



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO  
FACULTAD DE MEDICINA  
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACION  
HOSPITAL ESPAÑOL  
SERVICIO DE BIOLOGIA DE LA REPRODUCCIÓN HUMANA

Resultados en ciclos de FIV/ICSI utilizando FSH-r + LH-r con hMG VS. FSH-r con hMG durante la estimulación ovárica en mayores de 35 años en clínica de reproducción asistida HISPAREP

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE SUBESPECIALISTA EN  
BIOLOGIA DE LA REPRODUCCIÓN HUMANA

PRESENTA

DR. JORGE LUIS LEZAMA RUVALCABA

DR. CARLOS SALAZAR LOPEZ ORTIZ  
PROFESOR TITULAR DEL POSGRADO DE ESPECIALIZACION  
BIOLOGIA DE LA REPRODUCCIÓN HUMANA

DR. TELLEZ VELASCO SERGIO  
ASESOR DE TESIS  
PROFESOR ADJUNTO DEL POSGRADO DE ESPECIALIZACION

CD.MX., NOVIEMBRE 2017



Universidad Nacional  
Autónoma de México



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

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

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

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

**INDICE:**

Relación de cuadros y gráficas.....	3
Antecedentes.....	4
Material y Método.....	9
Análisis Estadístico.....	10
Resultados .....	10
Discusión.....	17
Conclusiones.....	18
Bibliografía.....	19

### ***RELACIÓN DE CUADROS Y GRÁFICAS:***

FIGURA 1. Louise Brown, primer bebé nacido mediante fertilización in vitro (FIV), Dr. Steptoe y Dr. Edwards

FIGURA 2. Síntesis de estradiol por las células de la granulosa

GRÁFICA 1. Dosis de menotropinas utilizadas durante la estimulación ovárica

GRÁFICA 2. Dosis media de FSH recombinante

GRÁFICA 3. Media de ovocitos recuperados durante la aspiración folicular

GRÁFICA 4. Media de ovocitos maduros posterior a la aspiración folicular

GRÁFICA 5. Tasa de fecundación embrionaria

GRÁFICA 6. Tasa de implantación de embriones en fresco

GRÁFICA 7. Porcentaje de recién nacido vivo en transferencia en fresco

GRÁFICA 8. Embriones vitrificados

***TITULO: Resultados en ciclos de FIV/ICSI utilizando FSH-r + LH-r con hMG VS. FSH-r con hMG durante la estimulación ovárica en mayores de 35 años en clínica de reproducción asistida HISPAREP***

*AUTORES: Lezama Ruvalcaba Jorge Luis Residente 6to año Biología de la Reproducción Humana HISPAREP, Hospital Español*

*Salazar López Ortiz Carlos, Médico Titular del curso de Biología de la Reproducción Humana y director Médico en Clínica de Reproducción Asistida HISPAREP, Hospital Español*

*Tellez Velasco Sergio, Médico adjunto curso de posgrado y adscrito encargado de la clínica de Reproducción Asistida HISPAREP, Hospital Español*

**ANTECEDENTES:**

El tratamiento de reproducción para parejas infértiles ha evolucionado rápidamente desde el nacimiento de Louise Brown, la primer bebé nacida mediante fertilización in vitro (FIV) (Steptoe & Edwards, 1978). Figura 1.

Elegir el esquema de estimulación ovárica que tenga la mejor respuesta folicular de la forma más fisiológica es un paso muy importante en este proceso. Los regímenes de estimulación ovárica se han mejorado, así el uso de nuevas opciones terapéuticas (Macklon et al., 2006). (1)

Las tasas de embarazo disminuyen drásticamente en mujeres de 35 años o más, esto lo observamos con frecuencia cuando son sometidas a tratamientos de reproducción asistida principalmente FIV o ICSI.

Algunos datos clínicos muestran que la LH es esencial para la maduración de ovocitos en el ciclo menstrual natural (Hillier, 2001). Y bajos niveles de LH en los ciclos de FIV se han asociado con mala calidad embrionaria y menor número de embriones disponibles para crioconservación (Fleming et al., 1998). (2)

En estadios tempranos de la foliculogénesis, el receptor de LH está presente en las células de la teca y bajo la estimulación de LH la capa celular actúa como productor de andrógenos. Más tarde, en presencia de estrógeno, la

FSH estimula la expresión del receptor de LH en las células de la granulosa que van a tener respuesta a LH. (3) Figura 2.

Sólo el 1% de los receptores de LH necesitan ser ocupados para conducir una esteroidogénesis ovárica adecuada para la reproducción. Aunque la mayoría de los pacientes normogonadotrópicos tienen niveles endógenos adecuados de LH, los beneficios potenciales de la LH exógena adicional en las técnicas de reproducción ha sido una cuestión de controversia. (4)

FIGURA1. El equipo que fue pionero en la fertilización in vitro. A la izquierda, el fisiólogo Dr. Robert Edwards con el primer bebé de tubo de ensayo del mundo, Louise Joy Brown y (a la derecha) el ginecólogo Patrick Steptoe. (25 de julio de 1978). (Foto por Keystone / Getty Images)



Además de la FSH, la LH se puede administrar en diferentes formas incluyendo la asociación de LH recombinante (LH-r) a FSH recombinante (FSH-r) o menopinas (hMG). (5)

