



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**Resultados de la utilización de FSH
recombinante/LH recombinante
(Pergoveris®) en estimulación ovárica
controlada con protocolo de antagonista**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
SUBESPECIALIDAD EN BIOLOGIA DE LA
REPRODUCCIÓN**

P R E S E N T A:

DR. EDUARDO AGUAYO MACIAS



**DIRECTOR DE TESIS:
DR. PEDRO GALACHE VEGA
(2015)**

**MONTERREY, NUEVO LEON, MÉXICO
A 23 de febrero del 2015**



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.

ÍNDICE

| | |
|-----------------------------------|-----------|
| JUSTIFICACIÓN | 4 |
| MARCO TEÓRICO | 6 |
| PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA | 18 |
| HIPÓTESIS | 19 |
| OBJETIVO | 20 |
| MATERIALES Y MÉTODOS | 21 |
| RESULTADOS | 30 |
| DISCUSIÓN | 35 |
| CONCLUSIONES | 38 |
| BIBLIOGRAFÍA | 40 |

AGRADECIMIENTOS

Primero que a nadie, agradecer a DIOS por darme la vida y la oportunidad de ser un instrumento suyo en esta bella profesión. Por cuidarme y estar siempre presente en mi camino.

Agradezco a mi padres por forjar la persona que soy hasta ahora, por ser un todo un ejemplo a seguir y por unos padres amorosos, rectos y fuertes. A mis hermanos y cuñadas por siempre apoyarme y estar siempre presentes.

Especialmente a mi esposa Karla, por ser el amor de mi vida, por estar presente todos los días apoyándome y alentándome a seguir adelante, a no desistir en el camino en el que vamos juntos. TE AMO SIEMPRE. A mis hermosos hijos Emma y Lalito, por llegar a alegrar día a día nuestras vidas y ser el motor para seguir adelante.

A mis maestros: Dr. Santos, Dr. Galache, Dr. Samuel, Dr. Pablo, Dr. Garza, Dr. Batiza y Dr. Montemayor por brindarme de su tiempo, sabiduría y enseñanzas a lo largo de estos dos años.

A Iram, Julio y Ashanti por su tiempo que me dedicaron para enseñarme tantas cosas. En especial a Beto, por su asesoría y enseñanzas durante los trabajos de investigación y en la realización de la presente tesis.

A mis compañeros de generación, Lorenzo y Ax, por compartir tantas locuras y travesías en los dos años pasados. A mis compañeros de residencia: Montse, Laura, mi compadre Eugenio, Abril, Angélica y Marco, por tantas cosas que aprendí de ustedes.

Por último, pero no menos importante, a todo el personal del Instituto: al maestro Genaro, a Oswaldo, Sammy, Paty, Marissa, a las Teachers (mi madre y madrastra), a las recepcionistas, a Mili, las de administración, personal de intendencia, recursos humanos y enfermeras, por quererme tanto, nos seguiremos viendo primero Dios. Un abrazo a todas y todos.

JUSTIFICACIÓN

El presente estudio se realiza con la finalidad de cumplir un requisito obligatorio para la obtención del grado de subespecialista en biología de la reproducción. También lo realizamos para poder determinar los resultados reproductivos que se obtienen con la estandarización de protocolos y dosis de gonadotropinas exógenas con tecnología recombinante a dosis fijas en pacientes sometidas a tratamientos de reproducción asistida y que permitan mayor comodidad y confianza durante su administración y utilización. El Pergoveris® es un fármaco de nuevo lanzamiento que es una combinación fija estándar de hormona folículo estimulante recombinante (FSHr) a una dosis de 150 UI y de hormona luteinizante recombinante (LHR) 75 UI el cuál fue utilizado durante protocolos de antagonista de GnRH en un programa de Fertilización In Vitro.

Existe mucha controversia sobre el rol que tiene la LH en la fase folicular en las pacientes que se someten a estimulación ovárica para ciclos de reproducción asistida de alta complejidad. Indudablemente, la necesidad fisiológica de la LH es requerida en la fase folicular para la producción de estrógenos y completar la maduración ovocitaria, además de un adecuado

desarrollo endometrial. Sin embargo, la suplementación exógena de LH en ciclos de estimulación ovárica controlada para FIV es aún tema de debate.

MARCO TEORICO

En los últimos años, se considera que ha existido un aumento los problemas de fertilidad por lo que la solicitud de tratamientos de fertilidad se han incrementado exponencialmente. Se estima que el 15% de la población en edad reproductiva puede llegar a tener problemas de infertilidad, donde una evaluación adecuada de la pareja infértil forma un papel fundamental para establecer las estrategias adecuadas para conseguir el objetivo de lograr un nacido vivo sano. Dentro de las estrategias que se tiene disponibles es el uso de la estimulación ovárica controlada; ya sea durante tratamientos de baja o alta complejidad, donde se utiliza gonadotropinas exógenas con la finalidad de aumentar el número de folículos en desarrollo y de esa manera aumentar las posibilidad de embarazo.

Durante los tratamientos de reproducción asistida de alta complejidad, la estimulación ovárica se utiliza con la finalidad de aumentar el número de ovocitos disponibles para su contacto con el espermatozoide en un laboratorio especializado y de esa manejar generar embriones que posteriormente puedan ser transferidos a la cavidad endometrial y poder tener un embarazo.

En los inicios de las técnicas de reproducción asistida, la estimulación ovárica controlada se realizó con gonadotropinas urinarias obtenidas de la depuración de orina de mujeres postmenopáusicas, los avances tecnológicos han permitido la introducción de tecnologías recombinantes que incrementan la pureza y biodisponibilidad de éstos fármacos. La adición de análogos de la Hormona liberadora de Gonadotropinas (GnRH) permite que los niveles de gonadotropinas endógenas no interfieran y puedan tener un efecto deletéreo durante la realización de este tipo de tratamientos.

