-315.

- 21) Daya S. Updated meta-analysis of recombinant folliclestimulating hormone (FSH) versus urinary FSH for ovarian stimulation in assisted reproduction. *Fertil Steril* 2002; 77:711-714.
- 22) Daya S, Gunby J. Recombinant versus urinary follicle stimulating hormone for ovarian stimulation in assisted reproduction cycles. *Cochrane Database Syst Rev* 2000:CDOO2810.
- 23) Arslan M, Bocca S, Mirkin S, Barroso G, et al. Controlled ovarian hyperstimulation protocols for in vitro fertilization: two decades of experience after the birth of Elizabeth Carr. *Fertil Steril* 2005; 84:555-569.
- 24) Manual de Reproducción Asistida, Red latinoamericana de Reproducción Asistida, Santiago de Chile 2008
- 25) Armitage P et al. *Statistical methods in medical research*. Oxford, Blackwell Science. Brazil C et al. (2004) Quality control of laboratory methods for semen evaluation in a multicenter research study. *2002 Journal of Andrology*, 25: 645-656.
- 26) WHO laboratory manual for the Examination and processing of human semen. 5ta Edición. 2010.
- 27) Jörgensen N et al. Regional differences in semen quality in Europe. *Human Reproduction*, 2001.16: 1012-1019.
- 28) Itskovitz, J., Boldes, R., Levron, J., et al. 1991. Induction of preovulatory luteinizing hormone surge and prevention of ovarian hyperstimulation syndrome by gonadotropin-releasing hormone agonist. *Fertil. Steril.* 56, 213–220.
- 29) Kolibianakis, E.M., Schultze-Mosgau, A., Schroer, A., et al., 2005. A lower ongoing pregnancy rate can be expected when GnRh agonist is used for triggering final oocyte maturation instead of hCG in patients undergoing IVF with GnRH antagonists. *Hum. Reprod.* 20, 2887–2892.
- 30) Oktay, K., Tu"rkcu"oglu, I., Rodriguez-Wallberg, K., 2009. A GnRHa trigger for women with breast cancer undergoing fertility preservation by aromatase inhibitor-FSH stimulation. *Reprod. Biomed. Online*, on web 30 Sep 2009.

- 31) Schachter, M., Friedler, S., Ron-El, R., et al, 2008. Can pregnancy rate be improved in gonadotropin-releasing hormone (GnRH) antagonist cycles by administering GnRH agonist before oocyte retrieval? A prospective, randomized study. *Fertil. Steril.* 90, 1087–1093.
- 32) Segal, S., Casper, R.F., 1992. Gonadotropin-releasing hormone agonist versus human chorionic gonadotropin for triggering follicular maturation in in vitro fertilization. *Fertil. Steril.* 57, 1254–1258.
- 33) Shapiro, B.S., Daneshmand, S.T., Garner, F.C., et al. 2008. Gonadotropin-releasing hormone agonist combined with a reduced dose of human chorionic gonadotropin for final oocyte maturation in fresh autologous cycles of in vitro fertilization. *Fertil. Steril.* 90, 231–233.
- 34) Stickland, S., Beers, W., 1976. Studies on the role of plasminogen activator in ovulation. In vitro response of granulosa cells to gonadotrophins, cyclic nucleotides and prostaglandins. *J. Biol. Chem.* 251, 5694–5699.
- 35) Tavaniotou, A., Albano, C., Smitz, J., Devroey, P., 2001. Comparison of LH concentrations in the early and mid-luteal phase in IVF cycles after treatment with HMG alone or in association with the GnRH antagonist Cetrorelix. *Hum. Reprod.* 16, 663–667.
- 36) Yding Andersen, C., 2002. Effect of FSH and its different isoforms on maturation of oocytes from pre-ovulatory follicles. *Reprod. Biomed. Online* 5, 232–239.
- 37) Driebergen R, Baer G. Quantification of follicle stimulating hormone (follicle stimulating hormone): is in vitro bioassay still relevant in the recombinant age? *Curr Med Res Opin* 2003;19:41-46.
- 38) Oberyé J, Passier D, Mahony M, Mannaerts B, Bonduelle M. Successful corifollicle stimulating hormone treatment resulting in 500 hundred live-born infants to date. *Fertil Steril* 2010;93:S18.
- 39) Devroey P, Kuper NP, Mannaerts BMJL, Jzerman PC, Fauser BCJM. A double blind, non inferiority RCT comparing corifollicle stimulating hormone and recombinant FSH during the first seven days of ovarian stimulation using a GnRH antagonist protocol. *Hum Reprod* 2009; 20:3063-3072.