Desde 1993, LH-r ha estado disponible para ensayos clínicos, más recientemente (2001), se ha registrado para su uso comercial. Se realizaron estudios farmacocinéticos con LH-r para comparar sus acciones con la LH hipofisiaria y la obtenida de orina de mujeres menopausicas. La curva de tiempo de concentración media, la distribución de volumen en estados estacionarios fueron similares en los tres tipos de LH. Las semividas de



Se ha demostrado que en mujeres de 35 años o más, la implantación fue marcadamente mayor en las mujeres que recibieron LH-r en comparación con los pacientes que recibieron solo FSH-r. Bosch et al. (2011) realizaron un ensayo en un protocolo de estimulación con antagonista de GnRH y confirmó este hallazgo y encontró mejores resultados clínicos y número de mujeres embarazadas de 36 a 39 años, aunque las diferencias no fueron estadísticamente significativas. (10)

En contraste, otros investigadores no reportaron ningún beneficio de LH-r en pacientes similares (Fa'bregues et al., 2006; Barrenetxea et al., 2008; Nyboe Andersen et al., 2008). Por lo tanto, sigue siendo poco claro si ciertos subgrupos (como las mujeres mayores de 35 años) pueden beneficiarse de la adición de LH-r a FSH-r. (11)

Los protocolos de técnicas de reproducción asistida utilizando agonistas de GnRH han sido considerados como el protocolo estándar durante las dos últimas décadas, pero el uso de antagonistas de la GnRH ofrece poder controlar el aumento endógeno de LH de una manera rápida y más conveniente.

Los antagonistas causan una supresión inmediata de las gonadotropinas, sin el efecto flare-up. Mientras que los agonistas actúan a través de la regulación negativa, los antagonistas bloquean específicamente los receptores de GnRH e inducen una disminución de los niveles séricos de LH y una disminución menos pronunciada en la secreción de FSH (Albano et al., 1997, Fujimoto et al., 1997). La consecuencia obvia es bajos niveles de LH y FSH. (12)

Se han realizado varios estudios para investigar si la adición de LHr a FSHr mejora el resultado del ciclo. Estos estudios muestran resultados contradictorios y sólo unos pocos estudios han analizado esta cuestión en esquemas con antagonistas GnRH (Ce'drin-Durnerin Et al., 2004; Sauer et al., 2004; Griesinger et al., 2005; Levi-Setti et al., 2006; Bosch et al., 2011).

El objetivo de este estudio fue investigar si la adición de LH-r a FSH-r en un protocolo de estimulación de FIV / ICSI con menotropinas y antagonista de GnRH, mejorará la respuesta ovárica y, en consecuencia las tasas de embarazo en mujeres de 35 años o más.

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA:**

El número de parejas con infertilidad ha venido en aumento durante los últimos años, una de las causas principales es por el deseo de postergar el embarazo a edades más avanzadas. Es así como las técnicas de reproducción asistida de alta complejidad como la fertilización in vitro y la inyección intracitoplasmica de espermatozoides se ha convertido en el tratamiento en muchas de estas parejas.

Existen diversos esquemas de estimulación ovárica en los ciclos de reproducción asistida donde se utilizan medicamentos, como las gonadotropinas derivadas de orina de mujeres menopausicas y las modificadas mediante recombinación genética, el esquema que ofrezca mejores resultados en pacientes mayores de 35 años, es importante para poder ofrecerle la mejor oportunidad para lograr un embarazo.

**PREGUNTA DE INVESTIGACION:** ¿Qué protocolo de estimulación ovárica controlada en mujeres de más de 35 años de edad tiene mejores resultados en ciclos de FIV/ICSI?

**HIPOTESIS VERDADERA o ALTERNA** (Investigador): Hay mejores resultados con el uso de FSH-r + LH-r con menotropinas sobre FSH-r con menotropinas en ciclos de FIV/ICSI en mayores de 35 años

**HIPOTESIS NULA** (trabajo): NO Existe diferencia significativa entre el uso de FSH-r + LH-r con menotropinas VS FSH-r con menotropinas en ciclos de FIV/ICSI en pacientes mayores de 35 años

**OBJETIVO:** Evaluar los resultados en ciclos de FIV/ICSI entre 2 protocolos de estimulación ovárica en mujeres mayores de 35 años.

Evaluar si la adición de LH-r durante la estimulación ovárica ofrece mejores resultados en ciclos de FIV/ICSI en pacientes mayores de 35 años

**SELECCIÓN DE LA MUESTRA:** Pacientes con diagnóstico de infertilidad mayores de 35 años, de la clínica de reproducción Hisparep del Hospital Español que se sometieron a ciclo de hiperestimulación ovárica controlada con FIV/ICSI durante el periodo 2014-2016

**MATERIAL Y METODO:** Se dividieron a las pacientes en 2 grupos:

- Grupo 1: Pacientes mayores de 35 años sometidas a ciclo de estimulación ovárica + FIV/ICSI utilizando FSH-r + LH-r con hMG
- Grupo 2: Pacientes mayores de 35 años sometidas a ciclo de estimulación ovárica + FIV/ICSI utilizando FSH-r con hMG

**DISEÑO Y ESTUDIO:** Se realizó un estudio longitudinal, observacional, retrospectivo.

#### **VARIABLES:**

##### **Dependientes cuantitativas:**

- Número de ovocitos obtenidos en la aspiración (#)
- Número de ovocitos maduros (MII) (#)
- Tasa de fecundación (%)
- Tasa de implantación en fresco (%)
- Porcentaje de Recién nacido vivo (%)
- Número de Embriones vitrificados (#)