La suplementación de LH en los tratamientos de las técnicas de reproducción asistida ha sido y sigue siendo controversial ya que se sabe que el grupo con hipogonadismo hipogonadotrófico sigue siendo el más beneficiado. En las pacientes normogonadotróficas no existen aún los criterios claros que apoyen la suplementación con esta hormona durante la estimulación ovárica. Sin embargo, últimos datos (estudios) han mostrado los efectos benéficos de la suplementación con LH sin importar el estatus gonadotrófico reportando mayor número de ovocitos maduros (metafase II), mejor calidad embrionaria, mejor tasa de implantación y mejor tasa de nacido vivo en aquellas pacientes que fueron suplementadas con LH exógena. Aunque no se ha logrado establecer la dosis mínima con la cuál se obtienen estos beneficios.

Hormona Luteinizante

La LH es un heterodímero con un peso molecular de 29,800 d que consta de 2 subunidades (α y β). La subunidad α conste de una cadena de 92 aminoácidos, y la subunidad β de 112 a 114 aminoácidos. Es codificada en los cromosomas 6 y 19. Comparte una cadena α es similar en estructura e actividad a la subunidad α de otras hormonas como la FSH, Hormona estimulante de tiroides (TSH) y la glicoproteína placentaria Hormona Coriónica Humana (hCG). La subunidad β a su vez, es la que proporciona la actividad única de ésta hormona. Posee variantes en su actividad inmunológica y biológica, y por su vida media más corta (aproximadamente 30 min) que FSH (149 minutos en promedio) hace que la pulsatilidad para su liberación se acentuada.

Es liberada por la hipófisis anterior ante el estímulo de la hormona liberadora de gonadotropinas en el hipotálamo (GnRH) y mantiene su control gracias a los mecanismo de retroalimentación positiva y negativa, constituyendo las altas concentraciones de estrógenos su principal estímulo positivo y la secreción de progesterona como su principal inhibidor. [2]

FISIOLOGÍA

La maduración ovocitaria es un proceso complejo que es fundamental su comprensión para la realización de cualquier tratamiento en reproducción asistida y para entenderlo es necesario conocer los sucesos endocrinos que rodean a la ovulación y al control de esteroidogénesis durante el crecimiento folicular.

En el ciclo menstrual se divide en dos fases: la fase folicular y la fase lútea. Durante la primer fase, las señales hormonales son orientadas al desarrollo de un folículo único, usualmente este proceso puede durar de 10 a 14 días y la modificación de su duración es la responsable de las alteraciones del ciclo menstrual. La segunda fase, la fase lútea, es el tiempo que transcurre a partir de la ovulación hasta la presentación de la siguiente menstruación en caso de no existir embarazo, siendo ésta la fase más estable con una duración de 14 días.

Los eventos hormonales que nos llevan a la selección de un folículo dominante y que se presentan durante la fase folicular, es lo que se busca durante la estimulación ovárica controlada en cualquier tratamiento de reproducción asistida.

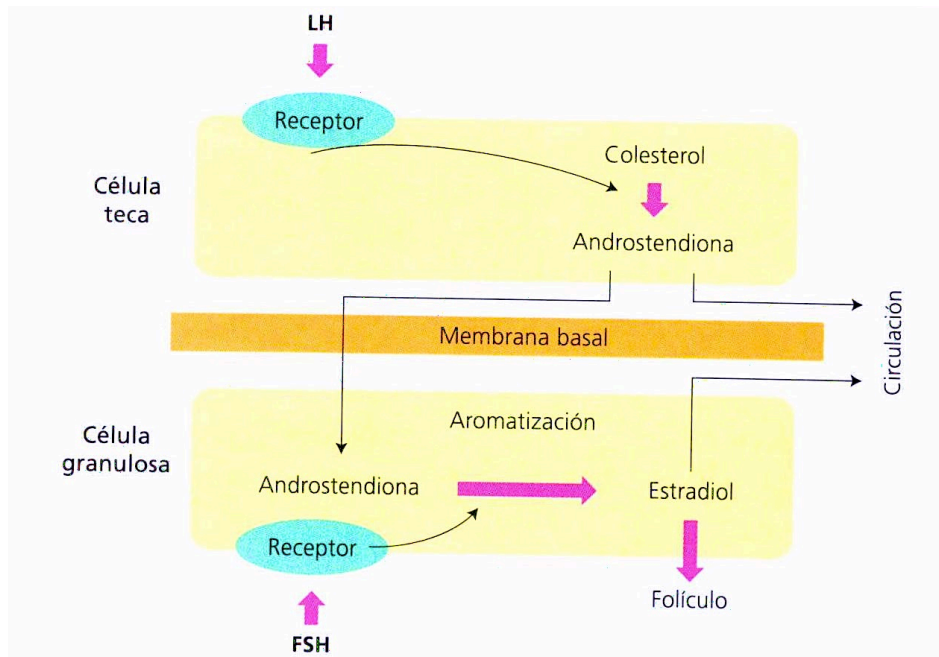
Durante el inicio de cada ciclo menstrual, los niveles de esteroides gonadales están bajos desde la fase lútea del ciclo previo. Por esta razón, existe un incremento de la secreción en la FSH, lo que permite la selección de una cohorte de folículos en crecimiento, con la consiguiente producción de estrógenos.

El incremento en las concentraciones de estrógenos ocasiona una inhibición en la secreción de FSH por la hipófisis (retroalimentación negativa), en la mitad de la fase folicular. La LH que al inicio del ciclo se encontraba inhibida por la concentraciones de estradiol, comienza a elevarse también en respuesta a las concentraciones séricas de estradiol, llamada respuesta bifásica. Ya para el final de la fase folicular, los receptores de LH inducidos por la presencia de FSH, están presentes en las células de la granulosa, y con la presencia de LH, comienza la secreción de progesterona. La ovulación se presenta después de alcanzar concentraciones de estradiol de 200 pg/mL durante 48 horas, lo que desencadena la elevación súbita de LH y la ruptura folicular se presenta a las 24 a 36 horas posteriores a ésta elevación. [1]

PRINCIPIO DE LAS 2 CELULAS

Este es el principio más aceptado que interviene en el desarrollo folicular y la esteroidogénesis. Fue propuesto por Falck en 1959, en el cual explica la aparición de los receptores hormonales durante el desarrollo folicular.

