



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE MEDICINA

TITULO

*Predicción de dosis de gonadotropinas en
estimulación de Donantes de acuerdo a niveles de
HAM e IMC*

TESIS

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

PRESENTA:

DR. KARLA IRENE RANGEL PUENTE

DIRECTOR DE TESIS:

DR. JOSE IRAM OBESO MONTOYA

GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA

BIOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN

MONTERREY, NUEVO LEÓN. FEBRERO, 2018



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

Introducción

Donación de óvulos.....	3
Reserva Ovárica.....	4
Hormona Antimulleriana.....	5
Fisiología de HAM.....	6
Impacto del peso sobre la respuesta a la estimulación ovárica.....	8
Medición de HAM.....	8
Objetivo.....	10
Objetivos específicos.....	11
Hipótesis Nula.....	11
Hipótesis Alternativa (de investigación).....	11

Material y métodos

Diseño del estudio.....	12
Criterios de inclusión.....	12
Criterios de exclusión.....	12
Metodología.....	13



Análisis estadístico.....	21
Método de análisis.....	21
Herramientas de análisis.....	21
Calculo de Muestra.....	21
Demografía y antecedentes.....	22
Resultados.....	30
Análisis de componentes.....	33
Discusión.....	35
HAM.....	35
IMC.....	41
Conclusiones.....	46
Bibliografía.....	47



Predicción de dosis de gonadotropinas en estimulación de Donantes de acuerdo a niveles de HAM e IMC

Introducción

Donación de Óvulos

La donación de ovocitos es una parte importante de la asistencia reproductiva, la primera donación de ovocitos con éxito se describió en 1983 en Australia por Trounson. Tan solo en Estados Unidos, se realizan aproximadamente 20,000 intentos de embarazo usando fertilización in vitro (FIV) con ovocitos donados.ⁱ

Las indicaciones para someterse a FIV con ovocitos donantes incluyen:

- Insuficiencia ovárica primaria o disgenesia gonadal
- Función ovárica decreciente o ausente (Menopausia Precoz)
- Edad reproductiva avanzada (> 40 años)
- Calidad persistente de ovocitos pobres durante las tecnologías de reproducción asistida (3 o más fallos de FIV)
- Evitar transmisión genética de enfermedades

En países como Estados Unidos o en España la donación de ovocitos ocurre en uno de cada siete procedimientos de FIV. Esto, más que de la indicación médica, es atribuido a la disponibilidad y legalidad del tratamiento en comparación con otros países como Francia donde la frecuencia la encontramos en 1 de cada 100 tratamientos.ⁱⁱ

La donación de ovocitos en fresco se logra al sincronizar el ciclo menstrual del receptor con un ciclo estimulado de la mujer que está donando sus ovocitos.



Las tasas de concepción son altas con esta tecnología, y los resultados del embarazo son mayores sobre todo cuando son comparados con tratamientos de alta complejidad homólogos. Esta diferencia aumenta conforme la edad de la mujer avanza. Figura 1.

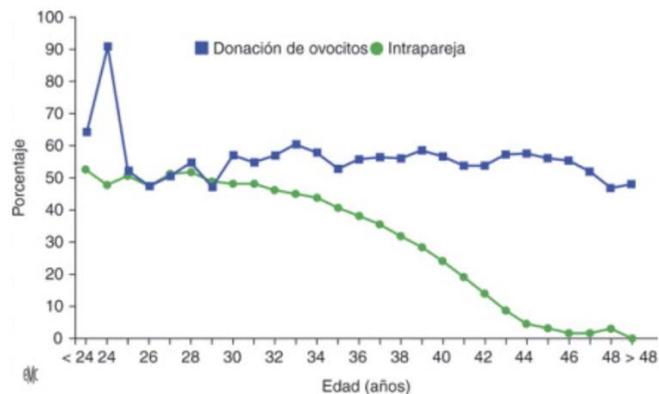


Figura 1. CDC

Reserva Ovárica

Es bien sabido que conforme la edad de la mujer avanza hay un declive en la función reproductora, debido a la reducción en la reserva folicular ovárica y a la calidad de los ovocitosⁱⁱⁱ. Para medir esta reserva, se realiza la cuenta folicular antral guiada por ultrasonido, sin embargo actualmente se cuentan con indicadores séricos tales como la hormona folículo estimulante (FSH), el estradiol, la Inhibina B y más recientemente la Hormona Antimülleriana (HAM) que pueden determinar o complementar el estudio^{iv}.

A pesar de que la Inhibina B comienza a disminuir antes que el aumento de la FSH, considerándose un marcador más temprano que la FSH, la HAM presenta primeramente la disminución, sumado a esto se considera un marcador más específico debido a la independencia del sistema de retroalimentación del eje hipotálamo-hipófisis-gónada. Poniéndolos de manera equitativa, concentraciones de HAM de 1ng/ml corresponden a los valores de FSH de 10 UI/L, mientras que 0.5ng / ml de HAM corresponde a 15 UI/L^v.



Hormona Antimulleriana

La HAM es una glicoproteína producida en las células de la granulosa que rodean a los folículos antrales y preantrales, declinando su producción en los folículos dominantes (Figura 2). Su principal función fisiológica en el ovario es la limitación del reclutamiento de folículos primordiales, además de reducir la sensibilidad de la FSH de los folículos en crecimiento. La expresión desaparece cuando estos alcanzan un tamaño en el que pueden ser seleccionados por la FSH para ser dominantes.

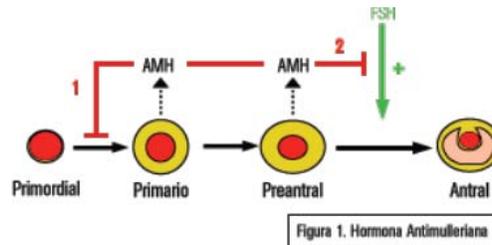


Figura 2

Puesto que su nivel en sangre se correlaciona con el número de folículos disponibles y en virtud de que la HAM muestra pocas variaciones en sus concentraciones durante las diferentes etapas del ciclo permitiendo su valoración en cualquier momento^{vi} sus niveles séricos pueden ser utilizadas para:

- Evaluación de la reserva ovárica.
- Predicción de respuesta a la estimulación hormonal.
- Diagnostico de insuficiencia ovárica temprana, cualquiera que sea su etiología.^{viii}

A pesar que los niveles de HAM, siguen un patrón de disminución, conforme la edad de la mujer avanza y la reserva folicular disminuye, (Figura 3) los niveles que se encuentran en mujeres de la misma edad varían y no reflejan necesariamente la edad de la mujer. Pudiendo encontrar niveles bajos en pacientes jóvenes, que nos permiten realizar diagnósticos como el Síndrome de



Insuficiencia Ovárica Primaria, así como cifras mayores en pacientes no necesariamente jóvenes con Ovario Poliquístico por mencionar algunos ejemplos.

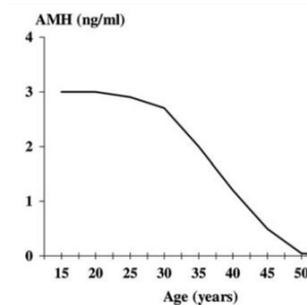


Figura 3

En este trabajo nos concentraremos en el nivel de predicción que tiene la hormona antimulleriana en mujeres jóvenes (grupo de donación) y el IMC de cada una de ellas para determinar si tiene un impacto en la dosis necesaria para la estimulación ovárica con revisión de resultados de captura ovular y fertilización como objetivo general y prueba de embarazo positiva y tasa de nacido vivo como objetivo secundario.

Fisiología

La HAM, también conocida como sustancia inhibitoria Mülleriana (MIS) o factor inhibidor Mülleriano (MIF), es una glicoproteína homodimérica unida por enlaces disulfuro y un peso molecular de 140kDa.

La hormona pertenece a la súper familia del Factor de crecimiento de transformación β (TGF β). El gen que codifica la HAM se encuentra en el brazo corto del cromosoma 19. Su acción de HAM es ejercida a través de dos receptores: receptor (AMHRI) de tipo I y tipo receptores II (AMHRII) que están presentes en los órganos diana de la HAM (gónadas y conductos Müllerianos).

