



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MÉXICO

**FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

Resultados en mínima estimulación ovárica con el uso de letrozol y FSHr vs protocolo convencional en ciclos de fertilización *in vitro* en pacientes con pobre respuesta ovárica de acuerdo a criterios de Bologna

NO. REGISTRO INSTITUCIONAL 209.2017

TESIS

Que para obtener el título de
Médico Especialista en Biología de la Reproducción Humana

P R E S E N T A

Dra. María Isabel Gutiérrez García

DIRECTOR DE TESIS

Dra. Zoé Gloria Sondón García

Facultad de Medicina

Ciudad Universitaria, Cd. Méx, 2017





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.

AUTORIZACIONES

Dra. Aura Argentina Erazo Valle Solís
Subdirector de enseñanza e investigación

Dr. José Modesto Alfredo Góngora Rodríguez
Profesor titular del curso universitario de posgrado de
Biología de la Reproducción Humana

Encargada del Servicio de Reproducción
Humana y Asesor de Tesis

Dra. María Isabel Gutiérrez García
Médico Residente

AGRADECIMIENTOS

Le agradezco a Dios por haberme acompañado y haberme permitido vivir hasta este día, haberme guiado a lo largo de mi vida, por ser fortaleza, mi apoyo, mi luz y mi camino en los momentos de debilidad y brindarme una vida llena de aprendizajes, experiencias y sobre todo felicidad.

Le doy gracias a mis padres Isabel y Carlos quienes me han heredado el tesoro más valioso que puede dársele a una hija, amor. Gracias por apoyarme en todo momento, por los valores con los cuales me han formado y por la oportunidad que me dieron de tener una excelente educación, son un ejemplo a seguir.

A mis hermanas quienes me han inundado en la alegría de compartir todos nuestros sentimientos, proyectos viendo los grandes logros y tropiezos de una forma amena, gracias por apoyarme en todo momento en las decisiones tomadas y brindarme su mano cuando la necesité, por ser un ejemplo de disciplina, persistencia y estudio.

A Arturo, gracias a tu motivación hoy he alcanzado un triunfo más, por apoyar mis decisiones e impulsarme a ser mejor cada día, por ser ejemplo de un gran ser humano, profesionista, por amarme incondicionalmente.

Les agradezco a mis excelentes maestros del Centro Médico Nacional “20 Noviembre” quienes con su conocimiento invaluable, esfuerzo, paciencia, apoyo y dedicación lograron que pudiera culminar esta subespecialidad, sobre todo al Dr. Jesús Daniel Moreno García por tenerme la paciencia necesaria, trasmitirme sus conocimientos, y sembrar dudas que me llevan al continuo aprendizaje, por su rectitud en su profesión como docente, sus consejos que ayudan a formarte como persona y Biólogo de la Reproducción.

A mis amigos y compañeros de Residencia por ser parte significativa de mi vida y por haber hecho el papel de una familia verdadera en todo momento, gracias por su apoyo, comprensión y sobre todo amistad.

A la Universidad Nacional Autónoma de México por abrirme sus puertas para poder enriquecerme y así completar un peldaño más en mi preparación como Biólogo de la Reproducción. Por ofrecerme sus bellas instalaciones y todos los recursos para poder prepararme.

Dra. María Isabel Gutiérrez García

INDICE	Número de página
RESUMEN	5
ABSTRACT	7
ABREVIATURAS	9
MARCO TEORICO	10
Introducción	10
Antecedentes	10
Objetivo general y específicos	12
MATERIAL Y METODOS	13
RESULTADOS	15
DISCUSIÓN	17
CONCLUSIÓN	18
BIBLIOGRAFÍA	19

Resultados en mínima estimulación ovárica con el uso de letrozol y FSHr vs protocolo convencional en ciclos de fertilización *in vitro* en pacientes con pobre respuesta ovárica de acuerdo a criterios de Bologna

RESUMEN

Introducción. La pobre respuesta ovárica (POR, por sus siglas en inglés) representa un desafío significativo en las Técnicas de Reproducción Asistida (TRA) ⁽⁵⁾. Todavía no existe un consenso sobre el protocolo óptimo de estimulación ovárica controlada (EOC) en estos pacientes. El aumento de la cantidad de gonadotropinas y la duración de la estimulación con una posible tasa de cancelación alta siempre han sido un problema en este tipo de pacientes ⁽⁸⁾. Recientemente, la mínima estimulación ovárica con la administración de menos días de gonadotropinas exógenas y/o ciclos con antagonista de la GnRH así como compuestos orales (anti-estrógenos o inhibidores de la aromatasas) para la estimulación ovárica en Fertilización *in vitro* con Transferencia Embrionaria (FIV-TE) se han propuesto como una alternativa adecuada a la estimulación convencional en FIV-TE ⁽¹⁹⁾. Las pacientes con POR reciben cantidades elevadas de hormona folículo estimulante (FSH, por sus siglas en inglés) para aumentar la respuesta folicular. Lamentablemente, la administración gonadotropinas en cantidades cada vez mayores en esta categoría de mujeres no aumenta la respuesta folicular ni la calidad ovocitaria; consumiendo cantidades excesivas de gonadotropinas costosas con ciclos de estimulación ovárica que a menudo culminan en altos costos, mala respuesta y cancelación ⁽²¹⁾. La mínima estimulación para FIV-TE ofrece un mayor grado de calidad embrionaria, así como un mayor número de ovocitos capturados en metafase II, con el uso de una menor dosis de gonadotropinas por ovocito y embrión obtenido ⁽²⁷⁾.