Los receptores de FSH están presentes en las células de la granulosa e inducen la expresión de otros receptores de FSH. Por otra parte, los receptores de LH están presentes en las células de la teca y son inducidos por la presencia de FSH, tanto en la teca como en las células de la granulosa, durante la etapa preantral. **[Figura 1]** Es así que la FSH induce la aromatización en las células de la granulosa. Así las células de la teca tiene actividad esteroidogénica a expensas de la presencia de LH, que resulta principalmente en la formación de andrógenos, que a su vez son aromatizados a estrógenos en las células de la granulosa por influencia de FSH. **[3]**

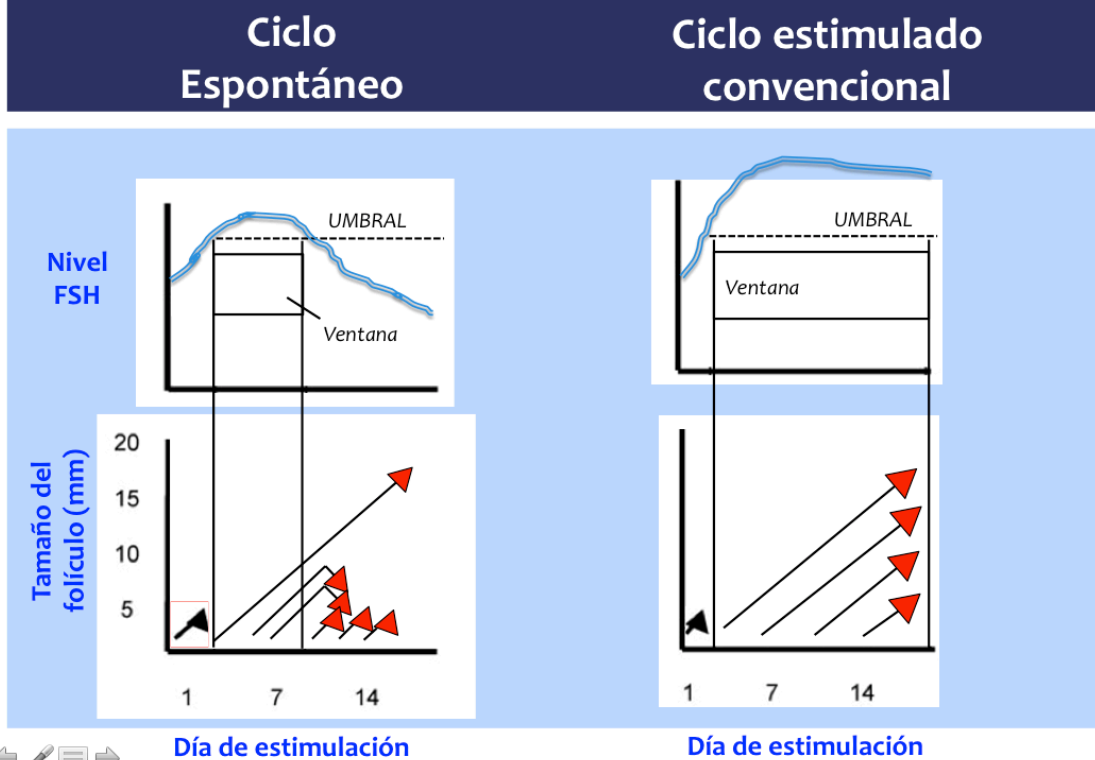


[Figura 1]

Se cree que a LH juega un rol en inducir y mantener el sistema paracrino por su acción, tanto en las células de la granulosa, como en las células de la teca. Además, la LH tiene otro rol en ayudar a deseleccionar los folículos no-dominantes.

Otro concepto importante es **el umbral y la ventana de FSH**. La administración de gonadotropinas a niveles por debajo del umbral de FSH no ofrecerá ninguna respuesta ovárica aunque la terapia se utilice de manera prolongada. La duración de la elevación de FSH por arriba de los niveles del umbral se autolimitan a mitad del ciclo por los niveles altos de estrógenos producidos por los folículos en crecimiento, siendo esta una retroalimentación negativa. **[Figura 2]** Ésta ventana de FSH es importante en la determinación del número de folículos que se desarrollarán. Si esta ventana se extiende en ciclos de inducción de ovulación, la cohorte de folículos reclutados se incrementa y un mayor número de folículos eventualmente se desarrollarán hasta la etapa preovulatoria. **[4]**

Macklon et al. Endocrine Reviews 2006



[Figura 2]

En un estudio realizado en 2006, se evaluó el rol de la LH recombinante (LHr) en ciclos de reproducción asistida. De manera aleatoria se asignaron mujeres que iban a ser sometidas a tratamiento de FIV con FSH recombinante, aun grupo se le brindó placebo y a otro se añadió LHr una vez que un folículo alcanzará 14 mm de diámetro. No se observó diferencia en el número de óvulos obtenidos , ovocitos metafase II (MII), ni calidad de embriones, sin embargo, no se midió LH ni estradiol a mitad del ciclo estimulado, por lo que los autores recomiendan la suplementación con LHr cuando los niveles de estradiol estuviesen bajos y cuando el desarrollo endometrial fuera muy pobre. [5]

Es otro estudio realizado por Balasch y cols, utilizó un punto de corte de nivel de LH en **1.2 IU/mL**, para la suplementación con LH, ya que observó los mayores beneficios en éstas pacientes. Atribuyó a los niveles bajos de LH, la pobre tasa de fertilización, mala calidad embrionaria y aborto espontaneo. Por lo que las pacientes con niveles bajos de LH, deberán ser suplementados con LH exógena. **[6]**