- 40) Devroey P, Fauser BC, Plattreau P, Becker NG, et al. Induction of multiple follicular development by a single dose of long-acting recombinant follicle-stimulating hormone (FSH-CTP, corifollitropin alfa) for controlled ovarian stimulation before in vitro fertilization. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89:2062-2070.
- 41) Howles CM. Recombinant gonadotropins in reproductive medicine: the gold standard of today. *Reprod Biomed Online* 2006;12:11-13.
- 42) Van Wely M, Westergaard LG, Bossuyt PMM, van der Veen F. Effectiveness of human menopausal gonadotropin versus recombinant follicle stimulating hormone for controlled ovarian hyperstimulation in assisted reproductive cycles. A meta-analysis. *Fertil Steril* 2003; 80:1086-1093.
- 43) Al-Inani H, Aboughar M, Mansour R, Serour G. Metaanalysis of recombinant versus urinary-derived FSH: an update. *Hum Reprod* 2003;18:305-313.
- 44) Van de Weijer BH, Mulders JW, Bos ES, Verhaert PD, et al. Compositional analyses of a human menopausal gonadotropin preparation extracted from urine (menotropin). Identification of some of its major impurities. *Reprod Biomed Online* 2003;7:547-557.
- 45) Giudice E, Crisci C, Altarocca V, O'Brien M. Characterization of a partially purified human menopausal gonadotropin preparation. *J Clin Res* 2001; 4:27-33.
- 46) Griesinger G, Schultze-Mosgau A, Dafopoulos K, Schroeder A, et al. Recombinant luteinizing hormone supplementation to recombinant follicle-stimulating hormone induced ovarian hyperstimulation in the GnRH-antagonist multiple-dose protocol. *Hum Reprod* 2005; 20:1200-1206.
- 47) Kolibianakis EM, Collins J, Tarlatzis B, Papanikolaou E, Devroey P. Are endogenous LH levels during ovarian stimulation for IVF using GnRH analogues associated with the probability of ongoing pregnancy? A systematic review. *Hum Reprod Update* 2006;12:3-12.
- 48) Cedrin-Durnerin I. Antagonist protocols: residual LH levels and the value of exogenous LH supplementation. *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris)* 2004;33:3S29-31.

- 49) Filicori M, Cognini GE, Taraborrelli D, Spettoli D, et al. Luteinizing hormone activity supplementation enhances follicle-stimulating hormone efficacy and improves ovulation induction outcome. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:2659-2663.
- 50) Ludwig M. Does the addition of luteinizing hormone in ovarian stimulation protocols improve the outcome? *Treta Endocrinol* 2003; 2:305-313.
- 51) Meldrum D. Pituitary control: GnRH agonists or antagonists. *Middle East Fertil Soc J* 2003;8:4-5.
- 52) Pinkas H, Sapir O, Avrech OM, Ben-Haroush A, et al. The effect of oral contraceptive pill for cycle scheduling prior to GnRH antagonist protocol on IVF cycle parameters and pregnancy outcome. *J Ass Reprod Genet* 2008;25:29-34.
- 53) Biljan MM, Mahutte NG, Dean N, Hemmings R, et al. Effects of pretreatment with an oral contraceptive on the time required to achieve pituitary suppression with gonadotropin-releasing hormone analogues and on subsequent implantation and pregnancy rates. *Fertil Steril* 1998; 70:1063-1069.
- 54) De Ziegler D, Jaaskelainen AS, Brioschi PA, Fanchin R, Bulletti C. Synchronization of endogenous and exogenous FSH stimuli in controlled ovarian hyperstimulation (COH). *Hum Reprod* 1998; 13:561-564.
- 55) Fanchin R, Solomon L, Castelo-Branco A, Olivennes F, et al. Luteal estradiol pre-treatment coordinates follicular growth during controlled ovarian hyperstimulation with GnRH antagonists. *Hum Reprod* 2003; 18:2698-2703.
- 56) Fratarelli JL, Hill MJ, McWilliams GD, Miller KA, et al. A luteal estradiol protocol for expected poor responders improves embryo numbers and quality. *Fertil Steril* 2008; 89:1118-1122.
- 57) Sullivan, M.W., Stewart-Akers, A., Krasnow, J.S., et al., 1999. Ovarian responses in women to recombinant follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone (LH): a role for LH in the final stages of follicular maturation. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 84, 228–232.