##### **Dependientes cualitativas**

- Tipo de esquema de estimulación ovárica:
  - 1) FSH-r + LH-r + menotropinas (PERGOVERIS+MERAPUR)
  - 2) FSH-r + menotropinas (GONAL-F + MERAPUR)

### **CRITERIOS DE INCLUSION:**

- Pacientes mayores de 35 años sometidas a estimulación ovárica controlada y FIV/ICSI

### **CRITERIOS DE EXCLUSIÓN:**

- Presencia de endometriosis
- Pacientes con Ovario Poliquistico
- Pacientes con obesidad (IMC>35)
- Menores de 35 años

### **ANALISIS ESTADISTICO:**

El análisis estadístico se realizó con prueba T de Student para muestras independientes. Los estudios se analizaron con el paquete estadístico SPSS IBM, versión 22.

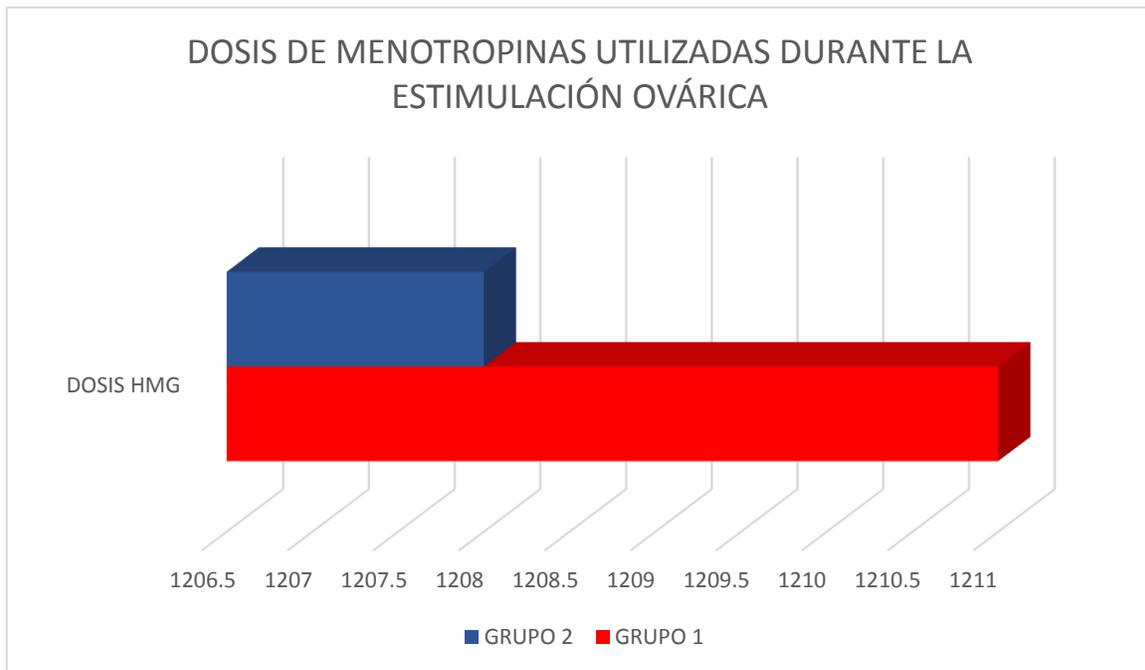
### **RESULTADOS:**

Se analizaron un total de 201 pacientes que se sometieron a ciclo de FIV/ICSI, utilizando antagonista de GnRH a partir el día 7 del ciclo, en 101 pacientes (Grupo 1) se utilizó FSH-r + LH-r con hMG (Pergoveris + Merapur) y en 100 pacientes (Grupo 2) se utilizó FSH-r + hMG (Gonal F+ Merapur) desde el 2do o 3er día del inicio del ciclo.

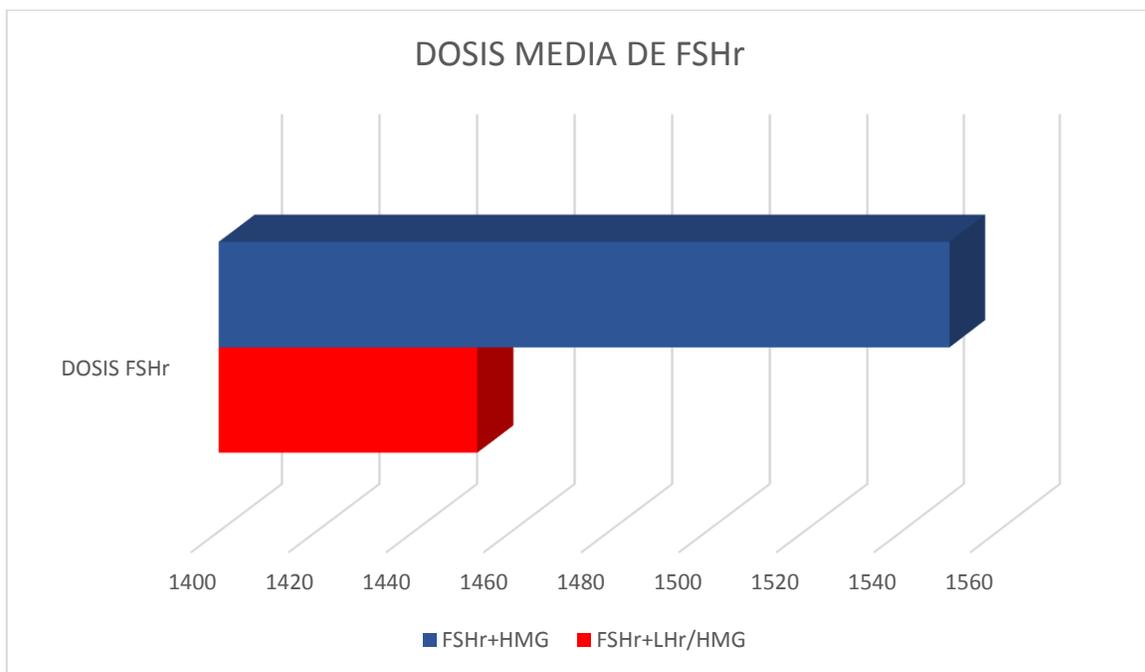
La dosis total de menotropinas (Merapur) utilizadas en ambos grupos fue similar (1211 unidades en el grupo1 y 1208 unidades en el grupo 2). Gráfica1.