En el 2012, Paterson et al realizaron un estudio que tenía como objetivo principal, determinar si la tasa de embarazo se mejoraban con la suplementación de LHr a la FSH recombinante (FSHr) en estimulación ovárica controlada. Se realizaron dos grupos: FSHr + LHr (n=765) y solamente FSHr (n=800)

Se utilizó protocolos de antagonista (*Cetrotide*) y protocolo de agonista (*Suprefact*), y se usó FSHr. Los resultados se muestran en la **[Figura 3]**

582

J Assist Reprod Genet (2012) 29:579–583

Table 2 Ovarian stimulation outcomes

| | 2006 (rFSH) n=800 | 2007 (rLH+rFSH) n=765 | p value |
|-------------------------------|-------------------|-----------------------|---------|
| Number of Oocytes Retrieved | 15.2±8.3 | 15.0±7.5 | NS |
| ICSI Performed | 512 (68%) | 499 (69%) | NS |
| Usable Embryos | 81% | 78% | NS |
| Embryo Transfer Occurred | 750 (94%) | 718 (94%) | NS |
| Day of Embryo Transfer | 3.1±0.4 | 3.1±0.5 | NS |
| Number of Transferred Embryos | 2.3±1.1 | 2.3±1.1 | NS |
| Fertilization Rate | 72% | 74% | 0.040 |
| Implantation Rate | 37% | 41% | 0.030 |
| Total Pregnancy Rate | 428 (54%) | 463 (61%) | 0.006 |
| Clinical Pregnancy | 394 (49%) | 432 (56%) | 0.005 |
| Live Birth | 337 (42%) | 372 (49%) | 0.010 |

p<0.05 considered significant

[Figura 3]

Se realizó un trabajo de investigación en Madrid, España por Ruiz Balda y colaboradores, donde evaluaron la utilización del **Pergoveris®** en pacientes ingresadas para FIV/ICSI. Fue un estudio multicéntrico, prospectivo y observacional donde estudiaron a 487 pacientes de diferentes centros de fertilidad de España. Se formaron grupos de pacientes <35 años, pacientes entre 35-40 años y pacientes >35 años de edad. Las dosis iniciales de FSHr:LHr fueron de 300:150 UI, es decir dos ampollas diarias. Los resultados se muestran en la siguiente tabla. **[Figura 4]** Concluyeron que la utilización del nuevo medicamento alcanza muy buenas tasas de embarazo clínico de un 33.2% por transferencia en pacientes que fueron ingresadas al programa de FIV/ICSI. **[9]**

| Age | <35 | ≥ 35 < 40 | > 40 |
|--|----------|-----------|----------|
| # Patients | 105 | 314 | 68 |
| Days on stimulation | 9,4±1,7 | 9,6±1.7 | 9,7±2.0 |
| Total dose of rFSH:rLH (150:75 IU) vials | 18,0±6.8 | 18,7±6.2 | 19,5±6.9 |
| Total dose of additional rFSH (75 UI) vials | 1,9±6.2 | 3,2±8.7 | 3,5±9.6 |
| Total follicles on day of hCG | 9,5±4.5 | 9,2±4.6 | 8,0±3.6 |
| # follicles >14 mm | 6,2±4.1 | 6,1±4.2 | 5,6±4.1 |
| #oocytes retrieved | 7,5±5.0 | 7,2±4.3 | 5,7±3.5 |
| # MII retrieved | 5,7±4.6 | 5,3±3.5 | 4,5±2.9 |
| # 2 PN | 3,6±3.3 | 3,5±3.1 | 3,3±2.1 |
| # embryos on day 3 | 2,9±2.9 | 2,8±2.9 | 2,6±2.1 |
| # Embryos transferred | 2,0±0.8 | 2,0±0.9 | 2,0±0.9 |
| % of cycles with embryo transfer | 80 | 75,7 | 83,2 |
| Clinical Pregnancy rate/IIT | 21,8 | 27,1 | 26,4 |
| Clinical Pregnancy rate/ET | 27,8 | 35,6 | 31,4 |

[Figura 4]

En un estudio realizado por Micah J Hill y cols en el 2012 [10], evaluaron el efecto que tiene la LH recombinante en técnicas de reproducción asistida de alta complejidad en pacientes con edad reproductiva avanzada. Fue una revisión sistemática y un metanálisis, donde ingresaron a pacientes mayores de 35 años de edad que iban a ser sometidas a reproducción asistida. En el estudio de Fabregues et al [11] reportaron una menor captura de ovocitos en el grupo de suplementación con LH recombinante. (6.3 vs 7.9. $p=0.001$), además Bosch y colaboradores [12] también reportaron menor captura de ovocitos en el grupo donde se administró LH recombinante. (5.5 vs 6.9 $p=0.001$). En éste mismo estudio, reportaron una tasa de fertilización más alta en las pacientes con LH recombinante (68% vs 61% $p=0.027$). Sin embargo, Humaidan *et al* [13] observaron también una mayor tasa de fertilización no significativa en el grupo con suplementación con LH recombinante (62% vs 48% $p=NS$). Además en esta publicación, reportaron una tasa de implantación más alta en las pacientes con LHR. (36.4% vs 13.3% $p<0.05$). Así también en otro estudio, Bosch y colaboradores [12] obtuvieron mejor tasa de implantación en el grupo de LH recombinante. (26.7% vs 18.6% $p<0.05$).