La HAM desempeña un papel importante en la diferenciación de sexo masculino ya que su producción por los testículos embrionarios induce la regresión los conductos Müllerianos.



En las mujeres, la HAM es producida por las células de la granulosa (CG) de los folículos desde los primarios a la formación inicial del antro.

En recién nacidos femeninos, la HAM es prácticamente imperceptible pero aumenta gradualmente hasta la pubertad y se mantiene relativamente estable durante el ciclo^{ix} (Figura 4) con fluctuaciones muy leves, (niveles más bajos durante la fase secretora temprana) clínicamente no significativas para recomendar la toma en alguna fase específica del ciclo en particular.

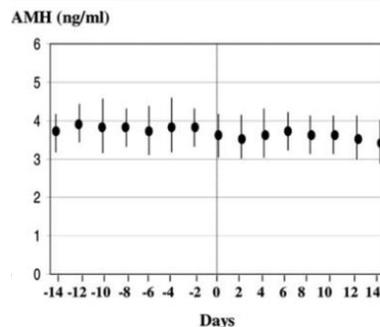


Figura 4

Existen factores que pueden alterar los niveles de HAM, tal es el caso del uso de anticonceptivos orales, se demostró un efecto sutil supresor de los niveles de HAM, el cual es reversible ya que al suspenderlos se observó incluso aumento de los niveles.^x

Otro factor modificador es el uso de terapia con agonista de GnRH cambiando significativamente los niveles después de 4 semanas de uso. Estas observaciones sugieren que en pacientes que se encuentren bajo este tratamiento, puede no ser un marcador confiable de reserva ovárica.^{xi}

Durante la estimulación ovárica con FSH, hay una disminución de la HAM, debidamente secundaria a que la FSH estimula el crecimiento de los folículos, que a su vez la HAM tiene como función limitar, perdiendo la expresión, además también se cree secundaria a el aumento del estradiol producido por la mayor cantidad de folículos estimulados.



Impacto del peso sobre la respuesta a la estimulación ovárica

Respecto a la obesidad, no existen aún estudios suficientes que demuestren la relación entre la obesidad y los niveles de HAM, dejando de lado el SOP, que suele estar asociado. En un estudio, se encontró que mujeres obesas con edad entre 35-49 años tenían significativamente reducidos los niveles de HAM, (hasta 65%), en comparación con las mujeres de peso normal con edad similar, esta correlación inversa entre los niveles de IMC y HAM no es plenamente explicada. Se proponen tres hipótesis:

- a) Obesidad puede afectar el catabolismo de la HAM.
- b) La obesidad podría reducir el potencial ovárico.
- c) Obesidad puede estar relacionada con disfunción ovárica.^{xii}

Medición de HAM

Para la medición de HAM existen kits de ELISA, así como el ensayo de laboratorios de diagnóstico sistema (DSL) y Beckman Immunotech (IB).^{xiii}

Los valores normales en la mujer pueden variar según la edad, considerándose como valores estimados correspondientes a la pérdida natural progresiva de la fertilidad, (Figura 5) por lo que se considera normal los siguientes intervalos:

Grupo de edad (años)	Niveles de AMH (ng/mL)
24-26	3.4-3.2
27-31	2.9-2.3
32-35	1.8-1.3
36-40	1.2-0.7
41-45	0.6-0.3
46-50	0.2-0.0

Figura 5. Intervalos de referencia por grupo de edad.



La disminución promedio anual en el valor HAM sérica fue 0.2ng/ml/año antes de los 35 años y 0.1ng/ml/año después de los 35 años.^{xiv}

Sin embargo para medir la reserva folicular con el fin de predecir la respuesta ovárica a estimulaciones, se propuso como punto de corte para predecir baja respuesta ovárica un valor de 0.5 ng/ml, independientemente del grupo de edad al que pertenezca la mujer evaluada, ya que pacientes que presentan niveles por debajo de este punto no solo poseen una menor cantidad de ovocitos disponibles, sino que también pueden tener una menor calidad ovocitaria, lo cual está reflejado en menores tasas de fertilización a pesar de una buena calidad espermática. Sin embargo, es difícil negar el tratamiento a estas parejas, además de que algunas mujeres con niveles de HAM bajos, donde se esperaría fracaso de la FIV, tuvieron éxito.

Por lo que a partir de los valores de HAM, se pueden predecir respuestas a estimulación ovárica tanto baja como hiperestimulación.^{xv}

Una óptima evaluación de la mujer y el conocimiento de su capacidad de respuesta ovárica son esenciales para realizar un correcto tratamiento y ofrecerle un pronóstico preciso.

Niveles séricos HAM reflejen la reserva ovárica potencial con alta exactitud. La medición de HAM es el mejor marcador pronóstico de respuesta ovárica para estimulación ovárica controlada en ciclos de fecundación in vitro, especialmente cuando se determina como un solo marcador.

Niveles de HAM tienen valor pronóstico para el número de óvulos obtenido durante la aspiración folicular y el número de ciclos de cancelados. Comparada con la cuenta folicular antral, concentraciones de HAM pueden predecir de forma fiable la pobre respuesta a la estimulación ovárica en ciclos de FIV.

La HAM permite a los médicos optimizar los diferentes protocolos de estimulación, y conocer la dosis inicial ideal de FSH en dichos tratamientos, ya que mujeres con niveles bajos de HAM requerirán dosis más altas en comparación con aquellas que tengan niveles más elevados.



Se considera también un predictor de SHO independiente de la edad y el índice de masa corporal. Varios estudios relacionan los niveles de HAM con el SHO, encontrando como valores de corte que pueden predecir dicha condición entre 3.5 y 5.0 ng/ml.^{xvi}

La concentración de HAM, tanto sérica como folicular, es mejor predictor de reserva ovárica y de respuesta ovárica que la FSH.^{xvii}

Durante la estimulación ovárica con FSH, hay una disminución de la HAM, debidamente secundaria a que la FSH estimula el crecimiento de los folículos, que la HAM tiene como función limitar, perdiendo expresión, además también se cree secundaria a el aumento del estradiol al incrementarse la concentración sérica por la producción en los folículos estimulados.

Los valores de corte publicados para predecir la baja respuesta varían entre 0,7 y 1,3 ng/ml, aunque según los criterios de Bolonia (2011) se considera una prueba de reserva ovárica anormal una AMH < 0,5-1,1 ng/ml. En la práctica clínica, se considera una probable baja respuesta ovárica niveles < 1 ng/ml en mujeres menores de 38 años y con ciclos regulares. Los valores de corte para predecir la alta respuesta son de 3,5 a 3,9 ng/ml si se ha utilizado el AMH gen II Assay®. Es importante tener en cuenta que los valores de AMH que se obtienen con el nuevo kit automatizado pueden ser un 20% inferiores a los obtenidos con el Gen II, y un 30% por debajo de los procedentes de ensayos AnshLabs.^{xviii}

Concluyendo que los mejores niveles de predicción de reserva ovárica y buena respuesta a la estimulación se encuentran entre 1 y 3.5ng/ml.

Objetivo

Determinar la dosis de estimulación en donantes en tratamientos de reproducción asistida con FSHr y fase lútea tardía, a partir de niveles de HAM, edad e IMC, dentro de un grupo de mujeres de 18 y 26 años.



Objetivos específicos

Predecir la dosis a utilizar en cada donante dependiendo los niveles de HAM e IMC.

Determinar si hay factores demográficos que predican la dosis a utilizar para obtener una adecuada respuesta ovárica.

Conocer los resultados reproductivos en donantes respecto a respuesta ovocitaria, desarrollo de blastocisto, tasa de embarazo y nacido vivo

Valorar si existe relación de la edad y peso según niveles de HAM para respuesta ovárica a la estimulación con FSHr en grupo de mujeres donadoras de entre 18 y 26 años de edad,

Determinar si los niveles de HAM predican la respuesta ovárica y resultados reproductivos.