En cuanto a la dosis de FSH-r utilizada no hubo diferencia significativa (1453 en el grupo 1 vs. 1550 en el grupo 2). Gráfica 2.

GRÁFICA 1.



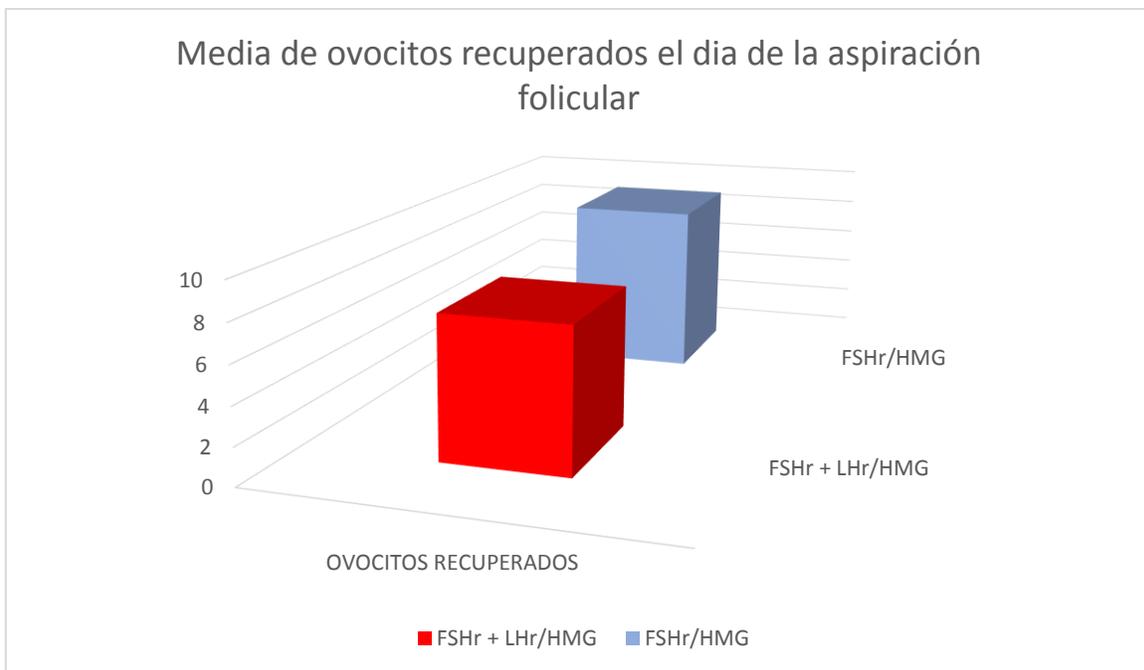
GRÁFICA 2.



La edad de las pacientes fue mayor de 35 años, con características similares, se excluyeron a las pacientes de menor edad, con diagnóstico de endometriosis, ovario poliquístico y con índice de masa corporal arriba de 30kg/m<sup>2</sup>.

En el día de la aspiración folicular, se obtuvo una media de 7.5 ovocitos en el grupo 1 (Pergoveris + Merapur) y 9.1 ovocitos para el grupo 2 (Gonal F + Merapur). Gráfica 3. Siendo ligeramente mayor para el grupo 2, con un valor estadístico de  $P=0.058$ , sin ser estadísticamente significativo.