Marrs y cols. [14] reportaron una mayor tasa de embarazo clínico en pacientes con suplementación con LHR. (45.8% vs 22.5% $p=0.027$). En otra publicación realizada por Matorras *et al* [15] también adquirieron una

mayor tasa de embarazo clínico en las pacientes con LHr, pero no estadísticamente significativo (27% vs 14.7% $p=NS$)

Un estudio realizado en Holanda por Musters *et al*, evaluaron el efecto que tiene la suplementación con LH recombinante en la calidad embrionaria. Realizaron un estudio controlado randomizado, donde incluyeron pacientes pobres respondedoras, y las dividieron en 2 grupos: pacientes que se administró FSHr:LHr en relación 2:1 y otro grupo donde se administró solamente FSHr. Fueron colocados 116 pacientes dentro del grupo de LHr y 128 pacientes dentro del grupo de FSHr sola. La proporción de embriones de excelente calidad fue del 17% para el grupo de LHr y 11% para el grupo control. Siendo estas cifras, no estadísticamente significativas, pero si una tendencia a tener mejores embriones en el grupo con suplementación con LH recombinante. [17]

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La falta de estandarización de los protocolos de estimulación ovárica controlada y la ausencia de una dosis fija estándar de gonadotropinas exógenas es uno de los grandes obstáculos en el avance de los resultados reproductivos durante las técnicas de reproducción asistida. Creemos que la estandarización de la dosis durante los tratamientos de alta complejidad con la utilización de Pergoveris® que permite garantizar cantidad precisa de gonadotropinas administradas permitirá obtener mejores resultados reproductivos durante los ciclos de estimulación ovárica controlada en las técnicas de reproducción asistida.

Por lo que se plantea la siguiente premisa: **¿La estandarización de los protocolos de estimulación ovárica controlada con el uso de una dosis fija de gonadotropinas recombinantes (150 UI de FSH, 75 UI de LH) permitirá obtener mejores resultados reproductivos durante ciclos con antagonista de GnRH durante los tratamientos de reproducción asistida?**

HIPÓTESIS

El uso de FSH recombinante y LH recombinante (Pergoveris®) en relación 2:1 para la estimulación ovárica controlada con protocolo de antagonista, mejora los resultados reproductivos y de laboratorio en las técnicas reproducción asistida de alta complejidad.

OBJETIVO GENERAL

- Evaluar los porcentajes de embarazo y embarazo clínico con la suplementación de LH recombinante a la FSH recombinante (Pergoveris®) en protocolo de antagonista en los ciclos de reproducción asistida de alta complejidad en el Centro de Fertilidad IECH.

Objetivos particulares

- Describir los resultados de la estimulación ovárica obtenidos con la estandarización de la dosis de gonadotropinas durante ciclos de reproducción asistida.
- Determinar si la suplementación de LH recombinante es útil en pacientes menores de 35 años.
- Observar porcentaje de fertilización, división embrionaria, porcentaje de embarazo y porcentaje de embarazo clínico y tasa de implantación.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño del Estudio

Estudio transversal prospectivo y descriptivo

Universo de estudio

Pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión adquirieron la estimulación ovárica controlada con 150 UI de FSH recombinante/75 UI de LH recombinante (Pergoveris®) en ciclos de reproducción asistida de alta complejidad en el Centro de Fertilidad IECH de Monterrey, México en el periodo comprendido de Enero 2013 a Enero 2014.

Metodología

Se incluyeron pacientes que ingresaron al programa de reproducción asistida de alta complejidad en el Centro de Fertilidad IECH de Monterrey en el periodo de Enero 2013 a Enero 2014 que recibieron estimulación ovárica controlada con 150 UI de FSH recombinante/ 75 UI de LH recombinante (Pergoveris®) con protocolo de antagonista.

Estimulación ovárica

Se realizó estimulación ovárica controlada utilizando solamente una ampolla de Pergoveris®, las cuales contienen 150 UI de FSH recombinante y 75 UI de LH recombinante, durante todo el ciclo de manera sostenida, sin aumentar dosis.

Se realizó monitoreo folicular los días 7 y 10 del ciclo para valorar la continuación del procedimiento o su cancelación.

El antagonista (*Cetrotide® 0.25mg/diarios*) se indicó cuando al menos un folículo alcanzará el diámetro de 14 mm. La administración de la gonadotropina coriónica humana (hCG) se realizó al tener al menos 2 folículos ≥ 17 mm, y la aspiración folicular se realizó a las 34-36 horas de la aplicación de la hCG.

Aspiración folicular y transferencia de embriones

La aspiración folicular se realizó por vía transvaginal con guía ultrasonográfica (*Ultrasonido Hitachi EUB-405 plus con transductor vaginal de 5 MHz*). Los óvulos obtenidos fueron contados y denudados en el laboratorio de gametos de reproducción asistida, se clasificaron bajo microscopio de fase invertida. Los óvulos maduros (MII), fueron inyectados

4 horas después de su obtención. Se corroboró fertilización 18 horas después y se vigiló su desarrollo diariamente. La transferencia embrionaria se llevó a cabo 3 ó 5 días después de la inyección. Los embriones fueron clasificados de acuerdo a la valoración morfológica de Veeck y agrupados en embriones de buena calidad (grado 1 y 2) y embriones de calidad regular (grado 3 y 4)

Soporte de fase lútea

El soporte de fase lútea se estableció según el criterio y elección del médico tratante. Solo fueron de dos tipos: a base de óvulos de progesterona de 400 mgs diarios y otros con crema vaginal (*Crinone®*), un dispensador al día.

A los 14 días post-transferencia se determinó la cuantificación sérica de la sub unidad beta de la hormona gonadotropina coriónica humana (*AXIM Systems de Abbott*); se tomó como resultado positivo con niveles mayores de 100 mUI.

Población y Muestra

No probabilística por conveniencia de acuerdo a los criterios de investigación.

Técnica muestral

Casos consecutivos durante los ciclos de reproducción asistida en el Centro de Fertilidad IECH de Monterrey, México.

Calculo de tamaño muestral

Censo. Se registraron todos los casos comprendidos en el periodo de tiempo del estudio que cumplieron con los criterios de investigación.