Hipótesis Nula

No existe relación entre la HAM el IMC para estimar la dosis de estimulación en donantes en tratamientos de reproducción asistida con FSHr y fase lútea tardía, dentro de un grupo de mujeres de 18 y 26 años.

Hipótesis alterna (de investigación)

Existe relación entre la HAM el IMC para estimar la dosis de estimulación en donantes en tratamientos de reproducción asistida con FSHr y fase lútea tardía, dentro de un grupo de mujeres de 18 y 26 años.



Material y Métodos



Diseño del Estudio:

- Observacional, Retrospectivo, de causas e incidencias, analítico e inferencial.

Realizado en el Instituto para el estudio de la concepción Humana (IECH), Monterrey, Nuevo León, México, en donadoras sometidas a estimulación ovárica de junio de 2014 a diciembre de 2017.

Criterios de Inclusión

- Mujeres entre 18 a 26 años.
- Aceptadas como Donadoras (protocolo de estudio y consentimientos informados respectivos de procedimiento y anonimato).
- Ciclos de Donación de óvulos en fresco realizados entre junio de 2014 y diciembre de 2017.
- Contar con niveles séricos de HAM, peso, talla, dosis utilizada, días de estimulación y resultados reproductivos.

Criterios de exclusión

- Ciclos de Donación de óvulos en fresco realizados fuera del periodo entre junio de 2014 y diciembre de 2017.
- No contar con peso y talla en el expediente.
- No disponer de niveles séricos de HAM.
- Expedientes clínicos depurados.
- No contar con resultados reproductivos de recién nacido vivo (en caso de haberlo obtenido).



Metodología

Se seleccionan ciclos de mujeres donadoras, aprobadas por el Instituto con la siguiente metodología.

Por medio de difusión en medios de comunicación se invita a la comunidad a participar en los programas de donación de óvulos, a aquellas mujeres de entre 18 y 26 años de edad. Concretan una cita a recibir los informes correspondientes y la dinámica del proceso.

Se explica ampliamente la finalidad del procedimiento, la duración, la necesidad de utilizar anticonceptivos antes de la programación para sincronizar la fecha probable de menstruación, así como el anonimato tanto de donadoras como receptoras, las necesidades del programa referente a la asistencia a la aplicación de los medicamentos, monitoreos y el procedimiento en sí, las posibles complicaciones y efectos secundarios durante la estimulación (cancelación por baja respuesta, Síndrome de Hiperestimulación Ovárica entre otros) y la aspiración (dolor, infección, sangrado, lesión de órganos pélvicos internos (con la consiguiente reparación quirúrgica)) la importancia de la abstinencia sexual y riesgos de embarazo, así como el tiempo estimado de recuperación.

Se realiza entrevista donde se consigna, nombre, edad, profesión, escolaridad, estado civil, teléfonos, el medio por el cual se enteró del programa, motivo por el cual le gustaría participar, se interrogan antecedentes tanto familiares como personales tales como diabetes, hipertensión, trastornos neurológicos, endocrinos, cardiacos, psiquiátricos, genéticos, infertilidad entre otros.

Entre los antecedentes personales se incluyen los quirúrgicos, alérgicos y traumatológicos, grupo sanguíneo, peso y talla. Referente a los antecedentes ginecológicos, se interroga, menarca, ritmo menstrual, duración del mismo, si existe dismenorrea, fertilidad comprobada con el número de



gestas, si han llegado a término y patologías asociadas durante la gestación, en caso de tener hijos, la vía de nacimiento y si son sanos.

Una vez que continúan con el interés de participar, se informa la necesidad de realizar una revisión ginecológica con un ultrasonido vaginal el cual de ser aceptadas se realizara en repetidas ocasiones, exámenes de laboratorio séricos (hormona antimulleriana, prolactina, TSH, HIV, Hepatitis B y C, VDRL, Citomegalovirus IgM y Grupo y Rh), anti-doping urinario (cocaína, marihuana, anfetaminas, opiáceos y metanfetaminas) realizado en nuestro laboratorio; si son aceptadas para nuevo ciclo, los estudios infecciosos se actualizan en caso de haber transcurridos 6 meses desde la última toma.

Se realiza toma de exudado endocervical y se envía a laboratorio externo para ser analizado para Chlamydia trachomatis, Neisseria gonorrea y VPH con técnica de PCR, se envía también muestra para citología vaginal con tinción de Papanicolaou en base liquida. Es necesario se encuentren en valores normales para ser aprobada, así como una valoración psicológica.

La valoración pélvica ultrasonográfica se realiza con ultrasonido Mindray Modelo Z6, transductor endocavitario 6CV1P, se realiza por el director del programa y residentes del postgrado de biología de la Reproducción Humana bajo su supervisión.

Los estudios de hormona Antimulleriana (muestra sérica) se envían a procesar a Laboratorio Quest Diagnostic Incorporated, realizado con técnica de Elisa, los resultados se consultan en el portal Quanun eLabs, y se reportan en ng/ml en 3-7 días.

La valoración Psicológica se realiza por experto, considerando indicadores tanto positivos y negativos que aportan cualidades necesarias en una Donante.

Como indicadores positivos se consideran la ausencia de psicopatología significativa, ausencia de estresores inusuales de la vida, uso de habilidades adaptativas de afrontamiento, capacidad para proporcionar un consentimiento informado y comprender los protocolos médicos cuando sea



necesario, relaciones interpersonales y / o maritales de apoyo y estables, estabilidad económica, pruebas psicológicas estandarizadas dentro de los límites normales, así como estabilidad educativa y laboral

Dentro de los indicadores negativos a valorar, se incluyen trastorno significativo del eje I o II del DSM-IV, incluida la puntuación de la prueba psicológica estandarizada, que es dos desviaciones estándar por encima de la media. Estrés actual significativo, estilo de vida caótico, impulsividad, habilidades de afrontamiento pobres y juicio, incapacidad para proporcionar un consentimiento informado y comprender los protocolos médicos cuando sea necesario, según su estado civil inestabilidad matrimonial, falta de sistema de apoyo social, inestabilidad económica significativa o necesidad financiera, antecedentes positivos o antecedentes familiares de trastornos psiquiátricos hereditarios o abuso / dependencia de sustancias, historial significativo de antecedentes educativos erráticos o empleo, uso actual de medicamentos psicotrópicos, historial de abuso sexual o físico sin tratamiento profesional para el donante, historial de dificultades legales/sociopatía.

Una vez valoradas, recibimos vía correo electrónico, la notificación de aprobación de cada una de las candidatas.

Una vez aprobadas, se les informa por teléfono y se confirma la disponibilidad a participar, se cita a firmar consentimientos informados del procedimiento de estimulación, revisiones ginecologías, aspiración folicular, anestesia, procedimientos quirúrgicos en caso necesario y anonimato, se solicita fotografías para completar su expediente de frente y perfil.

Entran en el programa de donación donde el personal asignado valora los expedientes clínicos, fotografías de donadoras y receptoras y valora la compatibilidad según la priorización de características deseables de la receptora y pareja y similitud de características físicas.

En su siguiente menstruación se inicia con hormonal oral combinado (0.03 mg de etinilestradiol y 0.15 mg de levonorgestrel) 1 tableta al día vía oral por las noches durante entre 16 y 42 días,



dependiendo la necesidad para sincronizar con la receptora, se entrega un protocolo por escrito detallado el cual indica cuando debe suspender el hormonal combinado, cuando aproximadamente tendrá su menstruación (la necesidad de confirmarlo por ser una fecha tentativa), cuando acudir a la aplicación del agonista (Acetato de leuprolide 0.05u) subcutáneo, aproximadamente 7 días antes de la fecha probable de menstruación, el día 2 del sangrado se realiza monitoreo vía vaginal, confirmando la buena condición ginecológica de la donante, descartando quistes ováricos, y valorando reserva folicular antral, se toma estradiol sérico y pasa aplicaciones a iniciar FSHr subcutáneo (la dosis varía según los antecedentes, cuenta folicular antral, hormona antimulleriana, y respuesta previa en caso haber participado con anterioridad). Las aplicaciones se realizan por personal de enfermería capacitado y con experiencia. Se entrega Azitromicina 500 mg a tomar vía oral en 3 dosis cada 12 horas a partir de ese día, y óvulos vaginales (acetato de fluocinolona, metronidazol y nistatina) aplicar 5días al terminar periodo menstrual durante la noche.