- 58) Tavaniotou, A., Devroey, P., 2003. Effect of human chorionic gonadotropin on luteal luteinizing hormone concentrations in natural cycles. *Fertil. Steril.* 80, 654–655.
- 59) Yding Andersen, C., Leonardsen, L., Ulloa-Aguirre, A., et al., 1999. FSH-induced resumption of meiosis in mouse oocytes: effect of different isoforms. *Mol. Hum. Reprod.* 5, 726–731.
- 60) Zelinski-Wooten, M.B., Hutchison, J.S., Hess, D.L., et al., 1995. Follicle stimulating hormone alone supports follicle growth and oocyte development in gonadotrophin-releasing hormone antagonist-treated monkeys. *Hum. Reprod.* 10, 1658–1666.
- 61) Machtiger, R., Politch, J.A., et al., 2010. A giant oocyte in a cohort of retrieved oocytes: does it have any effect on the in vitro fertilization cycle outcome? *Fertility and Sterility*.
- 62) De Santis, L. 2005. Polar body morphology and spindle imaging as predictors of oocyte quality. *Reproductive BioMedicine Online.* 11, 1, 36–42
- 63) Balaban B., Urman B. 2006. Effect of oocyte morphology on embryo development and implantation. *Reproductive BioMedicine Online.* 12, 5, 608-615.
- 64) Marteil G., Richard-Parpaillon L., Kubiak J.Z. Role of oocyte quality in meiotic maturation and embryonic development. 2009. *Reproductive Biology.* 9, 3.203-224.
- 65) Kahraman, S, Yakin, K., Dönmez, E., et al. Relationship between granular cytoplasm of oocytes and pregnancy outcome following intracytoplasmic sperm injection. 2000. *Human Reproduction.* 15, 11, 2390-2393.
- 66) Otsuki J., Nagai Y., Chiba K. Lipofuscin bodies in human oocytes as an indicator of oocyte quality. 2007. *Journal of Assisted Reproductive Genetics.* 24:263–270.
- 67) Otsuki J., Okada A., Morimoto K., et al. The relationship between pregnancy outcome and smooth endoplasmic reticulum clusters in MII human oocytes. 2004. *Human Reproduction,* 19, 7, 1591±1597

- 68) Ebner, T., Moser M., Sommergruber M., et al. Occurrence and developmental consequences of vacuoles throughout preimplantation development. 2005. *Fertility and Sterility*. 83,6, 1635-40.
- 69) Ebner, T, Shebl, O., Moser, M., et al. Developmental fate of ovoid oocytes. 2008. *Human Reproduction*. 23, 1, 62–66
- 70) Lamb, J., Shen, S., McCulloch, C., et al. Follicle-stimulating hormone administered at the time of human chorionic gonadotropin trigger improves oocyte developmental competence in in vitro fertilization cycles: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. 2010. *Fertil Steril*. 94:952–7
- 71) Rosen, M., Zamah, M., Dobson, A., et al. The effect of follicular fluid hormones on oocyte recovery after ovarian stimulation: FSH level predicts oocyte recovery. 2009. *Reproductive Biology and Endocrinology*. 7:35.

# ANEXOS

Anexo 1

## INSTRUMENTO DE RECOLECCION DE DATOS

<b>“CALIDAD Y RECUPERACIÓN OVOCITARIA OBTENIDA CON EL USO DE HORMONA FOLÍCULO ESTIMULANTE, CON EL DISPARO DE HORMONA GONADOTROFINA CORIONICA EN ESTIMULACIÓN OVÁRICA CONTROLADA EN MEDIANA Y ALTA COMPLEJIDAD”</b>			
<b>Edad</b>			
<b>Menor a 20 años</b>	<b>21 a 30 años</b>	<b>31 a 40 años</b>	<b>Más de 40 años</b>
<b>Técnica de Reproducción Asistida</b>			
<b>Con disparo de hormona gonadotropina coriónica</b>		<b>Sin disparo de hormona gonadotropina coriónica</b>	
<b>Calidad ovocitaria</b>	<b>Cantidad ovocitaria</b>	<b>Calidad ovocitaria</b>	<b>Cantidad ovocitaria</b>

## CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

ETAPA	JULIO 2012	AGOSTO 2012	SEPTIEMBRE 2012
Realización y entrega del protocolo a revisión por los asesores	X		
Modificaciones hechas por los asesores de tesis	x		
OBTENCIÓN AUTORIZACIÓN Por el Comité Local de Investigación en salud	x		
RECOLECCION INFORMACIÓN		X	X
ALMACENAMIENTO DE DATOS			X
ORDENAMIENTO DE DATOS			X
CONTROL DE CALIDAD			X
REALIZACION DE RESULTADOS DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES			X
ALMACENAR INFORMACION			X
PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE DATOS. REPORTE FINAL DE TESIS			X

## GLOSARIO

### **Análisis de semen**

Examen microscópico del líquido eyaculado para determinar el número de espermatozoides, su forma, y su habilidad para moverse.

### **Anovulación**

Falla o ausencia de ovulación.

### **Defecto de fase lútea**

Es la condición que se presenta cuando el revestimiento interno del útero no madura adecuadamente en respuesta a la secreción de progesterona producida por el ovario después de la ovulación.

### **Endometriosis**

La presencia de tejido similar al del endometrio en localizaciones anormales como ovarios, trompas de Falopio, y cavidad abdominal. La endometriosis puede asociarse a dolor pélvico e infertilidad.

### **Fertilización in vitro (IVF en inglés)**

Método de reproducción asistida que involucra la remoción quirúrgica de huevos desde los ovarios de la mujer, los cuales son combinados con los espermatozoides, en el laboratorio. Si se produce la fertilización, el embrión resultante es puesto en el útero de la mujer.

### **Folículo**

Saco lleno de líquido ubicado justo por debajo de la superficie ovárica y que contiene el huevo inmaduro (ovocito).

### **Histeroscopia**

Procedimiento diagnóstico en el cual un visor con luz propia (histeroscopio), es introducido a través del cuello del útero hasta el útero, lo que permite al médico visualizar el interior del útero.

### **Histerosalpingograma**

Procedimiento radiológico en el cual un medio especial de contraste (tintura), es inyectado dentro del útero para definir su contorno interno, y el grado de apertura (permeabilidad) de las trompas de Falopio.

### **Hormona luteinizante (LH)**

Hormona que produce la ovulación, y estimula al cuerpo lúteo para que secreta progesterona.

### **Laparoscopia**

Instrumento visor delgado, con luz propia, equipado con un lente telescópico.

### **Laparoscopia**

Procedimiento diagnóstico en el que el cirujano introduce un laparoscopio a través de una pequeña incisión bajo el ombligo, e inspecciona visualmente el útero, los ligamentos uterinos, las trompas de Falopio, los ovarios y los órganos abdominales. Puede ser necesario realizar otras incisiones, a través de las cuales se puede introducir y manipular instrumentos adicionales, para facilitar el diagnóstico y tratamiento de la enfermedad pélvica.

### **Micromanipulación**

Grupo de procedimientos en los cuales el huevo (oocito) y los espermios son manipulados para ayudar a la fertilización.

## **Ovulación**

Liberación de un huevo maduro desde su folículo ubicado en la capa externa del ovario. La ovulación generalmente ocurre en el día 14 o 15 de un ciclo de 28 días, o 14 días antes del primer día de la próxima menstruación.

## **Peritoneo**

Revestimiento de la cavidad abdominal.

## **Progesterona**

Hormona femenina secretada por el ovario durante la segunda mitad del ciclo menstrual. La progesterona prepara el revestimiento interno del útero para la implantación del huevo fertilizado.

## **Temperatura corporal basal (TCB)**

Temperatura del cuerpo en reposo. Se toma la temperatura oral cada mañana, inmediatamente después de despertar, y se lleva un registro en una hoja de TCB. Los registros son estudiados para ayudar a identificar la ovulación, que ocurre aproximadamente al mismo tiempo que el alza de la TCB.

## **Transferencia de embrión por ovodonación**

Transferencia a una receptora infértil de un embrión resultante del huevo de una donante voluntaria.

## **Transferencia intratubaria de gametos (GIFT en inglés)**

Método de reproducción asistida que involucra la remoción quirúrgica de huevos desde el ovario de una mujer, los cuales son combinados con espermias, siendo ambos inmediatamente inyectados a la trompa de Falopio. La fertilización se produce dentro de la trompa de Falopio. Transferencia intratubaria de cigoto (ZIFT en inglés). Los huevos son recolectados y fertilizados, y el cigoto resultante es transferido a la trompa de Falopio.