Grupos de Estudio

Las pacientes incluidas en este estudio que fueron sometidas a estimulación ovárica controlada con LH recombinante y FSH recombinante (Pergoveris®) con protocolo de antagonista en reproducción asistida de alta complejidad. Se realizó un subanálisis donde se muestran las características de acuerdo al resultado reproductivo obtenido embarazo (*grupo 1*) y no embarazo (*grupo 2*)

Criterios de Inclusión

1. Pacientes de 30 a 40 años de edad
2. Parejas con los siguientes diagnósticos de infertilidad primaria o secundaria
 - a. Endocrino-ovárico
 - b. Anovulación
 - c. Masculino
 - d. Inexplicable
 - e. Tubárico
 - f. Endometriosis
3. Pacientes que requieren tratamiento con Reproducción Asistida de Alta Complejidad.
4. Pacientes que cumplan con los requisitos administrativos para Fertilización in Vitro solicitados por el Centro de Fertilidad IECH.

Criterios de Exclusión

1. Pacientes que hayan sido canceladas por durante el ciclo con el uso de Pergoveris®
2. Pacientes que por motivos personales hayan decidido cancelar el procedimiento.
3. Pacientes que por cualquier motivo no haya realizado transferencia embrionaria.
4. Pacientes menores de 30 años y mayores de 40 años.

Instrumentos y Procedimientos

Análisis

Los datos se recolectaron mediante una base de datos realizada por los autores y se extrajeron del expediente clínico del Centro de Fertilidad IECH con datos demográficos, estudios realizados, datos de la estimulación ovárica.

Además se obtuvieron datos de la base de datos del laboratorio del Centro de Fertilidad IECH para tener los resultados embriológicos de las pacientes estimuladas.

Instrumento de recolección

Se utilizó una base de datos generada en el programa Excel de Microsoft Office 2011 para Mac. . Se utilizó el programa SPSS v.20 para Mac, se realizó ANOVA para variables continuas presentándose como medias y desviaciones estándar. X^2 (Chi Cuadrada) para variables categóricas. El valor de P fue considerado como >0.05 como estadísticamente significativo.

Aspectos económicos

El Pergoveris® se comercializa por compañías farmacéuticas (*Merck Serono*), se ofreció a la venta el producto con un costo establecido por el Centro de Fertilidad IECH.

El costo del medicamento se cubrió por los propios pacientes que participaron en el estudio.

No se obtuvo ningún financiamiento y no tenemos ningún conflicto de intereses por parte de la compañía Merck Serono, para la realización del presente trabajo.

RESULTADOS

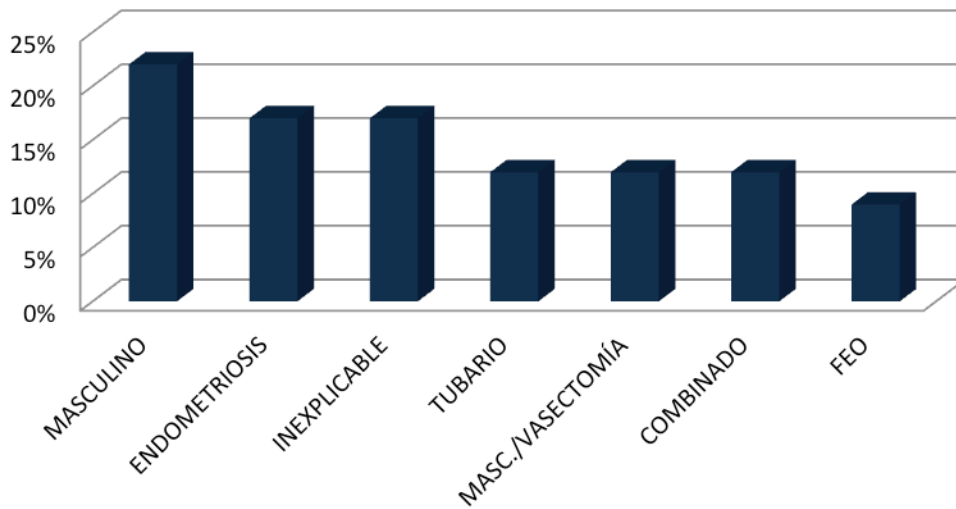
El estudio fue realizado en el periodo comprendido de Enero 2013 a Enero 2014, donde se incluyeron un total de 32 pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión. **Las características demográficas** muestran resultados no estadísticamente significativos, teniendo una edad promedio de las pacientes de 35.1 años de edad. Los niveles hormonales en día 3 del ciclo estuvieron dentro de los rangos de normalidad, sin ninguna diferencia significativa. [TABLA 1]

| DEMOGRAFÍA (n=32) | |
|----------------------|-------------------------|
| EDAD | 35.1 años (± 3.3) |
| IMC | 24.6 (± 2.8) |
| FSH (D+3) | 6.2 (± 2.8) |
| LH (D+3) | 4.5 (± 2.5) |
| Estradiol (D+3) | 42.4 (± 18.3) |
| Prolactina (D+3) | 22.7 (± 23.5) |

[TABLA 1]

Los diagnósticos más frecuentes de las pacientes estudiadas fueron por factor **masculino y endometriosis**.

Diagnóstico



Los **resultados de la estimulación ovárica controlada** fueron los siguiente: la media del inicio de antagonista fue en día 6 del ciclo. El número total de ampollas utilizadas durante la estimulación ovárica controlada fue una media de 7 ampollas. Los folículos que se observaron en día 7 del ciclo fue similar en ambos, siendo 8 folículos; en cambio, en día 10, fue alrededor de 10 folículos. El día de aspiración en promedio fue al cerca del día 11 del ciclo. [TABLA 2]

| | PIE positiva (n=18) | PIE negativa (n=13) | <i>p</i> |
|--------------------------------------|------------------------|------------------------|----------|
| Día de inicio ANTAGONISTA | 6 (±1.6) | 6 (±2.1) | NS |
| Total de amp. PERGOVERIS | 7.2 (±0.9) | 7.8 (±0.9) | NS |
| Folículos (D+7) | 8.1 (±3.5) | 8.2 (±3.1) | NS |
| Estradiol (D+7) | 651 (±422) | 805 (±473) | NS |
| Folículos (D+10) | 10.1 (±4.7) | 10.8 (±5.1) | NS |
| Estradiol (D+10) | 2,083 (±1,080) | 1,915 (±1,113) | NS |
| Grosor LE (D+10) | 9.5 (±1.5) | 9.3 (±1.5) | NS |
| Día Aspiración | 11.3 (±0.8) | 11.6 (±0.9) | NS |

[TABLA 2]

En cuanto a los **resultados de laboratorio** podemos observar que se obtuvieron en promedio 8.4 ovocitos totales en las aspiraciones foliculares.