Se revaloran el día 6 del ciclo con monitoreo folicular con ultrasonido vaginal, dependiendo respuesta se realizan modificaciones a la dosis en caso de ser necesario, y nuevamente el día 9 del ciclo para determinar la fecha y hora de aspiración, los días de aspiración según dosis respuesta van del 11 al 13 del ciclo con mayor frecuencia el día 12.

Se indica aplicación intramuscular de Gonadotrofina Coriónica Humana urinaria 10,000 UI 34 horas previas al procedimiento y se informa a quirófano y a laboratorio, entregando el expediente correspondiente para valoración en equipo del caso, avisando a la contraparte para la obtención de la muestra seminal el mismo día con las medidas de protección de confidencialidad.

Previo al día de la aspiración y una vez informados, el laboratorio procede a preparar el medio y material para la captura ovocitaria, tubos de fondo redondo, cajas de Petri, cajas de doble pozo, de 4 pozos, frascos para recolectar muestra (ya que estos tienen que estar ventilados antes de ser utilizados).



El medio se prepara y se coloca en las cajas dentro de las incubadoras un día antes, puesto que tiene que estar equilibrado con un PH necesario, para que los ovocitos no se vean afectados.

El día programado se realiza aspiración folicular, se recolecta en tubos de 14ml de fondo redondo previamente calentados a 37°C con un sistema de presión negativa a 100-150 mmhg.

Se entregan tubos al laboratorio de manera simultánea a su obtención, donde los biólogos realizan la búsqueda del complejo CCO (cumulus corona ovocito) bajo estereoscopio Nikon dentro de una campana de flujo laminar (K-System).

Una vez identificado el CCO, los biólogos capturan con micro pipeta de 20-200 micro litros y lo llevan a la primera caja (caja de doble pozo de lavado (Falcón)) la cual contiene 2 ml de medio G-mops (Vitrolife), cubierta con 2 ml de aceite Ovoil (Vitrolife), una vez realizado este procedimiento, se pasa a una segunda caja que contiene el mismo medio y aceite que la primera, a 37°C, donde permanecerá hasta obtener al menos 10 ovocitos, hayan transcurrido 10 minutos o hasta el final de la aspiración, lo primero que ocurra.

Una vez pasado cualquiera de los anteriores, los CCO se colocan en medio de cultivo CSC (Irvin scientific) en cajas de 4 pozos (Nunc) donde se dejaran incubando de 2-4 horas, en una incubadora tri gas K-185 (K-system), cumplido este tiempo, los CCO es que se vaya a aplicar técnica de ICSI, se decumulan con enzima Hialuronidasa, y los asignados para técnica de FIV se calcula la concentración espermática para ser inseminados.

El día de la aspiración se solicita a la pareja una muestra seminal la cual se obtiene en las salas de masturbación del instituto, con la finalidad de conservar temperatura y controlar tiempo entre la obtención y la entrega de la misma, esta muestra es recibida por el servicio de Andrología dentro del Laboratorio, donde se revisan primeramente las características macroscópicas. Como es el aspecto de la muestra, la presencia de gel, la viscosidad, y pH.



Una vez calificado lo anterior, se procede a realizar la cuenta colocando 10 mcl en una cámara de Makler, en un microscopio óptico de luz, con el objetivo de 20X, para evaluar las características microscópicas, como es la cuenta, cuenta por mililitro, motilidad, cuenta total motil (CTM) y la morfología, dependiendo de las características de la muestra (Parámetros de la OMS 2010), y una vez determinada la técnica a utilizar, se procede a preparar la muestra.

La técnica de preparación de la técnica que se utiliza es gradientes de densidad, de 90%, 70%, 45%, preparados con medio Sperm Rinse y Sperm Grand (Vitrolife).

Una vez que se examinó la muestra y se evaluaron las características macroscópicas y microscópicas, generalmente se le agrega 2 ml de medio Sperm Rinse para disminuir la viscosidad o disolver los fragmentos de gel, por lo general se preparan 2 tubos cónicos cada uno con 2 ml de los 3 gradientes comenzando con el de 90%, 75% y 45% respectivamente, inmediatamente después se coloca la muestra, se centrifugan a 1500 rpm durante 15 minutos, pasado este tiempo, se recupera el pellet de la muestra en el fondo del tubo cónico descartando el sobrenadante que contiene los espermatozoides inmóviles, no vitales, leucocitos, células redondas, bacterias etc.; dentro de los gradientes de densidad.

El pellet se traslada a otro tubo cónico que contiene 2 ml de medio de lavado Sperm Rinse, se repite centrifugado a las mismas revoluciones durante 5 minutos, se descarta el sobrenadante, se le coloca 1 ml de medio Sperm Rinse, se revalora la cuenta, motilidad, CTM y morfología post capacitación y se realiza un segundo lavado. Posteriormente se descarta el sobrenadante y se coloca medio de cultivo CSC (Irvin), ya que es el mismo en donde están los ovocitos, y se le realiza un Swim Up.

En las pacientes en quienes se realizara FIV se calcula la concentración de espermias a utilizar a partir de la CTM (no más de 15,000) y morfología, una vez obtenido la cuenta con la cual vamos a inseminar se le agregan a los 2 pozos de abajo y se deja incubar aproximadamente 10 min, después de transcurrido este tiempo se observan bajo el microscopio invertido con el objetivo de 20x y se valora la cantidad de la muestra donde se deben observar por lo menos 30



espermatozoides motiles por campo una vez echo esta evaluación se procede a tomar los ovocitos seleccionados para FIV y se colocan en los pozos donde depositamos la muestra, se regresan a la incubadora y permanecen hasta el momento en que se procede a la fertilización.

En aquellos ovocitos asignados para ICSI, previamente se prepara una caja de decumulación, esta se prepara en una caja de doble pozo, en el pozo central se coloca 1 ml de g-mops y se le añaden 80 microlitros de Hialuronidasa y en el pozo secundario se colocan 5-6 gotas de 15 microlitros de g-mops e inmediatamente después se cubre con una capa de 8 ml de OVOIL y se deja calentar por lo menos 20 min a 37° C.

Transcurrido este tiempo y teniendo seleccionados los ovocitos que se van a decumular se depositan los ovocitos dentro de esta caja previamente preparada con la enzima y con movimientos mecánicos con la pipeta se suben y bajan suavemente y con movimientos delicados para que las células de la granulosa comiencen a desprenderse del cúmulo, dentro de esta solución no deben pasar más de 1 minuto e inmediatamente se toman con un stripper tip de 175 micras de diámetro y se llevan a las gotas de g-mops que se preparan en el pozo secundario donde se lavaran de la enzima y al mismo tiempo se terminaran de desprender las células de la granulosa.

Posteriormente se cambia el stripper tip a uno de 150 micras, la razón por la cual disminuye de tamaño es para que el ovocito al entrar al stripper tip se desprenda de las células de la granulosa que aun esta adheridas a los cúmulos y solo queda con su zona pelúcida.

Una vez lavados los ovocitos se regresan a la caja de cultivo donde se clasificaran dependiendo su grado de madurez, los que cuentan con cuerpo polar MII, los que aún no tienen cuerpo polar MI y los que aun presentan la vesicular germinal y también los que se fracturen o degenerados.

Una vez que se decumularon los ovocitos con la enzima Hialuronidasa se dejan incubar aproximadamente 1 hora, se prepara una caja de ICSI con gotas de medio tamponado G-mops, una gota de PVP (Irvin scientific) y se cubre con aceite.