Objetivo. Describir cuál esquema de estimulación ovárica cuenta con la mayor tasa de embarazo en pacientes con pobre respuesta ovárica sometidas a ciclos de fertilización *in vitro* del servicio de Reproducción Humana del Centro Médico Nacional “20 de Noviembre”, en el periodo de Enero del 2011 a Diciembre del 2015.

Material y métodos. Se realizó un estudio observacional, transversal, retrospectivo y descriptivo, en un grupo de pacientes sometidas a ciclos de fertilización *in vitro* del servicio de Reproducción Humana del Centro Médico Nacional “20 de Noviembre”. Incluyendo a todas las pacientes atendidas en el periodo comprendido de Enero 2011 a Diciembre 2015 que fueron clasificadas como pobre respuesta ovárica de acuerdo a los criterios de Bologna del consenso de la Sociedad Europea de Reproducción Humana y Embriología (ESHRE, por sus siglas en inglés) y que recibieron estimulación ovárica mínima con inhibidor de la aromatasas y antagonista o ciclo convencional con antagonista. La información se capturo en una base de datos en un sistema computarizado a través del programa Excel para estadística descriptiva con frecuencias, porcentajes. Para el análisis estadístico se utilizó el programa estadístico SPSS versión 19 para Windows. Utilizando análisis de Chi-cuadrada. Una $p < 0.05$ fue considerada estadísticamente significativa.

Resultados. Solamente 108 ciclos de estimulación ovárica cumplieron los criterios de inclusión, de estos un 76.85% corresponde a protocolo de estimulación convencional con antagonista y un 23.14% a protocolo de mínima estimulación ovárica. El promedio de ovocitos capturados fue de 2 para el protocolo convencional y 1 para el de mínima estimulación, con límites de 0-10 y 0-3 respectivamente. En lo que respecta a madurez ovocitaria, el número de ovocitos en metafase II para el grupo de protocolo convencional fue de 74 de un total de 166 ovocitos capturados (44.57%) contra 24 ovocitos en metafase II de un total de 34 ovocitos (70.58 %). El total de gonadotropinas administradas fue estadísticamente significativo con una mayor dosis en el grupo de estimulación ovárica convencional con 2566.26 UI contra 1383 UI para el grupo de mínima estimulación ($p=0.000$). La tasa de embarazo por ciclo fue de 8.4% para el grupo de estimulación convencional contra 12% para el grupo de mínima estimulación, la tasa de embarazo por transferencia fue de 17.94% para el grupo de estimulación convencional contra 21.42 para el grupo de mínima estimulación. Todos estos resultados con una $p>0.05$, sin mostrar diferencias estadísticamente significativas.

Discusión. Dados los resultados obtenidos en este estudio, podemos observar que las pacientes con pobre respuesta de acuerdo con los criterios de Bolonia, la mínima estimulación ofrece un número mayor de embriones de buena calidad (Grado 1) 44% contra el esquema de estimulación convencional 30.12%, así como una mayor cantidad de ovocitos metafase II con un 70.58% para la mínima estimulación contra 44.57% para la estimulación convencional. Los protocolos convencionales mostraron un aumento en la dosis de gonadotropinas traducido en un mayor costo por tratamiento comparado con los ciclos de mínima estimulación sin mostrar diferencias estadísticamente significativas en los resultados en el número de ovocitos en metafase II, calidad embrionaria.

Conclusión. El uso de protocolos de mínima estimulación con letrozol, disminuye las dosis totales de gonadotropinas, disminuyendo costos, y aparentemente mejorando la receptividad endometrial y la calidad embrionaria. Se requiere de un ensayo clínico controlado, con mayor cantidad de pacientes así como criterios estrictos de inclusión, exclusión y eliminación para poder obtener una mejor conclusión en cuanto a la eficacia de dichos protocolos en pacientes con baja respuesta.

Palabras clave: Pobre respuesta ovárica, letrozol, mínima estimulación ovárica, estimulación convencional

ABSTRACT

Results in minimal ovarian stimulation with the use of letrozole and FSHr vs conventional stimulation in *in vitro* fertilization cycle protocol in patients with poor ovarian response according to Bologna criteria

SUMMARY

Introduction. The poor ovarian response (POR) represents a significant challenge in Assisted Reproduction Techniques (ART) ⁽⁵⁾. There is still no consensus on the optimal protocol for controlled ovarian stimulation (EOC). The increase on the amount of gonadotropins and the duration of the stimulation with a possible high cancellation rate have always been a problem in this type of patients ⁽⁸⁾. Recently, the minimal ovarian stimulation with the administration of fewer days of exogenous gonadotropins and / or GnRH antagonist cycles as well as oral antiestrogens or aromatase inhibitors, for ovarian stimulation in *in vitro* Fertilization with Embryonic Transfer (FIV-TE) have been proposed as an adequate alternative to conventional stimulation in FIV-TE ⁽¹⁹⁾. Patients with POR receive high amounts of follicle stimulating hormone (FSH) to increase follicular response. Unfortunately the administration of gonadotropins in increasing amounts on this category of women does not increase follicular response or oocyte quality; consuming excessive amounts of expensive gonadotrophins with cycles of ovarian stimulation that often culminate in high costs, poor response and cancellation ⁽²¹⁾. The minimal stimulation for FIV-TE offers a higher degree of embryonic quality, as well as a greater number of oocytes captured in metaphase II, with the use of a lower dose of gonadotropins per oocyte and embryo obtained ⁽²⁷⁾.

Objectives. To describe which ovarian stimulation scheme has the highest pregnancy rate in patients with poor ovarian response submitted to cycles of *in vitro* fertilization of the Human Reproduction service of the National Medical Center "20 de Noviembre", from January 2011 to December 2015.