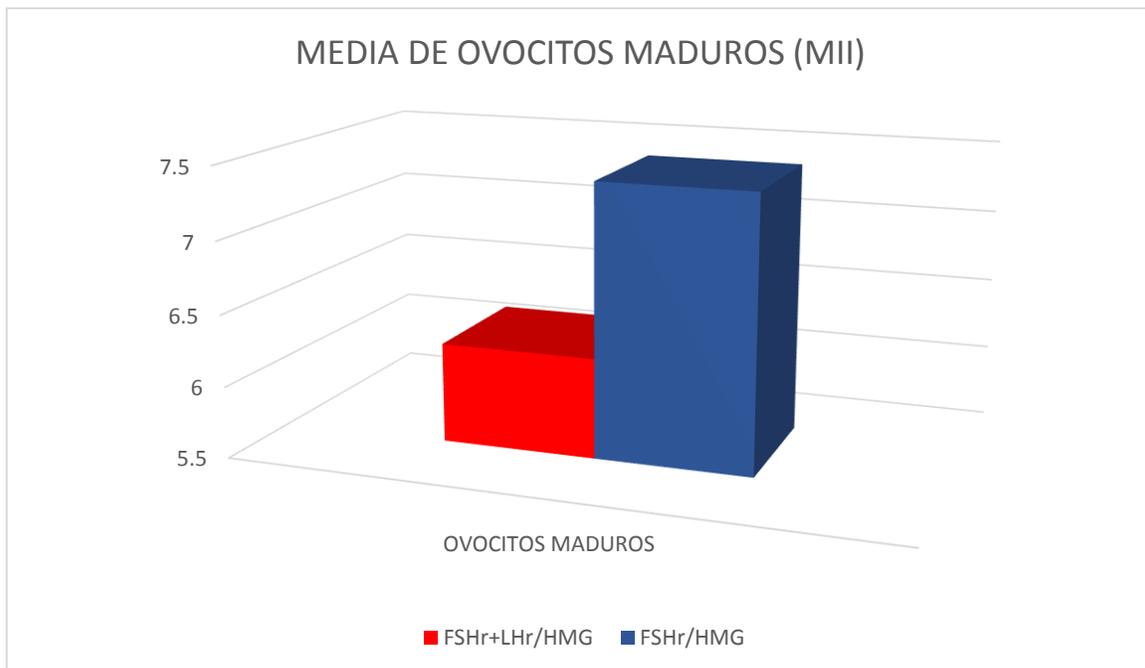
GRÁFICA 3



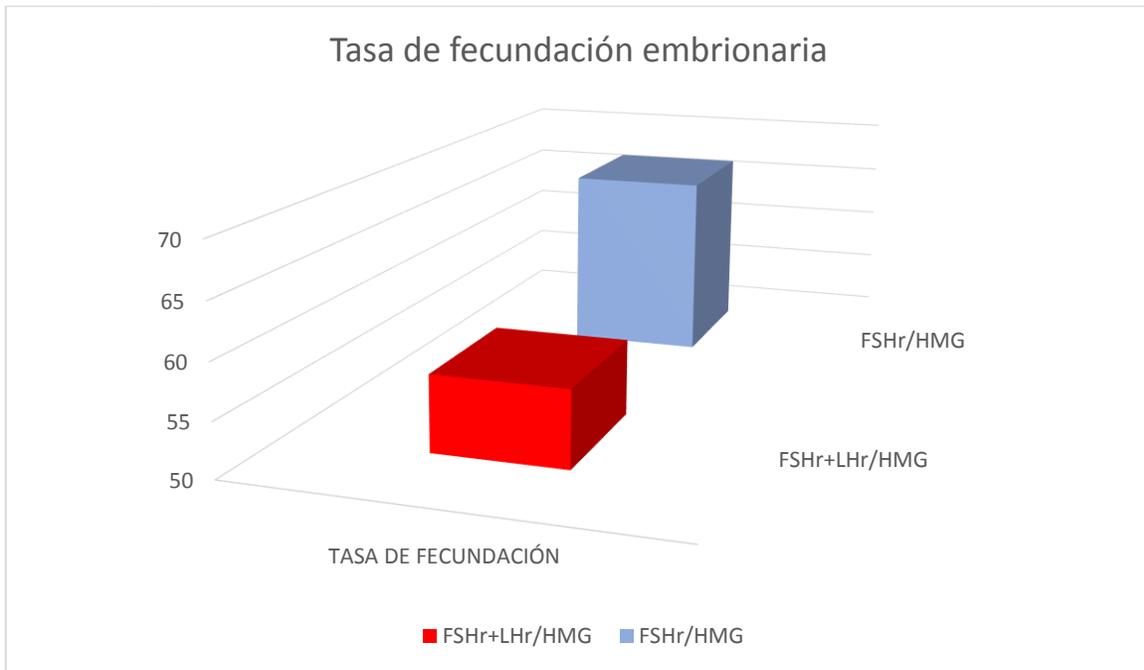
En cuanto al número de ovocitos maduros se observó la misma tendencia, con un número mayor en el grupo 2, (7.4 vs 6.2), tampoco siendo estadísticamente significativo. ( $P= 0.085$ ). Gráfica 4.

En cuanto a la tasa de fecundación se observó de manera similar un incremento en grupo 2 (67% vs 57%)  $p= 0.045$ , Gráfica 5. Al realizar análisis estadístico con T de student no se observó significancia estadística. Hay que tener en cuenta que durante el proceso de fecundación interviene la integridad del gameto masculino (espermatozoide) y no se contaba con fragmentación de DNA espermático en todos los pacientes masculino.