Con la aguja de ICSI se toma el espermatozoide y se lleva a la gota de PVP para inmovilizarlo dándole unos suaves golpes en el flagelo pero siempre cuidando de no tocar la parte intermedia ni la cabeza del espermatozoide, una vez inmovilizado el espermatozoide se toma de la parte del flagelo con la aguja de ICSI y se lleva a la gota que contiene el ovocito que se inyectara, a continuación se toma el ovocito con la aguja Holding. El ovocito se coloca con el cuerpo polar orientado hacia las 12 o las 6 conforme a las manecillas del reloj, una vez orientado el cuerpo polar se enfoca la membrana del ovocito y la aguja del ICSI en el mismo plano y con un movimiento suave pero firme se inyecta el espermatozoide dentro teniendo cuidado de no romper la membrana del ovocito. Terminando de realizar el ICSI, los ovocitos inyectados se colocan en una caja de 4 pozos que contiene medio de cultivo CSC.

La fertilización se evalúa entre las 16 – 18 horas después de que los ovocitos son inyectados o inseminados. Una fertilización normal es considerada cuando están presentes los 2 cuerpos polares y los 2 pronúcleos.

Se valora nuevamente a las 48 horas o día 2, debiendo tener de 2-4 blastómeros, se debe observar la mono nucleación y debe tener menos del 10 % de fragmentos.

A las 72 horas o su día 3 deben tener entre 6-8 blastómeras, estas deben ser sincrónicas en su tamaño. El día 4 se mantienen en la incubadora. Y se revisan nuevamente previo a la transferencia en día 5 de maduración esperando encontrar blastocistos, y seleccionando el mejor para la transferencia. En caso de tener embriones excedentes, se vitrifican para siguientes intentos.

Las pacientes receptoras, se programan a menstruar de 2-4 días antes de la donadora y no se inicia estimulación de la donadora hasta que se confirme el inicio de la receptora, esta se estimula con 6 mg al día de estradiol en 3 dosis, y se confirma la buena condición del endometrio previo al día de aspiración, día en que agrega progesterona vía vaginal 800 mg en 2 dosis, se cita a transferencia embrionaria y se solicita B-hcg cuantitativa 2 semanas posteriores, con las indicaciones y datos de



alarma. Ambas partes durante el proceso toman ácido fólico y multivitamínico durante todo el proceso.

Se recaba el resultado de la prueba, se da seguimiento a embarazo clínico, sacos y frecuencia cardiaca, así como recién nacido vivo y el peso.

Análisis estadístico

Se estudiaron un total de 534 ciclos de donación con estimulación ovárica con FSHr y protocolo largo de agonista entre junio de 2014 y diciembre de 2017 en el Instituto para el Estudio de la Concepción Humana (IECH) en Monterrey, N.L..

Se excluyeron un total de 230 casos por no cumplir criterios de inclusión.

Se realizó un análisis en 314 casos, considerando edad de las donadoras, niveles de hormona antimulleriana, IMC y dosis utilizadas para valorar los resultados reproductivos.

Método de análisis

Se dividió la muestra de acuerdo con el nivel de HAM para comparaciones generales realizándose ANOVA para la comparación de variables cuantitativas, y χ^2 para variables categóricas. Para los balances de comparación de resultados reproductivos se empleó prueba exacta de Fisher o distribución χ^2 según sea el caso. Adicionalmente se emplearon regresiones multivariadas por pasos para buscar las asociaciones en la muestra, Análisis de Relación de Varianzas y Construcción del modelo predictivo estudiando la distribución poisson de la muestra.

Herramientas de Análisis



IBM SPSS 25, R 3.4.3 – 1.1.383

Calculo de muestra

Se realizó la estimación de muestra en base a una proporción de pacientes con HAM baja de 30%, y un 70% con HAM normal, para un RR de 0.428 a observar. Con un nivel de confianza del 95% y una precisión de 80% se calcula una muestra de 234 pacientes a capturar

Demografía y Antecedentes

Se incluyeron en el estudio un total de 314 donantes entre 18 y 26 años de edad, algunos casos donación de primera vez, y algunas otras con ciclos repetidos, se dividieron en 3 grupos a partir de los niveles de HAM, el Grupo 1 (baja) con niveles < 2.5 ng/ml, Grupo 2 (intermedia) de 2.5-3.5 ng/ml, y Grupo 3 (alta) > 3.5 ng/ml.

Las edades corresponden a 23.76, ± 1.2 , 23.04, ± 1.92 y 22.03, ± 1.87 respectivamente, los pesos fluctuaron entre 43 y 85 kg, con media por grupo de 64.41, ± 8.61 , 60.37, ± 7.68 y 60.44, ± 7.84 , IMC de 24.18, ± 3.39 , 22.9, ± 2.7 y 23.01, ± 3.18 , con un rango entre 17 y 31.

Respecto a las dosis utilizadas se observó una diferencia significativa en los grupos, con 1661.76, ± 276.29 , 1708, ± 237.57 y 1538.75, ± 258.15 , requiriéndose menos dosis en el grupo con mayor nivel de HAM. Los días de estimulación fluctuaron entre 8 y 9 días, y no hubo diferencia significativa entre los días de aspiración, en su mayoría realizándose los días 12 del ciclo.



No hubo diferencia significativa entre los ovocitos capturados $10.59, \pm 3.62$ en grupo de dosis baja, $10.17, \pm 3.88$ en dosis media y $10.79, \pm 3.32$ en dosis alta, ni la cantidad de ovocitos maduros, $9.88, \pm 3.35$, $9.24, \pm 3.76$ y $9.9, \pm 3.49$ respectivamente (P. Val 0.39). Tabla 1.

TABLA 1

Generales

Grupo	1	2	3	F	P.Val
HAM	BAJA	INTERMEDIA	ALTA		
Total pacientes	56	96	162		
DTOTAL	1661.76, ± 276.29	1708, ± 237.57	1538.75, $\pm 258.15^*$	13.3	<0.001
EDADDON3	23.76, ± 1.2	23.04, ± 1.92	22.03, $\pm 1.87^*$	12.324	<0.001
PESO	64.41, ± 8.61	60.37, ± 7.68	60.44, ± 7.84	2.069	0.129
TALLA	1.63, ± 0.06	1.62, ± 0.05	1.62, ± 0.06	0.387	0.68
IMC	24.18, ± 3.39	22.9, ± 2.7	23.01, ± 3.18	1.319	0.269
DIAASP	11.59, ± 1.23	11.88, ± 0.75	11.78, ± 0.68	1.168	0.313
OVOT	10.59, ± 3.62	10.17, ± 3.88	10.79, ± 3.32	0.809	0.446
OVO1	9.88, ± 3.35	9.24, ± 3.76	9.9, ± 3.49	0.946	0.39
OVO2	1, ± 2	1, ± 1	2, ± 4	1.019	0.366
OVO3	1, ± 1	0, ± 1	1, ± 3	1.111	0.337
OVO4	0, \pm	1, ± 1	1, ± 1	0.459	0.635
INYECESEM	9.88, ± 3.35	9.52, ± 3.47	9.81, ± 3.36	0.222	0.801
FERT	5.53, ± 3.08	6.42, ± 2.9	6.29, ± 3.08	0.627	0.535
FERT2	, \pm	, \pm	, \pm	0.478	0.621
DIV48	5.53, ± 3.08	6.31, ± 3.05	6.13, ± 3.04	0.908	0.405
DIV72	4.88, ± 2.55	5.92, ± 2.99	5.78, ± 2.9	0.105	0.9
DIATRANSF	3.81, ± 2.01	4.01, ± 1.61	3.94, ± 1.77	0.722	0.487



TABLA 1. Se agrupa el total de pacientes en 3 grupos. Grupo 1. Baja. HAM menor a 2.5 ng/dl. Grupo 2. Intermedia. HAM de 2.5-3.5 ng/dl. Grupo 3. Alto. HAM mayor a 3.6 ng/dl. Se valora DTotal. Dosis total aplicada en ciclo de estimulación. EDADDON3, edad de la donante. Peso, talla, IMC, DASP día de aspiración, OVOT Ovocitos capturados, OVO 1, 2, 3, 4, calidad de ovocitos obtenidos, INYECINSEM ovocitos maduros con los cuales se realizó técnica de FIV convencional o ICSI, FERT número de ovocitos fertilizados, DIV48 72: número de embriones según las horas de evolución. DIA TRANSF: Día de transferencia.