Material and methods. An observational, transverse, retrospective and descriptive study was performed in a group of patients submitted to cycles of *in vitro* fertilization of the Human Reproduction service of the National Medical Center "20 de Noviembre". Includes all patients treated in the period from January 2011 to December 2015 who were classified as poor ovarian response according to Bologna criteria of the consensus of the European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE) And who received minimal ovarian stimulation with aromatase inhibitor and antagonist or conventional cycle with antagonist. The information was captured in a database in a computerized system through an Excel program for descriptive statistics with frequencies, percentages. Statistical analysis was performed using the statistical software SPSS version 19 for Windows. Using Chi-square analysis. A $p < 0.05$ was considered statistically significant.

Results. Only 108 cycles of ovarian stimulation met the inclusion criteria, 76.85% corresponded to the conventional protocol of stimulation with an antagonist and 23.14% to the protocol of minimal ovarian stimulation. The mean number of oocytes

captured was 2 for the conventional protocol and 1 for the minimal stimulation. Regarding oocyte maturation, the number of oocytes in metaphase II for the conventional protocol group was 74 out of 166 captured oocytes (44.57%) against 24 metaphase II oocytes out of a total of 34 oocytes (70.58%). The total number of gonadotropins administered was statistically significant with a higher dose in the conventional ovarian stimulation group with 2566.26 IU versus 1383 IU for the minimal stimulation group ($p = 0.000$). The pregnancy rate per cycle was 8.4% for the conventional stimulation group versus 12% for the minimal stimulation group; the transfer pregnancy rate was 17.94% for the conventional stimulation group versus 21.42% for the minimal stimulation group. All these results with a $p > 0.05$, did not show statistically significant differences.

Discussion. Observing the result obtained in this study, we can observe that the patients with poor response according to the criteria of Bologna; minimum stimulation offers a higher number of good quality embryos (Grade 1) 44% against the conventional stimulation scheme 30.12%. As well as a higher number of metaphase II oocytes with 70.58% for minimal stimulation versus 44.57% for conventional stimulation. The conventional protocols showed an increase in the dose of gonadotropins translated in a higher cost per treatment compared to the cycles of minimum stimulation without showing statistically significant differences in the number of oocytes in metaphase II, embryonic quality. This is the first comparison study performed in our hospital that compares both protocols in patients with poor response according to the Bologna criteria.

Conclusion. The use of protocols of minimal stimulation with letrozole decreases gonadotrophins total doses, decreasing cost, and apparently improving endometrial receptivity and embryonic quality. Controlled clinical trial with more patients as well as strict inclusion, exclusion and elimination criteria is required in order to obtain a better conclusion regarding the efficacy of these protocols in patients with low response.

Key words Poor ovarian response, letrozol, minimal ovarian stimulation, conventional stimulation.

ABREVIATURAS

- FIV-TE Fertilización *in vitro* con Transferencia de Embriones
- hCG Gonadotropina coriónica humana (hCG por sus siglas en inglés)
- TRA Técnicas de Reproducción Asistida
- EOC Estimulación Ovárica Controlada
- UI Unidades Internacionales
- FSH Hormona folículo estimulante FSH por sus siglas en inglés
- FSHr Hormona folículo estimulante recombinante FSHr por sus siglas en inglés
- GnRH Hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH por sus siglas en inglés)
- POR Pobre respuesta ovárica por sus siglas en inglés
- TRA Técnicas de Reproducción Asistida
- FDA Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA por sus siglas en inglés)
- ESHRE Sociedad Europea de Reproducción Humana y Embriología (ESHRE por sus siglas en inglés)
- ISSSTE Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los Trabajadores del Estado
- pg/ml picogramos/mililitro
- ng/ml nanogramos/mililitro

MARCO TEORICO

INTRODUCCION

Desde la concepción de la Fertilización *in vitro* con Transferencia de Embriones (FIV-TE), se ha hecho evidente que una proporción de mujeres responden de forma subóptima a la estimulación ovárica controlada (EOC) con gonadotropinas exógenas. Esas mujeres, llamadas como pobre respuesta ovárica (POR por sus siglas en inglés), pueden sufrir persistentemente tasas de éxito bajas con la FIV-TE. A pesar de ser un tema popular para la investigación, la POR sigue siendo un enigma sin resolver, ninguna intervención ha sido ampliamente aceptada como beneficiosa. La EOC representa la piedra angular del tratamiento de la infertilidad debido a que induce el desarrollo de varios folículos y la maduración de múltiples ovocitos para aumentar la probabilidad de embarazo ⁽¹⁾. A pesar de los progresos notablemente realizados, y los numerosos agentes terapéuticos desarrollados para la estimulación ovárica durante las últimas décadas ⁽²⁾, algunos de los pacientes no obtienen los beneficios relacionados con las Técnicas de Reproducción Asistida (TRA), simplemente porque no responden al tratamiento. Los primeros informes sugieren que la incidencia de paciente con POR sometidas a estimulación ovárica va del 9% al 24% ⁽³⁾. A pesar de que se han adoptado diversas modalidades de tratamiento para que la respuesta ovárica incremente con el tratamiento de fertilidad ⁽⁴⁾, por el momento, ningún agente ha demostrado ser eficaz. Se podría especular que el efecto de los medicamentos en pacientes con POR es despreciable. Sin embargo en la actualidad, la cuestión crucial antes de tratar a estos pacientes es: ¿Sabemos quiénes son las pacientes pobres respondedoras?