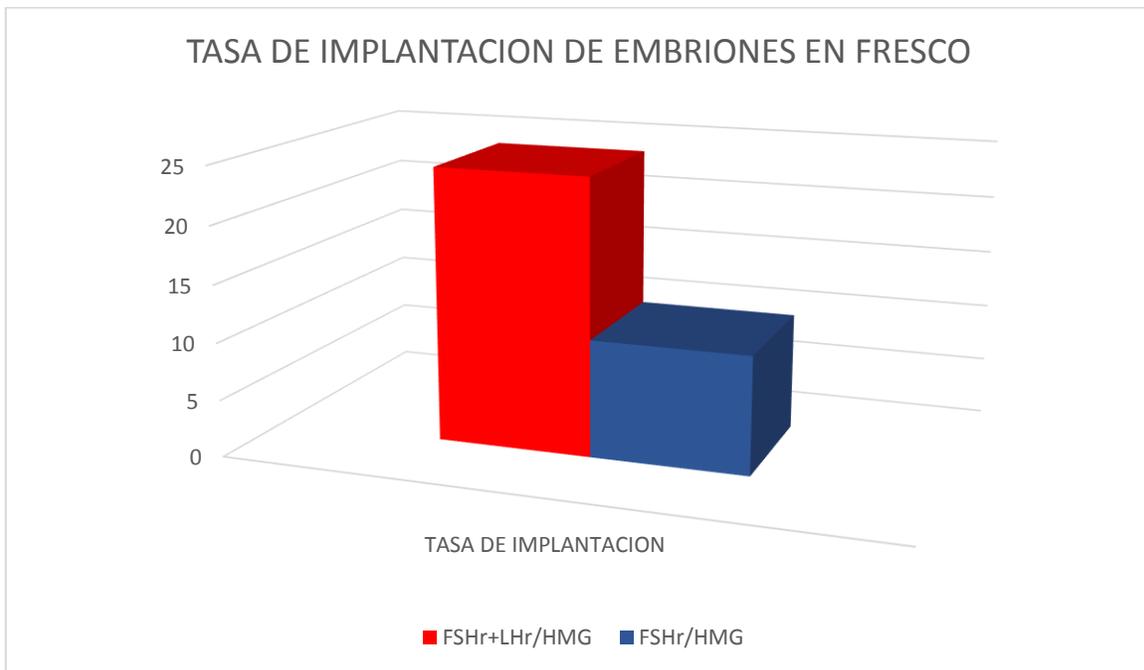
GRÁFICA 4.



GRÁFICA 5.



GRÁFICA 6.

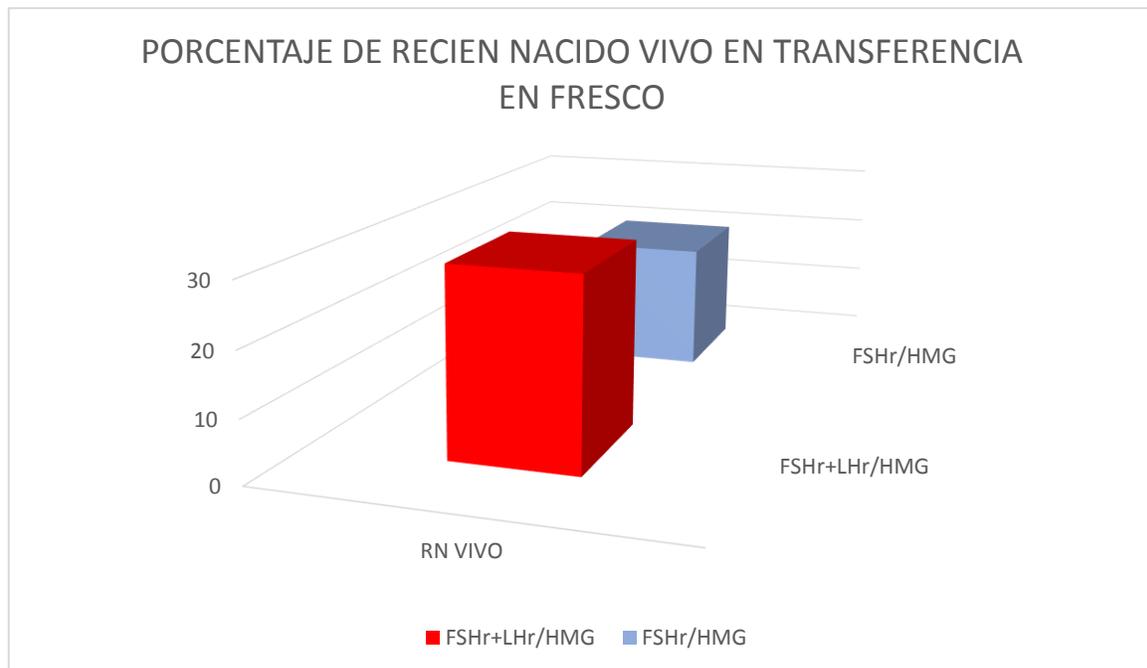


Se realizó transferencia embrionaria en fresco en 20 pacientes del grupo 1 y en 58 pacientes en el grupo 2, obteniendo una de tasa media de implantación mayor en el grupo 1 (24.1%Vs. 10.3%)  $p=0.40$  Gráfica 6.

De 20 pacientes que se transfirieron en fresco del grupo 1, hubo 6 recién nacidos vivos, de los cuales 2 embriones fueron transferidos en día 3 y 4 embriones transferidos en día 5, con un porcentaje del 30% de recién nacido vivo, y de las 58 pacientes que se transfirieron en fresco del grupo 2, hubo 12 recién nacidos vivos, de los cuales 2 embriones fueron transferidos en día 5 y 10 embriones en día 3, con un porcentaje del 20.6% de recién nacido vivo. Gráfica 7.