Comparando las características de la espermatozootecnia, no se encontró diferencia significativa entre grupos, teniendo niveles similares haciéndolos comparativos entre sí. Tabla 2.

TABLA 2	Factor Masculino			F	P.Val
	1	2	3		
Grupo	BAJA	INTERMEDIA	ALTA		
HAM					
Total pacientes	56	75	162		
VOL	3.78, \pm 2.03	3.56, \pm 1.66	3.95, \pm 2.07	1.084	0.34
CONC	71.76, \pm 47.93	71.24, \pm 42.3	65.24, \pm 44.53	0.56	0.572
MOT	45.88, \pm 13.61	43.73, \pm 13.65	45.06, \pm 11.6	0.402	0.67
FN	3.82, \pm 7.13	3.01, \pm 1.94	2.67, \pm 1.46	1.796	0.168
CTM	137.19, \pm 124.39	108.9, \pm 90.54	114.94, \pm 103.24	0.588	0.556

Tabla2. VOL: volumen seminal. CONC: concentración espermática millones/ml. MOT: Motilidad expresada en porcentaje. FN: Porcentaje de Formas Normales. CTM. Cuenta Total Motil.

Cuando se comparan los resultados de la prueba de embarazo según los niveles espermáticos, se observa que hay una diferencia significativa entre la Cuenta Total Motil (CTM), encontrando que entre mayor sea la cuenta, se asocia a mayores pruebas de embarazo positiva. Tabla 3.

TABLA 3 Resultados de PIE
Según valores de Espermograma



PIE	Negativo	Positivo	P.Val	T. Test
VOL	3.34, ±1.88	3.18, ±1.55	0.273	0.543
CONC	66.52, ±47.44	80.15, ±49.97	0.331	-1.589
MOT	44.75, ±12.7	45.5, ±11.74	0.929	-0.355
FN	2.98, ±1.5	3.45, ±3.56	0.22	-0.928
CTM	92.84, ±76.61	125.99, ±111.46	0.005	-1.929

Tabla3. VOL: volumen seminal. CONC: concentración espermática millones/ml. MOT: Motilidad expresada en porcentaje. FN: Porcentaje de Formas Normales. CTM. Cuenta Total Motil.

Analizando los resultados de embarazo positivo, y subdividiendo por grupos con y sin factor masculino y según los niveles de HAM, no hubo diferencias significativas. Sin embargo se observó mayor porcentaje de embarazos en aquellos con factor masculino con HAM baja e intermedia.

Tabla 4.

TABLA 4		Factor Masculino			
	Grupo	FM	Sin FM	P.Val	ODD
		PIE POSITIVO	PIE POSITIVO		
HAM	1	9 (81.82%)	14 (66.67%)	0.4414	2.25
	2	12 (66.67%)	10 (43.48%)	0.2088	2.6
	3	17 (54.84%)	22 (55%)	0.9999	0.9935

Tabla 4. FM: Factor masculino. Sin FM: Sin factor masculino

Comparando los resultados de la prueba de embarazo y analizándolos por Factor masculino, ausencia o presencia, no hubo diferencias significativas. Siendo mayor el porcentaje de prueba positiva en aquellas parejas con antecedente de Factor masculino. Valorando entre grupos de niveles de HAM, se observa un 27.06% de pruebas positivas en el grupo de HAM baja Grupo1, 27.061% en grupo 2 (HAM intermedia) y 45.88% en el Grupo 3. Tabla 5.



TABLA 5

**Pruebas de Embarazo según Factor Masculino
Pruebas de Embarazo según niveles HAM**

Resultado de PIE		Negativo	Positivo	P.Val	ODD
FM	FM	22 (36.67%)	38 (45.24%)	0.3915	1.4269
	Sin FM	38 (63.33%)	46 (54.76%)	0.3915	0.7008
HAM Grupos	1	9 (14.75%)	23 (27.06%)	0.1042	2.1434
	2	19 (31.15%)	23 (27.06%)	0.7111	0.82
	3	33 (54.1%)	39 (45.88%)	0.4017	0.7194

Se realizó un análisis respecto a la fertilización de ovocitos capturados, formación de blastocisto, y prueba de embarazo positiva respecto a los grupos según niveles de HAM. Una vez obtenidos los ovocitos, determinado los maduros y elegido la técnica de fertilización según parámetros espermáticos, se realizó la fertilización por medio de FIV convencional e ICSI, en el Grupo 1 se obtuvo un porcentaje de fertilización del 6.26%, en el grupo 2: 41.01% y en el grupo 3: 52.73%, en cuanto el desarrollo a Blastocisto, los porcentajes que se obtuvieron fueron del 7.03%, 38.79% y 54.21% respectivamente en los grupos 1, 2 y 3; finalmente de los embriones transferidos el porcentaje de prueba de embarazo por orden de grupos fue de 4.94%, 46.91% y 48.15% respectivamente. Encontrando un gap amplio entre la respuesta en grupo bajo, y los otros dos grupos en los 3 parámetros valorados. Tabla 6.

TABLA 6

**Resultados
Fertilización / Formación de Blastocisto
/ Prueba de Embarazo Positiva**

GRUPOS	Total/+	Resultado	No formación	P. Val	ODD
FIV/ICSI		Fertilizados	No fertilizados		
1	168 (55.9%)	94 (6.26%)	74 (9.07%)	0.0149	0.6694
2	914 (67.39%)	616 (41.01%)	298 (36.52%)	0.0365	1.2085
3	1236 (64.07%)	792 (52.73%)	444 (54.41%)	0.4588	0.9346
Fertilizados		Blasto	No Blasto		
1	94 (47.87%)	45 (7.01%)	49 (5.7%)	0.3327	1.2476



	2	616 (40.4%)	249 (38.79%)	367 (42.67%)	0.1377	0.8511
	3	792 (43.93%)	348 (54.21%)	444 (51.63%)	0.3471	1.109
Transferencias			Pie pos	Negativo		
	1	26 (30.76%)	8 (4.94%)	18 (7.32%)	0.4101	0.658
	2	172 (44.18%)	76 (46.91%)	96 (39.02%)	0.1249	1.3808
	3	210 (37.14%)	78 (48.15%)	132 (53.66%)	0.3115	0.8019

Cuando lo dividimos por presencia o ausencia de factor masculino, no hubo diferencia significativa, salvo en el grupo 3 de HAM alta, en el cual se presenta una mayor fertilización en el grupo que no presenta factor masculino alterado. Tabla 7.

TABLA 7 Resultados Reproductivos según Factor Masculino

	Resultado	No formación	P.Val	ODD
FIV/ICSI	Fertilizados FM	Fertilizados no FM		
1	57 (51.35%)	37 (64.91%)	0.1032	0.5706
2	335 (65.43%)	281 (69.9%)	0.1559	0.815
3	300 (57.8%)	483 (68.61%)	<0.001	0.6268
Fertilizados	Blasto FM	Blasto no FM		
1	25 (43.86%)	20 (54.05%)	0.4	0.6641
2	128 (38.21%)	121 (43.06%)	0.2486	0.8177
3	138 (46%)	210 (43.48%)	0.5061	1.1074
Transferencias	Pie + FM	PIE + Sin FM		
1	4 (25%)	4 (25%)	0.9999	1
2	42 (44.21%)	32 (41.56%)	0.7585	1.1144
3	36 (37.11%)	42 (37.17%)	0.9999	0.9977

A partir de las pruebas de embarazo positivas, se realizó estudio retrospectivo valorando los resultados según el día de la transferencia embrionaria. En el grupo 1 se obtuvo un 50 % de pruebas de embarazo positivas, versus 40.91% en día 3 y día 5 de transferencia respectivamente, en el grupo 2 se obtuvo un 16% vs 37.5%, y en el grupo 3 un 30.77% vs 31.9% respectivamente. En general existen mayores probabilidades de lograr un embarazo cuando la transferencia embrionaria se realiza en día 5 etapa de blastocisto. Posteriormente se subdividen los resultados con y sin factor masculino expresados en la misma tabla. Tabla 8.