Con una buena división embrionaria

La **calidad embrionaria** se calificó de la siguiente manera:

- **GRADO 1** → (D+3: g1-2) (D+5: 1AA/1AB)
- **GRADO 2** → (D+3: g2-3) (D+5: 1BB/1BA)
- **GRADO 3** → (D+3: g3-4) (D+5: 1CB/BC/CC)

En los resultados obtenidos, se observó que la calidad embrionaria fue excelente, teniendo en promedio embriones GRADO 1, con la calificación antes mencionada. El promedio de embriones transferidos fue de 1.3.

[TABLA 3]

| | PIE positiva (n=18) | PIE negativa (n=13) | P |
|---------------------------------------|------------------------|------------------------|----|
| Ovocitos totales | 8.4 (±4.2) | 8.3(±4.5) | NS |
| Ovocitos Metafase II | 6.1 (±2.9) | 6.7 (±4.9) | NS |
| Fertilización | 3.8 (±2.2) | 3.6 (±2.6) | NS |
| División (48 horas) | 3.2 (±1.7) | 3.7 (±2.7) | NS |
| División (72 horas) | 3.2 (±1.7) | 3.7 (±2.7) | NS |
| No. Embriones transferidos | 1.44 (±0.5) | 1.23 (±0.4) | NS |
| Calidad embrionaria | 1.4 (±0.7) | 1.7 (±1.01) | NS |

[TABLA 3]

Los **resultados reproductivos** del uso de PERGOVERIS® fue el objetivo principal del estudio. Tomando la **tasa de fertilización** como: el numero total de ovocitos Metafase II entre el número de embriones que fertilizaron. La **tasa de implantación** se calculo: número de sacos gestacionales observados por ultrasonido entre el número de embriones transferidos . La

tasa de embarazo fue calculada como el porcentaje de pruebas de embarazo positiva. La **tasa de embarazo clínico** se calculó como el número de pruebas de embarazo positiva entre el número de pacientes con presencia de saco gestacional visualizado por ultrasonido. Los resultados reproductivos se muestran de manera objetiva en la [TABLA 4]

| PERGOVERIS® | |
|-------------------------------------|--------------|
| Tasa de fertilización | 58.7% |
| Tasa de implantación | 30% |
| Tasa de Embarazo | 58.1% |
| Tasa de embarazo clínico | 45.2% |

[TABLA 4]

DISCUSIÓN

En nuestro estudio se muestran los resultados reproductivos y de laboratorio con la utilización de FSHr:LHr (**Pergoveris®**) en relación 2:1 con protocolo de antagonista durante la estimulación ovárica controlada en fertilización in Vitro. Se obtuvo buena tasa de embarazo total y de embarazo clínico, así como también buena tasa de implantación. A pesar de ser un estudio prospectivo observacional, se necesita de un grupo comparativo para evaluar mejor los resultados del medicamento. Además que se necesita realizar un protocolo de la utilización del **Pergoveris®**, ya que los médicos tratantes no lo tenían como tal, durante la realización del estudio, por la falta de experiencia en el uso del mismo.

En nuestro estudio, Aguayo *et al*, se reportó 8.3 ovocitos recuperados ($p=NS$), cifras muy parecidas que encontró Fabregues *et al* [11] en pacientes con la suplementación de LH (6.3 $p=0.001$), además Bosch *et al* [12] también reportó resultados similares (5.5 $p=0.001$).

En éste mismo estudio, estimaron una tasa de fertilización más alta en las pacientes con LH recombinante (68% $p=0.027$). Humaidan *et al* [13] reportó (62% $p=NS$). Muy parecidos a lo que encontramos en nuestro estudio, con una tasa de fertilización de 58.7% ($p=NS$).

Humaidan y cols [13] reportaron una tasa de implantación más alta en las pacientes con LHR. (36.4% $p<0.05$). Bosch y colaboradores [12] también obtuvieron mejor tasa de implantación. (26.7% vs 18.6% $p<0.05$). Los posibles mecanismos que mejoraron la implantación y el embarazo clínico pudieran ser el aumento en la capacidad de los ovocitos (mejor calidad ovocitaria) o una mejora en la receptividad endometrial. Los ciclos con suplementación con LH recombinante han mostrado niveles más bajos de apoptosis de las células del cúmulus que los ciclos de FSHr sola. [16] La suplementación de LHR puede beneficiar al endometrio, disminuyendo el riesgo de un pico prematuro de progesterona, y así incrementar la implantación y el embarazo clínico.

De nuevo, en el metanálisis realizado por Bosch *et al* en el 2007, observaron que no había una mejoría significativa para aquellas pacientes <35 años que fueron suplementados con LHR durante la estimulación ovárica controlada.

En nuestro presente estudio, como en el de Paterson *et al* [8], se observó una tendencia a la mejora en ambos subgrupos de pacientes, tanto en las >35 años, como en las <35 años. En la publicación de Paterson *et al* observaron que, cuando utilizaron FSHr + LHR contra FSHr sola en pacientes menores de 35 años de edad, la tasa de embarazo clínico fue de 65% contra 58% respectivamente. De manera similar, cuando utilizaron FSHr + LHR

contra FSHr sola en pacientes mayores de 35 años de edad, la tasa de embarazo clínico fue de 49% contra 42%.