El presente estudio pretende conocer los resultados en mínima estimulación ovárica con el uso de letrozol y FSHr (hormona folículo estimulante, FSH por sus siglas en inglés) vs protocolo convencional en ciclos de fertilización *in vitro* en pacientes con pobre respuesta ovárica de acuerdo a criterios de Bologna en el Centro Médico Nacional "20 de Noviembre" ISSSTE.

ANTECEDENTES

La POR representa un desafío significativo en la TRA. Actualmente no existe una definición uniforme de "pobre respuesta" ⁽⁵⁾. Varios autores utilizan diferentes definiciones, que van a partir del número de ovocitos recuperados (de 2 a 5), el nivel de estradiol máximo (desde 100 hasta 660 pg/ml) el día de la maduración final ovocitaria con hormona gonadotrofina coriónica humana (hCG, por sus siglas en inglés) la cantidad total de hormona folículo estimulante (FSH, por sus siglas en inglés) administrada durante la ovulación y/o la interrupción del ciclo debido a una

respuesta mala a la EOC cuando la dosis inicial de gonadotropinas para la inducción de ovulación fue de al menos 300 UI/día ⁽⁶⁾.

Debido a que existen múltiples definiciones para bajas respondedoras, utilizaremos los criterios estrictos de Bologna del consenso de la Sociedad Europea de Reproducción Humana y Embriología (**ESHRE**, por sus siglas en inglés), donde al menos 2 de los siguientes 3 apartados deben estar presentes: 2 episodios de POR después de estimulación máxima son suficientes para definir a la paciente como pobre respondedora en ausencia de edad materna avanzada o pruebas de reserva ovárica normal.

1. Edad materna avanzada ≥ 40 años; o algún otro factor de riesgo para pobre respondedora
2. Pobre reserva ovárica previa con ≤ 3 ovocitos capturados con un protocolo de estimulación convencional.
3. Un test de reserva ovárica anormal (ejemplo conteo folicular antral $< 5-7$ folículos o una hormona antimülleriana de $< 0.5-1.1$ ng/ml).

Por definición el termino POR se refiere a la respuesta ovárica, considerando esencial para el diagnóstico de POR. Sin embargo las pacientes mayores de 40 años con una prueba de reserva ovárica anormal puede clasificarse como pobre respondedora ya que tanto la edad avanzada como una prueba de reserva ovárica anormal pueden indicar una reserva reducida y actuar como un sustituto del ciclo de estimulación ovárica. En este caso las pacientes se definirían como pacientes con POR esperada. Este grupo de mujeres tiene el pronóstico más pobre para resultados de estimulación ovárica controlada y de embarazo en FIV-TE ⁽⁷⁾.

Todavía no existe un consenso sobre el protocolo óptimo de EOC en estos pacientes. El aumento de la cantidad de gonadotropinas y la duración de la estimulación con una posible tasa de cancelación alta siempre han sido un problema en este tipo de pacientes. Un número de ensayos controlados aleatorizados han comparado diferentes protocolos de estimulación ovárica; sin embargo, ninguno hasta ahora ha demostrado ser superior ⁽⁸⁾, tales como la adición de la hormona del crecimiento ⁽⁹⁾ o la hormona liberadora de la hormona de crecimiento ⁽¹⁰⁾, la testosterona transdérmica ⁽¹¹⁾, inhibidor de la aromatasa ⁽¹²⁾, dosis altas de FSH ⁽¹³⁾ agonista de GnRH (hormona liberadora de gonadotropinas GnRH por sus siglas en inglés) ⁽¹⁴⁾, antagonista de la GnRH ^(8,15), FSH recombinante frente a FSH ⁽¹⁶⁾, y el protocolo de agonista de GnRH ⁽¹⁷⁾. Ninguno de los tratamientos podría aumentar la tasa de embarazo en pacientes con POR ⁽¹⁸⁾.

Recientemente, la mínima estimulación ovárica con la administración de menos días de gonadotropinas exógenas y/o ciclos con antagonista de la GnRH así como

compuestos orales (anti-estrógenos o inhibidores de la aromatasas) para la estimulación ovárica en FIV-TE se han propuesto como una alternativa adecuada a la estimulación convencional en FIV-TE ⁽¹⁹⁾. El protocolo corto también llamado “flare up” es actualmente uno de los protocolos más comunes de EOC utilizado en pacientes con POR, que mostraron mayores resultados clínicos así como una mayor respuesta ovárica ⁽²⁰⁾.

Las paciente con POR reciben cantidades elevadas de FSH para obtener una mayor respuesta folicular. Lamentablemente, la administración de gonadotropinas en cantidades cada vez mayores en esta categoría de mujeres no aumenta la respuesta folicular ni la calidad ovocitaria, consumiendo cantidades excesivas de gonadotropinas costosas, con ciclos que a menudo culminan en altos costos, mala respuesta y cancelación ⁽²¹⁾.

Los esquemas de mínima estimulación para FIV-TE generalmente se refieren a protocolos de estimulación que producen entre dos y siete ovocitos. Se han descrito diversos esquemas de mínima estimulación para FIV-TE que incluyen la administración secuencial de citrato de clomifeno o letrozol, seguida por dosis bajas de gonadotropinas, con o sin antagonista GnRH. Estos protocolos ofrecen importantes ventajas de costo, tolerabilidad y disminución del riesgo de complicaciones serias para todas las pacientes, pero específicamente para bajas respondedoras. En la actualidad existe una tendencia hacia el uso de estos esquemas ⁽²²⁾. El letrozol un inhibidor de la aromatasas se ha centrado como un eficaz inductor de la ovulación en el tratamiento de la infertilidad ⁽²³⁾. Fue aprobado por la FDA (Administración de Alimentos y Medicamentos FDA por sus siglas en inglés) para el tratamiento de mujeres posmenopáusicas con cáncer de mama; el medicamento es altamente selectivo no esteroideo, puede inducir la ovulación con éxito en mujeres con síndrome de ovario poliquístico ⁽²⁴⁾, incrementa la ovulación en mujeres con infertilidad inexplicable ⁽²⁵⁾, y permite una mayor respuesta del ovario a la FSH recombinante en la paciente con POR ⁽²⁶⁾.