TABLA 8 Prueba de embarazo positiva



Según día de transferencia

Resultado de PIE	Total/ Día 5	Positivo	Positivo	P.Val	ODD
Cohorte		Día 3	Día 5		
1	36 (75%)	9 (50%)	27 (40.91%)	0.5935	0.6923
2	42 (78.56%)	9 (16.07%)	33 (37.5%)	0.008	3.1333
3	71 (77.46%)	16 (30.77%)	55 (31.98%)	0.9999	1.0577
Factor Masculino		Día 3	Día 5		
1	14 (85.75%)	2 (25%)	12 (33.33%)	0.9999	1.5
2	29 (79.3%)	6 (19.35%)	23 (39.66%)	0.0607	2.7381
3	37 (72.97%)	10 (31.25%)	27 (36%)	0.665	1.2375
Sin Factor Masculino		Día 3	Día 5		
1	22 (68.18%)	7 (70%)	15 (50%)	0.4645	0.4286
2	13 (76.92%)	3 (12%)	10 (33.33%)	0.1097	3.6667
3	34 (82.35)	6 (30%)	28 (28.87%)	0.9999	0.9469

Cuando comparamos los índices de fertilización por subgrupos, según niveles de HAM, encontramos un 57.74% de fertilización de ovocitos en aquellas mujeres estimuladas con niveles de HAM bajo (Grupo 1), 59.67% Grupo 2, y 56.18% en grupo 3, sin diferencia significativa P 0.13. En cuanto a la Implantación encontramos porcentajes de 36.82%, ± 43.73 , 29.95%, ± 38.28 y 37.91%, ± 44 respectivamente, con p. 0.473. Los porcentajes de Nacido Vivo que se obtuvieron por grupos fueron porcentajes de 75% ± 42.87 para grupo 1, 90% ± 30.51 para grupo 2 y finalmente 77.97% ± 40.76 , con P. 0.3. Tabla 9.

TABLA 9

Resultados Reproductivos Adicionales

Grupo	1	2	3	F	P.Val
HAM	BAJA	INTERMEDIA	ALTA		
	%	%	%		
FERTILIZACION	57.74, ± 25.05 (52)	59.67, ± 24.88 (81)	56.18, ± 26.02 (144)	0.49	0.613
IMPLANTACION	36.82, ± 43.73 (22)	29.95, ± 38.28 (29)	37.91, ± 44 (75)	0.752	0.473
NACIDO VIVO	75, ± 42.87 (18)	90, ± 30.51 (21)	77.97, ± 40.76 (59)	1.217	0.3

Continuando con la valoración por niveles de HAM, se valoró el número de óvulos obtenidos por grupo y la cantidad de óvulos maduros Metafase 2, en el grupo 1 de 550 aspirados, 508 estaban



maduros, en el Grupo 2 de 863, 759 y en el Grupo 3 de 1548 1362, de los óvulos maduros, se realizó fertilización ya sea convencional o ICSI, obteniendo por grupos 303, 494 y 857 respectivamente, lo equivalente a 59.65%, 65.09% y 62.92% por orden de grupos, el porcentaje de formación de blastocisto por grupo fue de 45.8% en el Grupo 1, 47.77% en el grupo 2 y 51.58% en el grupo 3. Tabla 10.

De los 139 blastocistos obtenidos, se transfirieron 84 y se vitrificaron 46 y 9 no cumplieron criterios de vitrificación; del Grupo 2 de 236 blastocistos se transfirieron 144 y se vitrificaron 72; del grupo 3 de 442 blastocistos, se transfirieron 224 y se vitrificaron 134 para Transferencia diferida. Tabla 10.

De los embriones transferidos, se seleccionó aquellos que contaban con prueba de embarazo, evolución a las 6 semanas valorando sacos y FCE (Frecuencia Cardíaca Embrionaria) así como resolución obstétrica, eliminando aquellos embarazos en curso o transferencias de las que no han pasado las 6 semanas.

Tomando lo anterior en cuenta se valoraron la evolución de 36 embriones transferidos en grupo 1, confirmando 12 FCE (33.33%), en el Grupo 2 de 42 embriones, 15 FCE (35.71%) y en el grupo 3 de 73 embriones, 30 FCE (41.1%). Y a su vez 11 nacidos vivos (91.67%), 15 (100%) y 26 (86.67%) respectivamente por grupo. Tabla 10.

TABLA 10 Resultados Reproductivos Adicionales

Resultado de PIE GRUPOS HAM	Proceso	Evolución	P.Val	ODD
	Óvulos	Óvulos Maduros		
1 Baja	550 (18.57%)	508 (92.36%)	<0.001	53.0211
2 Intermedia	863 (29.15%)	759 (87.95%)	<0.001	17.742
3 Alta	1548 (52.28%)	1362 (87.98%)	<0.001	6.684
	FIV/ICSI	Fertilizados		
1 Baja	508 (92.36%)	303 (59.65%)	<0.001	0.1222
2 Intermedia	759 (87.95%)	494 (65.09%)	<0.001	0.2554
3 Alta	1362 (87.98%)	857 (62.92%)	<0.001	0.2318
	Fertilizados	Blasto	Congelados	
1 Baja	303 (59.65%)	139 (45.87%)	46 (24.86%)	<0.001 0.5734
2 Intermedia	494 (65.09%)	236 (47.77%)	72 (23.38%)	<0.001 0.4907
3 Alta	857 (62.92%)	442 (51.58%)	134 (23.26%)	<0.001 0.6276



	Blasto	Transferidos		
1 Baja	139 (45.87%)	84 (60.43%)	0.0056	1.802
2 Intermedia	236 (47.77%)	144 (61.02%)	<0.001	1.7111
3 Alta	442 (51.58%)	224 (50.68%)	0.7698	0.9648
	Transferidos	Transferidos c PIE		
1 Baja	84 (60.43%)	36 (42.86%)	0.0127	0.4911
2 Intermedia	144 (61.02%)	42 (29.17%)	<0.001	0.2631
3 Alta	224 (50.68%)	73 (32.59%)	<0.001	0.4705
	Transferidos	FCE		
1 Baja	36 (42.86%)	12 (33.33%)	0.4169	0.6667
2 Intermedia	42 (29.17%)	15 (35.71%)	0.4495	1.3492
3 Alta	73 (32.59%)	30 (41.1%)	0.2037	1.4431
	FCE	NV		
1 Baja	12 (33.33%)	11 (91.67%)	<0.001	22
2 Intermedia	15 (35.71%)	15 (100%)	<0.001	--
3 Alta	30 (41.1%)	26 (86.67%)	<0.001	9.3167

Resultados

Analizando los datos anteriores y tomando en cuenta las dosis utilizadas por ciclo, obtenida sumando las dosis utilizadas por día de ciclo estimulado, y dividiendo el total de dosis entre 75UI, para obtener ampolletas aplicadas, se obtuvo el siguiente resultado, existe un impacto significativo entre la dosis utilizada y la HAM y el IMC.

En primera instancia se encontró la relación indirectamente proporcional existente entre la hormona antimulleriana y la dosis necesaria para una buena respuesta, esto es, a mayor HAM, menor dosis total necesaria para estimulación. Tabla 11.