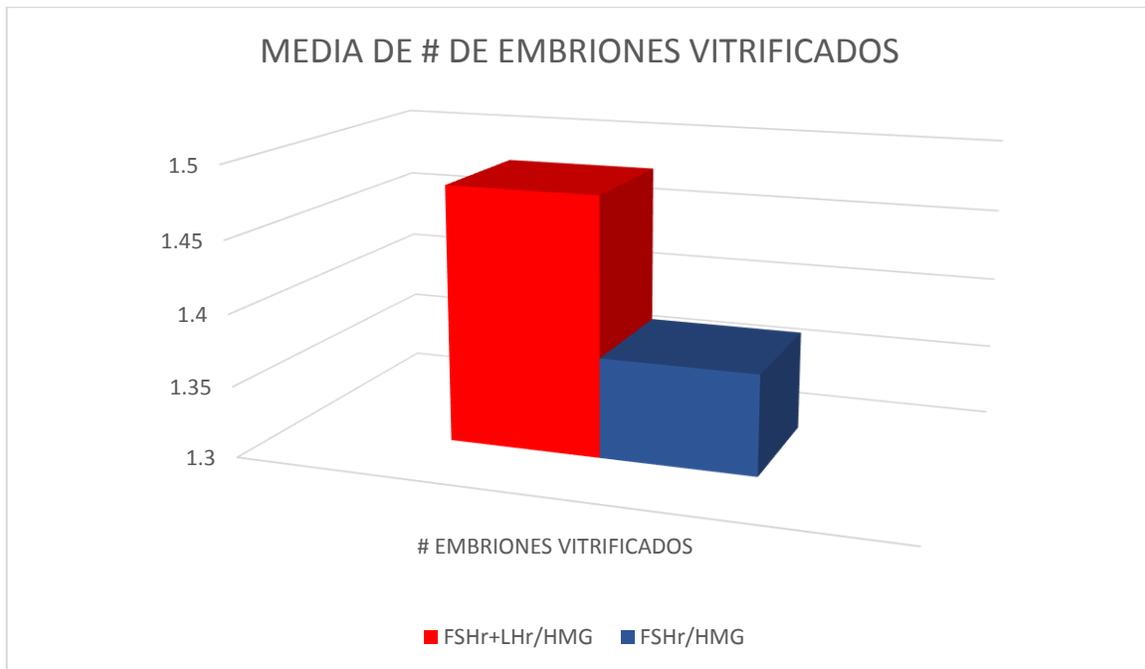
Al final del proceso de fertilización in vitro, se vitrificaron los embriones que no se transfirieron y que morfológicamente se observaban normales, en el grupo 1 (FSH-r+LH-r / hMG) hubo mayor número de embriones para vitrificar, ( $p=0.96$ ) para poder utilizarlos en un ciclo posterior de preparación endometrial y transferencia embrionaria. Gráfica 8.

GRÁFICA 7



En el grupo 1 no hubo ninguna caso de aborto, en el grupo 2 hubo 2 abortos durante el primer trimestre.

GRÁFICA 8



## DISCUSIÓN:

La edad materna avanzada, como causa de infertilidad, está asociada a baja respuesta ovárica en los ciclos de reproducción asistida, mala calidad ovocitaria y embrionaria, fallo de implantación, riesgo aumentado de cromosopatías y aborto durante el primer trimestre de gestación.

La estimulación ovárica tiene interés sobre todo en pacientes mayores de 35 años y pobres respondedoras, donde se ha postulado que la adición de LH recombinante aumenta la respuesta ovocitaria, la calidad folicular, por ende incrementa la posibilidad de fecundación, buen desarrollo embrionario, implantación y poder lograr un embarazo.

Tanto FSH y LH son necesarios para un crecimiento y maduración folicular óptimo, la LH causa un remodelado folicular, reinicia la actividad meiótica en el ovocito. Además de iniciar la proteólisis en la pared del folículo para su ruptura y liberación del ovocito.

La hCG tiende a producir desensibilización y provocar una regulación a la baja de los receptores de LH debido a su vida media larga, cuando se utiliza LH recombinante no se observa este fenómeno.

El objetivo de este estudio fue analizar 2 esquemas de estimulación ovárica en pacientes mayores de 35 años, el primer esquema con adición de LHr (Pergoveris + Merapur) desde los primeros días de la estimulación ovárica y el segundo grupo se estimuló con FSH-r + menotropinas (Gonal F + Merapur)

Un reciente metaanálisis donde se analizaron 7 estudios clínicos, encontraron significativamente mayor tasa de implantación y embarazo clínico en mujeres mayores de 35 años tratadas con FSH-r + LH-r comparadas con las que recibieron FSH únicamente (5), lo que concuerda con nuestro estudio donde se observó mayor tasa de implantación en transferencias en fresco y recién nacido vivo en el grupo 1.

Los resultados de la aspiración folicular, en cuanto a número de ovocitos aspirados, cantidad de ovocitos maduros, y tasa de fecundación fue mayor en el grupo 2, donde no se utilizó LHr, sin embargo los resultados finales, las pacientes que se transfirieron en fresco tuvieron mayor tasa de implantación y porcentaje de embarazo en el grupo 1, donde se utilizó LHr.

En las pacientes que vitrificaron embriones hubo mayor número, en el grupo 1, por lo que si concordamos con que podría mejorar la calidad embrionaria y receptividad endometrial el uso de LH-r en pacientes mayores de 35 años.