En pacientes con pobre respuesta ovárica, de acuerdo a los criterios de Bologna, la mínima estimulación para FIV-TE ofrece un mayor grado de calidad embrionaria, así como un mayor número de ovocitos capturados en metafase II, con el uso de una menor dosis de gonadotropinas por ovocito y embrión obtenido ⁽²⁷⁾.

OBJETIVO GENERAL

Describir cuál esquema de estimulación ovárica cuenta con la mayor tasa de embarazo en pacientes con pobre respuesta ovárica sometidas a ciclos de fertilización *in vitro* del servicio de Reproducción Humana del Centro Médico Nacional “20 de Noviembre”, en el periodo de Enero del 2011 a Diciembre del 2015.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Conocer la relación de la recuperación de ovocitos en metafase II y Fertilización *in vitro* en el protocolo de mínima estimulación ovárica con letrozol y FSH recombinante.
- Conocer la relación de la recuperación de ovocitos en metafase II y Fertilización *in vitro* en el protocolo de estimulación ovárica convencional.
- Obtener la información acerca de la calidad embrionaria en el protocolo de mínima estimulación ovárica con letrozol y FSH recombinante.
- Obtener la información acerca de la calidad embrionaria en el protocolo convencional.
- Conocer la tasa embarazos obtenidos por FIV-TE en el protocolo de mínima estimulación ovárica con letrozol y FSH recombinante.
- Conocer la tasa embarazos obtenidos por FIV-TE en el protocolo convencional.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un estudio observacional, transversal, retrospectivo y descriptivo, en un grupo de pacientes sometidas a ciclos de Fertilización *in vitro* del servicio de Reproducción Humana del Centro Médico Nacional “20 de Noviembre”. Realizamos muestreo por conveniencia, incluyendo a todas las pacientes atendidas en el periodo comprendido de Enero 2011 a Diciembre 2015 que fueron clasificadas como pobre respuesta ovárica de acuerdo a los criterios de Bologna del consenso de la Sociedad Europea de Reproducción Humana y Embriología (ESHRE, por sus siglas en inglés) donde establece que al menos dos de los siguientes tres apartados deben estar presentes:

1. Edad materna avanzada ≥ 40 años; o algún otro factor de riesgo para pobre respondedora
2. Pobre reserva ovárica previa con ≤ 3 ovocitos capturados con un protocolo de estimulación convencional.
3. Un test de reserva ovárica anormal (ejemplo conteo folicular antral $< 5-7$ folículos o una hormona antimülleriana de $< 0.5-1.1$ ng/ml).

Fueron incluidos las pacientes que eran clasificadas como pobre respuesta ovárica y recibieron estimulación ovárica mínima con inhibidor de la aromatasa y antagonista o ciclo convencional con antagonista, estas estimulaciones se realizaron de la siguiente manera:

1. Mínima estimulación iniciando con 5mg de letrozol en el día tres del ciclo por 5 días y posteriormente en día 5 ó 8 del ciclo se aplicó FSHr a una dosis de 150 UI/d en todos los casos y LHr 75 UI/día en algunos casos, agregando antagonista de GnRH 0.25mg/día.

2. Ciclo convencional en el cual se inicia hormona folículo estimulante en el día tres del ciclo a una dosis de 225-300 UI/día, agregando antagonista de GnRH 0.25mg/día.

Utilizando agonista de GnRH para evitar el pico prematuro de LH, se inició cuando el folículo mayor alcanzó un diámetro de 14mm, se aplica dosis de 0.25mg/día vía subcutánea en este caso Cetorelix o en algunos casos se utilizó indometacina a dosis de 150mg al día ambos continuando hasta el día del disparo. La dosis de gonadotropinas se mantenía durante la administración del antagonista.

Al obtener al menos un folículo de 18mm se realizó el disparo a base de hCGr, a dosis de 500mcg vía subcutánea dosis única o leuprorelina 2mg vía subcutánea, como parte final de la maduración ovocitaria, y se tomó perfil hormona sérico el cual incluyó: hormona luteinizante en UI, estradiol en pg/L y progesterona en ng/L.

A las 36 horas posteriores al disparo se realizó la captura folicular guiada por ultrasonografía transvaginal, definiendo como número total de ovocitos capturados a la cantidad total de ovocitos obtenidos posterior a la aspiración folicular, valorando el estado de maduración de los ovocitos se clasificó de la siguiente manera:

- Ovocito metafase II: Denominado al ovocito maduro, o preovulatorio, bajo el microscopio el ovocito se caracteriza por una forma redonda, uniforme y muestra un ooplasma de un color claro y granularidad homogénea, presencia de primer cuerpo polar, no vesícula germinal.
- Ovocito metafase I: Denominado al ovocito cerca de la maduración, ha completado la profase de la meiosis I, bajo el microscopio, se caracteriza por la ausencia tanto de la vesícula germinal como del primer cuerpo polar. Un ovocito tardío de MI es redondo, con un ooplasma homogéneo granular y de color claro. Los ovocitos tempranos MI pueden mostrar granularidad central menor. No contienen cuerpo polar, ni vesícula germinal.
- Ovocito profase I: Se denomina inmaduro o no madurado. Posee una cantidad tetraploide de ADN debido a la presencia de 46 cromosomas de doble hebra. Caracterizada por presencia de vesícula germinal y nucléolo refráctil, forma irregular, centro oscurecido y ooplasma granular.