Por último, en comparación con el trabajo realizado por Ruiz Balda *et al* [9], los resultados obtenidos fueron bastante similares, a pesar que la dosis utilizada por Ruiz Balda fueron de dos ampolletas diarias y en nuestro estudio solamente una. En la tabla 5 se muestra los resultados comparativos de ambos trabajos.

| | Ruiz Balda <i>et al</i> (Madrid, España) | Aguayo <i>et al</i> (Monterrey, México) |
|--|--|---|
| # Pacientes | 419 | 32 |
| Total de dosis FSHr:LHr (150UI:75UI) ampolletas | 18.3 (±6.4) | 7.5 (±0.9) |
| Total de folículos | 9.4 (±4.5) | 10.4 (±4.9) |
| Ovocitos recuperados | 7.3 (±4.6) | 8.4 (±4.3) |
| MII recuperados | 5.5 (±4.1) | 6.4 (±3.9) |
| Embriones transferidos | 2.0 (±0.8) | 1.3 (±0.5) |
| Tasa de embarazo clínico | 33.2% | 45.2% |

[TABLA 5]

CONCLUSIÓN

Con los resultados que se obtuvieron con la utilización de FSH recombinante/ LH recombinante (**Pergoveris®**) en la estimulación ovárica con protocolo de antagonista podemos considerar que la utilización del medicamento otorga una buena tasa de embarazo total y de embarazo clínico, así como también en la tasa de implantación.

Aunque con el medicamento no se obtiene una gran cantidad de folículos, ni de ovocitos recuperados, los ovocitos que se obtienen son de muy buena calidad, ya producen una buena calidad de embriones GRADO 1, que se adquieren con el uso del **Pergoveris®**.

Con este estudio tenemos las bases de los resultados que se obtienen con la combinación de FSHr y LHr en relación 2:1, por lo que estudios posteriores se harán comparando éste medicamento con otros grupos con FSHr sola o en combinación con Menotropinas.

Además se tienen que estandarizar un protocolo para la utilización del **Pergoveris®**. Con los resultados obtenidos en el presente estudio, proponemos utilizar una sola ampolleta diaria durante toda la estimulación ovárica controlada; iniciar la aplicación del antagonista fijo en día 6 del ciclo. Por último, utilizar la administración de gonadotropina coriónica humana de manera recombinante y como soporte de fase lútea utilizar progesterona en gel.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Speroff L. Frits M. ***“Clinical Gynecology, Endocrinology and Infertility”***. 7th Edition. 2005. Lippincott Williams & Wilkins
- [2] Mochtar M, Van Der Veen. ***“Recombinant Luteinizing hormone(rLH) for controlled ovarian hyperstimulation in assisted reproductive cycles”***. Cochrane Database of Systematic Reviews 2007, Issue 2.
- [3] Berek And Novaks Gynecology, 14th edition
- [4] Kumar and Sait ***“LH in ovulation induction”*** Journal of Human Reproductive Science Volumen 4 Issue 1 Jan 2011.
- [5] Tarlatzis B. ***“The use of recombinant human LH (lutropin alfa) in the late stimulation phase of assisted reproduction cycles: a double blind, randomized, prospective study”***. Hum Reprod 2006;21:90-4
- [6] Balasch J. ***“The effect of exogenous luteinizing hormone (LH) on oocyte viability: evidence from a comparative study using recombinant follicle stimulin hormone (FSH) alone or in combination with the recombinant LH for ovarian stimulation in pituitary-supressed women undergoing assited reproduction.”*** J Assit Reprod Genet 2001
- [7] Bosch E. ***“Impact of luteinizing hormone administration on gonadotropin.realising hormone antagonist cycles: an age adjusted analysis”*** Fertil Steril 2011; 95(3): 1031-6
- [8] Paterson, Nicole. ***“Improved pregnancy rates with luteinizing hormone supplementation in patients undergoing ovarian stimulation for IVF”*** J Assit Reprod Genet (2012) 29: 579-583.

- [9] Ruiz Balda, JA. ***“Clinical experience with Pergoveris, a new formulation of rFSH y rLH in a 2:1 ratio, for the treatment of suboptimal patient populations: Spanish preliminary results.”*** Fertil Steril Vol. 92, No. 3 September 2009.
- [10] Micah J Hill. ***“The use of recombinant luteinizing hormone in patients undergoing assisted reproductive techniques with advanced reproductive age: a systematic review and meta-analysis”.*** Fertil Steril Vol 97. No. 5. May 2012.
- [11] Fabregues F. ***“Effects of recombinant human luteinizing hormone supplementation on ovarian stimulation and the implantation rate in down-regulated women on advanced reproductive age”*** Fertil Steril 2006. 85:925-31
- [12] Bosch E. ***“A impact of luteinizing hormone administration on gonadotropin-releasing hormone antagonist cycles”.*** Fertil Steril 2011;95:1031-6
- [13] Humaidan P. ***“ Effects of recombinant LH supplementation in women undergoing assisted reproduction with GnRH agonist down regulation and stimulation with FSHr: an opening study”*** Reprod Biomed Online 2004;8:635-43.
- [14] Marrs R. ***“ Randomized trial to compare the effect of recombinan human FSH with or without recombinant LH in women undergoing assisted reproduction treatment”*** Reprod Biomed Online2004;8:175-82.
- [15] Matorras R. ***“Mid follicular LH supplementation in women 35-39 years undergoing ICSI cycles: a randomized controlled study”*** Reprod Biomed Online 2009. 19:879-87.
- [16] Ruvolo G. ***“Lower apoptosis rate in human cumulus cells after administration of recombinant luteinizing hormone to women undergoing ovarian stimulation for in vitro fertilization procedures”*** Fertil Steril 2007;87:542-6.
- [17] Musters AM. ***“The effect of recombinant LH on embryo quality: a randomized controlled trial in women with pooor ovarian reserve”.*** Human Reproduction.2012. Vol 27 No.1 pp 224-250