Si bien es controversial el beneficio de la suplementación con LH-r y nuestros resultados no fueron estadísticamente significativos, si se observan mejores resultados con esta combinación en la estimulación ovárica en mujeres mayores de 35 años. Sin embargo hace falta mayor número de estudios con mayor cantidad de pacientes con estas características.

## **CONCLUSIONES:**

Las pacientes mayores de 35 años que se someten a técnicas de reproducción asistida son un reto para los especialistas en reproducción, encontrando pacientes que no responden adecuadamente a la estimulación ovárica, el uso de medicamentos genéticamente recombinantes y las distintas formas de estimulación donde se utiliza LH-r desde el inicio del ciclo en protocolos con antagonista de GnRH puede mejorar el pronóstico reproductivo en estas pacientes.

El uso de FSH-r adicionando LH-r en la relación 2:1 además de combinarlo con menotropinas, probablemente mejora la calidad del gameto femenino (ovocito) en etapas donde la reserva folicular de la mujer comienza a disminuir, así como su respuesta a la estimulación y calidad ovocitaria confiriendo ventajas en los resultados reproductivos.

**BIBLIOGRAFÍA:**

1.- *M. Maia, Review Article, Use of recombinant luteinizing hormone for controlled ovarian hyperstimulation in infertile patients, JBRA Assisted Reproduction 2016;20(2):78-81*

2.- *Humaidan P, Schertz J, Fischer R. Efficacy and Safety of Pergoveris in Assisted Reproductive Technology--ESPART: rationale and design of a randomised controlled trial in poor ovarian responders undergoing IVF/ICSI treatment. BMJ Open. 2015 Jul 3;5(7):e008297. doi: 10.1136/bmjopen-2015-008297. PubMed PMID: 26141305; PubMed Central PMCID: PMC4499676.*

3.- *A. Revelli, Assisted reproduction technologies. Outcome of in vitro fertilization in patients with proven poor ovarian responsiveness after early vs. mid-follicular lh, exposure: a prospective, randomized, controlled study. J. Assist Reprod Genet (2012) 29:869–875*

4.- *Hill MJ, Levens ED, Levy G, Ryan ME, Csokmay JM, DeCherney AH, Whitcomb BW. The use of recombinant luteinizing hormone in patients undergoing assisted reproductive techniques with advanced reproductive age: a systematic review and meta-analysis. Fertil Steril. 2012 May;97*

5.- *H. Behre, ARTICLE, Randomized trial comparing luteinizing hormone supplementation timing strategies in older women undergoing ovarian stimulation. Reproductive BioMedicine 2015, 31, 339–346.*

6.- *A. Revelli, Research, Controlled Ovarian Stimulation with recombinant-FSH plus recombinant-LH vs. human Menopausal Gonadotropin based on the number of retrieved oocytes: results from a routine clinical practice in a real-life population, Reproductive Biology and Endocrinology (2015) 13:77*

7.- *P. Lehert, Research, Recombinant human follicle-stimulating hormone (r-hFSH) plus recombinant luteinizing hormone versus r-hFSH alone for ovarian stimulation during assisted reproductive technology: systematic review and meta-analysis. Lehert et al. Reproductive Biology and Endocrinology 2014, 12:17*

8.- *Bosch E. Comment on 'Recombinant LH supplementation to a standard GnRH antagonist protocol in women of 35 years old or older undergoing IVF/ICSI: a randomized controlled multicentre study'. Hum Reprod. 2014 Mar;29(3):636-7. doi: 10.1093/humrep/det431. Epub 2014 Jan 8. PubMed PMID: 24401201.*

9.- Moro F, Scarinci E, Palla C, Romani F, Familiari A, Tropea A, Leoncini E, Lanzone A, Apa R. *Highly purified hMG versus recombinant FSH plus recombinant LH in intrauterine insemination cycles in women  $\geq 35$  years: a RCT.* Hum Reprod. 2015 Jan;30(1):179-85. doi: 10.1093/humrep/deu302. Epub 2014 Nov 14. PubMed PMID: 25398971

10.- D. Carone, *Efficacy of different gonadotropin combinations to support ovulation induction in who type I anovulation infertility: Clinical evidences of human recombinant FSH/human recombinant LH in a 2:1 ratio and highly purified human menopausal gonadotropin stimulation protocols.* Center of Reproduction and Andrology (CREA), Taranto, Italy. J. Endocrinol. Invest. 35:996-1002, 2012.

11.- Schwarze JE, Crosby JA, Zegers-Hochschild F. *Addition of neither recombinant nor urinary luteinizing hormone was associated with an improvement in the outcome of autologous in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection cycles under regular clinical settings: a multicenter observational analysis.* Fertil Steril. 2016 Dec;106(7):1714-1717.e1. doi: 10.1016/j.fertnstert.2016.09.003. Epub 2016 Sep 24. PubMed PMID: 27678033.

12.- Vuong TN, Phung HT, Ho MT. *Recombinant follicle-stimulating hormone and recombinant luteinizing hormone versus recombinant follicle-stimulating hormone alone during GnRH antagonist ovarian stimulation in patients aged  $\geq 35$  years: a randomized controlled trial.* Hum Reprod. 2015 May;30(5):1188-95. doi: 10.1093/humrep/dev038. Epub 2015 Mar 3. PubMed PMID: 25740882.