Posteriormente se obtuvo la muestra seminal y se capacito según el manual de la OMS 2010. Los ovocitos fueron inseminados con espermatozoides móviles o Inyección Intracitoplasmática de Espermatozoides. La transferencia embrionaria se llevó a cabo en día 2,3 y 5 de desarrollo embrionario. La calidad embrionaria se evaluó con la clasificación de Lucinda Veeck de 1999, la cual consiste en la valoración morfológica del número celular, grado de fragmentación de las células embrionarias fertilizadas dependiendo del desarrollo celular. El número de blastómeros representa el estado de división del embrión, clasificando a los embriones como sigue:

- Grado 1 - embrión con blastómeros de igual tamaño, sin fragmentos citoplasmáticos.

- Grado 2 - embrión con blastómeros de igual tamaño, fragmentación citoplasmática de la superficie de un 10-20%.
- Grado 3 - embrión con blastómeros de distinto tamaño, con un 20-30% de fragmentación citoplasmática.
- Grado 4 - embrión con blastómeros de tamaño igual o desigual, con fragmentación citoplasmática del 30-40%.
- Grado 5 - embrión con pocos blastómeros de cualquier tamaño, fragmentación severa >50%.

En todas las pacientes se realizó soporte de fase lútea con la administración intravaginal de 800 microgramos de progesterona y 50 mg de progesterona intramuscular empezando en el día de la captura ovocitaria hasta la semana 12 de gestación o hasta la confirmación de ausencia de gestación.

A los 7 días posteriores a la transferencia se tomó control hormonal para valorar el adecuado soporte de fase lútea, tomando en cuenta niveles de hormona luteinizante en UI, progesterona en ng/dL y estradiol. A los 14 días postcaptura se realizó la toma de hCG fracción beta, considerándose como positiva a los valores mayores de 10 UI/L. Se calculó la tasa de embarazo como el número de fracción beta de hCG positiva entre el número de ciclos con transferencia embrionaria.

La información se capturo en una base de datos en un sistema computarizado a través del programa Excel versión Windows, para estadística descriptiva con frecuencias, porcentajes. Para el análisis estadístico se utilizó el programa estadístico SPSS versión 19 para Windows. Se utilizó análisis de Chi-cuadrada, considerando una $p < 0.05$ estadísticamente significativa.

RESULTADOS

De todas las estimulaciones ováricas en pacientes con pobre respuesta ovárica en ese periodo de tiempo solamente 108 ciclos de estimulación ovárica cumplieron los criterios de inclusión, de estos un 76.85% corresponde a protocolo de estimulación convencional con antagonista y un 23.14% a protocolo de mínima estimulación ovárica.

En cuanto a las variables demográficas no se encontró diferencia estadísticamente significativa con respecto a la edad entre ambos grupos, siendo de 38.34 años para protocolo convencional con antagonista y 38.04 años para mínima estimulación ovárica, las pacientes con protocolo convencional con antagonista presentaron un Índice de Masa Corporal (IMC) de 24.34 kg/m², y de 24.32 kg/m² en el protocolo de mínima estimulación.

Al comparar el grosor endometrial en el día de disparo encontramos que 19 pacientes (22.89%) presentaron un endometrio de 9mm en el grupo convencional y una frecuencia de 7 pacientes (28%) con endometrio 8mm en el grupo mínima estimulación.

El promedio de ovocitos capturados fue de 2 para el protocolo de estimulación convencional y 1 para el de mínima estimulación, con un rango de 0-10 para el protocolo convencional y un rango de 0-3 para el protocolo de mínima estimulación. En lo que respecta a madurez ovocitaria, el número de ovocitos en metafase II para el grupo de protocolo convencional fue de 74 de un total de 166 ovocitos capturados (44.57%) contra 24 ovocitos en metafase II de un total de 34 ovocitos (70.58 %) para el grupo de mínima estimulación.

La tasa de fertilización en el grupo de estimulación convencional fue de 61.4% frente a 68% en el grupo de estimulación mínima. Se realizó transferencia en 39 pacientes (47%) en el grupo de estimulación convencional y 14 pacientes (56%) en el grupo de mínima estimulación. Las pacientes con calidad embrionaria grado 1, fueron 25 (30.12%) en el grupo de estimulación convencional y 11 pacientes (44%) en el grupo de mínima estimulación de acuerdo con la clasificación de Lucinda Veeck de 1999. El total de gonadotropinas administradas fue estadísticamente significativo ($p=0.000$) con una mayor dosis para el grupo de estimulación ovárica convencional donde se utilizaron 2566.26 UI contra 1383 UI utilizadas en el grupo de mínima estimulación. Ver tabla 1.

TABLA 1. RESULTADOS CON MÍNIMA ESTIMULACIÓN VS CONVENCIONAL

Variable	Mínima estimulación	Convencional	IC 95%	P
Edad (años)	38.34	38.04	0.125-0.138	0.144
IMC (kg/m ²)	24.32	24.34	0.372-0.391	0.374
Endometrio el día del disparo	8mm (28%)	9mm (22.89%)	0.366-0.385	0.363
Ovocitos capturados	1	2	0.388-0.407	0.380
Ovocitos en MII	24 de 34 (70.58%)	74 de 166 (44.57%)	0.819-0.834	0.803
Ovocitos fertilizados	68%	61.4%		0.552
Transferencia embrionaria	14 (56%)	39 (47%)		0.429
Calidad embrionaria (1)	11 (44%)	25 (30.12%)	0.653-0.672	0.622
Dosis de FSH	1383 UI	2566.26 UI	0.000-0.000	0.000

La tasa de fertilización en el grupo de estimulación convencional fue de 61.44% contra 68% en el grupo de mínima estimulación, la tasa de cancelación del ciclo fue de 53% para el grupo de estimulación convencional contra 44% para el grupo de mínima estimulación, la tasa de embarazo por ciclo fue de 8.4% para el grupo de estimulación convencional contra 12% para el grupo de mínima estimulación, la tasa de embarazo por transferencia fue de 17.94% para el grupo de estimulación convencional contra 21.42 para el grupo de mínima estimulación. Todos estos

resultados con una $p > 0.05$, sin mostrar diferencias estadísticamente significativas. Ver tabla 2.

TABLA 2. PROTOCOLOS	CONVENCIONAL	MÍNIMA ESTIMULACIÓN	Valor p
Tasa de fertilización	61.44%	68%	0.552
Tasa de cancelación	53%	44%	
Tasa de embarazo por ciclo	8.4%	12%	0.590
Tasa de embarazo por transferencia	17.94%	21.42%	0.429

DISCUSIÓN

Las pacientes con baja respuesta siguen siendo un reto y son motivo de múltiples publicaciones que describen nuevas estrategias para optimizar el escaso potencial de este subgrupo de pacientes, no existe ningún tratamiento que garantice una buena respuesta o una gestación, ni tampoco existe un protocolo “Ideal” para baja respuesta.

Dados los resultados obtenidos en nuestro estudio, podemos observar que en pacientes con pobre respuesta de acuerdo con los criterios de Bolonia, la mínima estimulación ofrece un número mayor de embriones de buena calidad (Grado 1) 44% contra el esquema de estimulación convencional 30.12%, así como una mayor cantidad de ovocitos metafase II con un 70.58% para la mínima estimulación contra 44.57% para la estimulación convencional, mostrando también una tendencia a mejorar la tasa de embarazo con un 12% con el esquema de mínima estimulación contra un 8.4% con el esquema de estimulación convencional, pero estos resultados al no ser estadísticamente significativos deben tomarse con cautela.

Los protocolos de estimulación convencional mostraron un aumento en la dosis de gonadotropinas traducido en un mayor costo por tratamiento comparado con los ciclos de mínima estimulación sin mostrar diferencias estadísticamente significativas en los resultados en el número de ovocitos en metafase II, calidad embrionaria, por lo que los ciclos de mínima estimulación pueden ser una opción en las pacientes con pobre respuesta ovárica al ser más accesibles económicamente para la paciente y para la institución.

Los resultados obtenidos por Labarta en el 2015 si ofrecen un mayor grado de calidad embrionaria, así como un mayor número de ovocitos en metafase II, con el uso de una menor dosis de gonadotropinas por ciclo y embrión Labarta en el 2015 (27). Es necesario incrementar el tamaño de muestra para lograr resultados estadísticamente significativos al comparar estos grupos de tratamiento.

Contamos con el primer estudio de comparación realizado en nuestro hospital, del protocolo convencional contra el protocolo de mínima estimulación en las pacientes con pobre respuesta de acuerdo a los criterios de Bolonia.

La principal limitación del estudio es tratarse de un estudio retrospectivo, siendo necesarios estudios controlados aleatorizados con un mayor número de pacientes para valorar si existe significancia estadística en estos parámetros y permitir ampliar nuestras conclusiones.

CONCLUSIÓN

El uso de protocolos de mínima estimulación con letrozol nos permite disminuir el costo total del ciclo de estimulación, sin encontrar diferencia estadísticamente significativa en los resultados, por lo tanto se podría optar por tratamientos con mínima estimulación para disminuir los costos institucionales.

La eficacia de ambos protocolos de estimulación ovárica se midió de acuerdo a la tasa de embarazo por ciclo y por transferencia, y aunque no se encontró diferencia estadísticamente significativa, se observa una tendencia a favor del protocolo de mínima estimulación frente al protocolo convencional. Se requiere de un ensayo clínico controlado, con mayor cantidad de pacientes así como criterios estrictos de inclusión, exclusión y eliminación para poder obtener una mejor conclusión en cuanto a la eficacia de dichos protocolos en pacientes con baja respuesta.

BIBLIOGRAFÍA

1. Diluigi AJ, Engmann L, Schmidt DW, Benadiva CA, Nulsen JC. A randomized trial of microdose leuprolide acetate protocol versus luteal phase ganirelix protocol in predicted poor responders. *Fertil Steril* 2011;95:2531–3.
2. Karimzadeh MA, Mashayekhy M, Mohammadian F, Moghaddam FM. Comparison of mild and microdose GnRH agonist flare protocols on IVF outcome in poor responders. *Arch Gynecol Obstet* 2011;283:1159–64.
3. Davar R, Oskouian H, Ahmadi S, Firouzabadi RD. GnRH antagonist/letrozole versus microdose GnRH agonist flare protocol in poor responders undergoing in vitro fertilization. *Taiwan J Obstet Gynecol* 2010;49:297–301.
4. Shahine LK, Milki AA, Westphal LM, Baker VL, Behr B, Lathi RB. Day 2 versus day 3 embryo transfer in poor responders: a prospective randomized trial. *Fertil Steril* 2011;95:330–2.
5. Surrey ES. Management of the poor responder: the role of GnRH agonists and antagonists. *J Assist Reprod Genet* 2007;24:613–619.
6. Frattarelli JL, Hill MJ, McWilliams GD, Miller KA, Bergh PA, Scott RT Jr. A luteal estradiol protocol for expected poor-responders improves embryo number and quality. *Fertil Steril* 2008;89:1118–1122.
7. Ferraretti AP et al, ESHRE consensus on the definition of 'poor response' to ovarian stimulation for in vitro fertilization: the Bologna criteria, *Hum Reprod*, 2011 Jul;26(7): 1616-24
8. Vollenhoven B, Osianlis T, Catt J. Is there an ideal stimulation regimen for IVF for poor responders and does it change with age? *J Assist Reprod Genet* 2008;25:523–529.
9. Kucuk T, Kozinoglu H, Kaba A. Growth hormone co-treatment within a GnRH agonist long protocol in patients with poor ovarian response: a prospective, randomized, clinical trial. *J Assist Reprod Genet* 2008;25:123–127.
10. Howles CM, Loumaye E, Germond M, Yates R, Brinsden P, Healy D, Bonaventura LM, Strowitzki T. Does growth hormone-releasing factor assist follicular development in poor responder patients undergoing ovarian stimulation for in-vitro fertilization? *Hum Reprod* 1999;14:1939–1943.

11. Fábregues F, Peñarrubia J, Creus M, Manau D, Casals G, Carmona F, Balasch J. Transdermal testosterone may improve ovarian response to gonadotrophins in low-responder IVF patients: a randomized, clinical trial. *Hum Reprod* 2009;24:349–359.
12. Goswami SK, Das T, Chattopadhyay R, Sawhney V, Kumar J, Chaudhury K, Chakravarty BN, Kabir SN. A randomized single-blind controlled trial of letrozole as a low-cost IVF protocol in women with poor ovarian response: a preliminary report. *Hum Reprod* 2004;19:2031–2035.
13. Karande VC, Jones GS, Veeck LL, Muasher SJ. High-dose folliclestimulating hormone stimulation at the onset of the menstrual cycle does not improve the in vitro fertilization outcome in low-responder patients. *Fertil Steril* 1990;53:486–489.
14. Garcia-Velasco JA, Isaza V, Requena A, Martínez-Salazar FJ, Landazábal A, Remohí J, Pellicer A, Simón C. High doses of gonadotrophins combined with stop versus non-stop protocol of GnRH analogue administration in low responder IVF patients: a prospective, randomized, controlled trial. *Hum Reprod* 2000;15:2292–2296.
15. Tazegu'i A, Go'rkemli H, O' zdemir S, Aktan T. Comparison of multiple dose GnRH antagonist and minidose long agonist protocols in poor responders undergoing in vitro fertilization: a randomized controlled trial. *Arch Gynecol Obstet* 2008;278:467–472.
16. De Placido G, Alviggi C, Mollo A, Strina I, Varricchio MT, Molis M. Recombinant follicle stimulating hormone is effective in poor responders to highly purified follicle stimulating hormone. *Hum Reprod* 2000;15:17–20.
17. Kahraman K, Berker B, Atabekoglu CS, Sonmezer M, Cetinkaya E, Aytac R, Satiroglu H. Microdose gonadotropin-releasing hormone agonist flare-up protocol versus multiple dose gonadotropin-releasing hormone antagonist protocol in poor responders undergoing intracytoplasmic sperm injection-embryo transfer cycle. *Fertil Steril* 2009;91:2437–2444.
18. Kyrrou D, Kolibianakis EM, Venetis CA, Papanikolaou EG, Bontis J, Tarlatzis BC. How to improve the probability of pregnancy in poor responders undergoing in vitro fertilization: a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril* 2009;91:749–766.
19. Fauser BC, Nargund G, Andersen AN, Norman R, Tarlatzis B, Boivin J, Ledger W. Mild ovarian stimulation for IVF: 10 years later. *Hum Reprod* 2010;25:2678–2684.

20. Detti L, Williams DB, Robins JC, Maxwell RA, Thomas MA. A comparison of three downregulation approaches for poor responders undergoing in vitro fertilization. *Fertil Steril* 2005;84:1401–1405.
21. Mitri F, et al, Microdose flare protocol with interrupted follicle stimulating hormone and added androgen for poor responders—an observational pilot study, *Fertil Steril*, 2015 Oct, Vol 105, Issue 1, p100-105.e6
22. Kably A, y cols, Consenso Nacional Mexicano de Reproducción Asistida, *Ginecol Obstet Mex* 2012;80(9):581-624
23. Mitwally MF, Casper RF. Aromatase inhibitors for the treatment of infertility. *Expert Opin Investig Drugs* 2003;12:353–371.
24. Pritts EA. Letrozole for ovulation induction and controlled ovarian hyperstimulation. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2010;22:289–294.
25. Mitwally MF, Casper RF. Aromatase inhibition reduces gonadotrophin dose required for controlled ovarian stimulation in women with unexplained infertility. *Hum Reprod* 2003;18:1588–1597.
26. Mitwally MF, Casper RF. Aromatase inhibition improves ovarian response to follicle-stimulating hormone in poor responders. *Fertil Steril* 2002;77:776–780.
27. E. Labarta, D. Marin, E. Bosch, A. Pellicer, J. Remohi, Conventional vs. Minimal ovarian stimulation: an inpatient comparison in poor responder women according to the bologna criteria.. Human Reproduction Unit, Instituto Valenciano de Infertilidad, Valencia, Spain, *Fertil Steril* 2015, page e331