TABLA 11 Regresión de Pearson

	HAM	Dosis Total	P.Val
DTOTAL	-0.379	1	<0.001
HAM	1	-0.379	
EDADDON	-0.185	0.157	0.003



PESO	0.044	0.027	0.487
TALLA	0.122	-0.118	0.054
IMC	-0.02	0.08	0.755
OVOT	-0.008	-0.114	0.905
OVO1	0.002	-0.074	0.978
OVO2	0.004	-0.124	0.969
OVO3	0.043	-0.14	0.759
OVO4	0.046	-0.173	0.774

El diseño inicial se basó en el número de ampollas de 75UI utilizadas de Gonadotropinas en el ciclo de estimulación, (se calculó la dosis total, número de UI aplicadas por el número de días de estimulación, dividido entre 75UI que contiene cada ampolla), encontrando, que entre la edad, el peso y los niveles de HAM, este último es el que tiene más impacto en la dosis empleada. Tabla 12.

TABLA 12 Modelo Multivariable

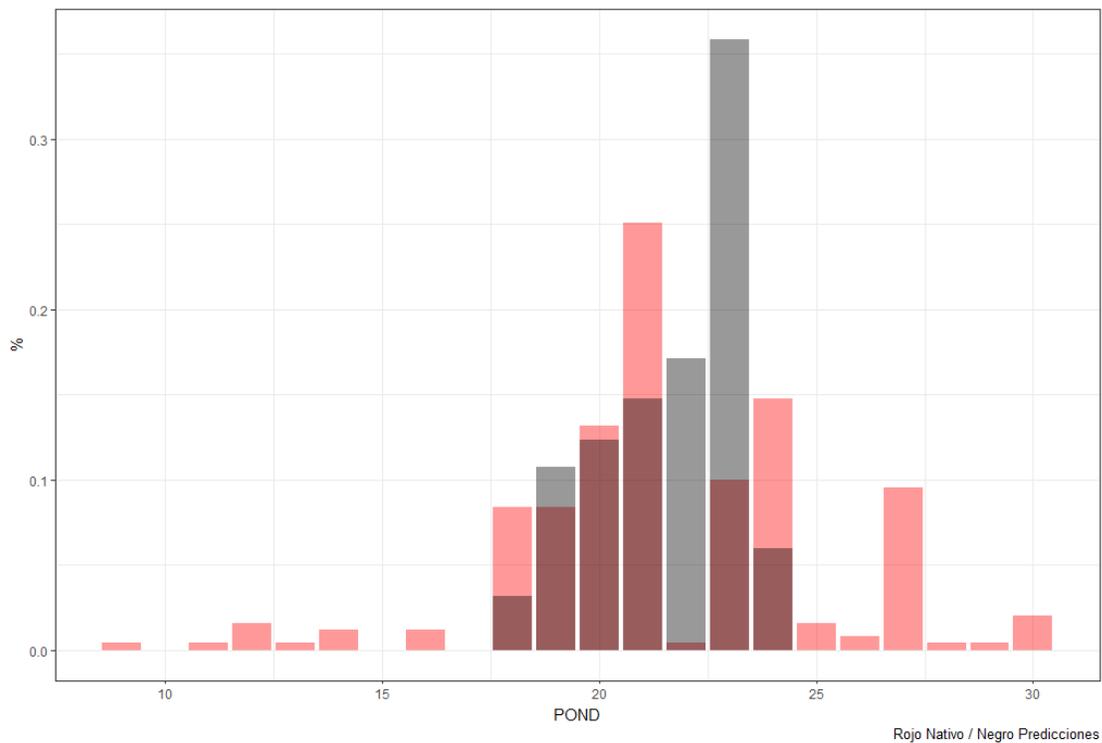
DTOTAL (AMPS 75)			
Modelo Inicial	B	CI	p
EDAD.DON	1.82	1.15 – 2.49	0.307
IMC	0.01	-0.02 – 0.03	0.462
HAM	0	-0.01 – 0.02	<.001
Modelo Aislado			
HAM	-0.02	-0.03 - -0.001	0.014

Se realizó de forma exploratoria regresiones a los datos cuantitativos sin encontrar relaciones moderadas o altas entre las variables, incluso, realizando regresión multivariable no se encontraron relaciones, solo una influencia leve en los niveles de HAM sobre la cantidad de dosis total de estimulación.

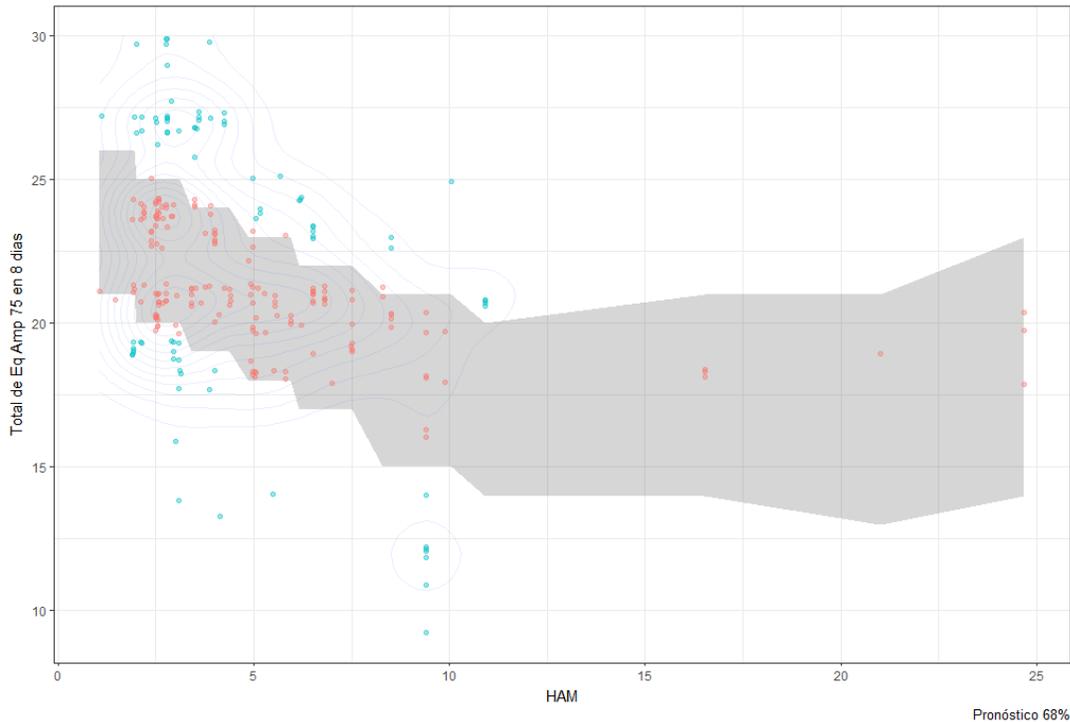


Se decidió cambiar el método de pronóstico a determinar el número de ampolletas de 75 a pronosticar, para esto se evaluó la distribución Poisson de probabilidad de cuentas de eventos, realizándose un primer modelo con Edad de Donadora, IMC y HAM, seleccionando solo a HAM como único factor pronóstico. Grafica 1.

Este modelo se cambió a formula de curva teniendo un nivel de error de ± 2 AMPS pudiendo pronosticar al 60% dela muestra para su solución de modelo lineal, y un nivel pronóstico del 68% para su modelo cuadrático. Grafica 2.



Grafica 1.



Grafica 2.

Como se deseaba una mejor precisión en la predicción de ampollas totales, se realizó un análisis de varianza de IMC y HAM, catalogando el producto del vector de varianza de cada paciente, y asignándole un valor Z, de modo que tuviéramos una variable que explicara las interacciones de IMC y HAM, con esta nueva variable “hamic”.

Se realizó un rastreo de eventos Poisson encontrando que el mejor nivel pronostico se tenía al elevar sus componentes hasta una 4ª potencia logrando un nivel pronóstico de $72\% \pm 2$ AMPS en la muestra, obteniendo los siguientes algoritmos.

$LN [y = 3.161649 + -0.018376 * HAM] = \#$ de Amps 75 para emplear según días de estimulación a determinar con un 60% de ajuste.

Obteniendo el número de ampollas a utilizar en un ciclo de estimulación ovárica según el nivel de HAM de cada donadora.



LN [$y = 3.237004533 + -0.043541542 * HAM + 0.001298383 * HAM^2$] 68% de predicción, IC 97.5% de nivel pronóstico.

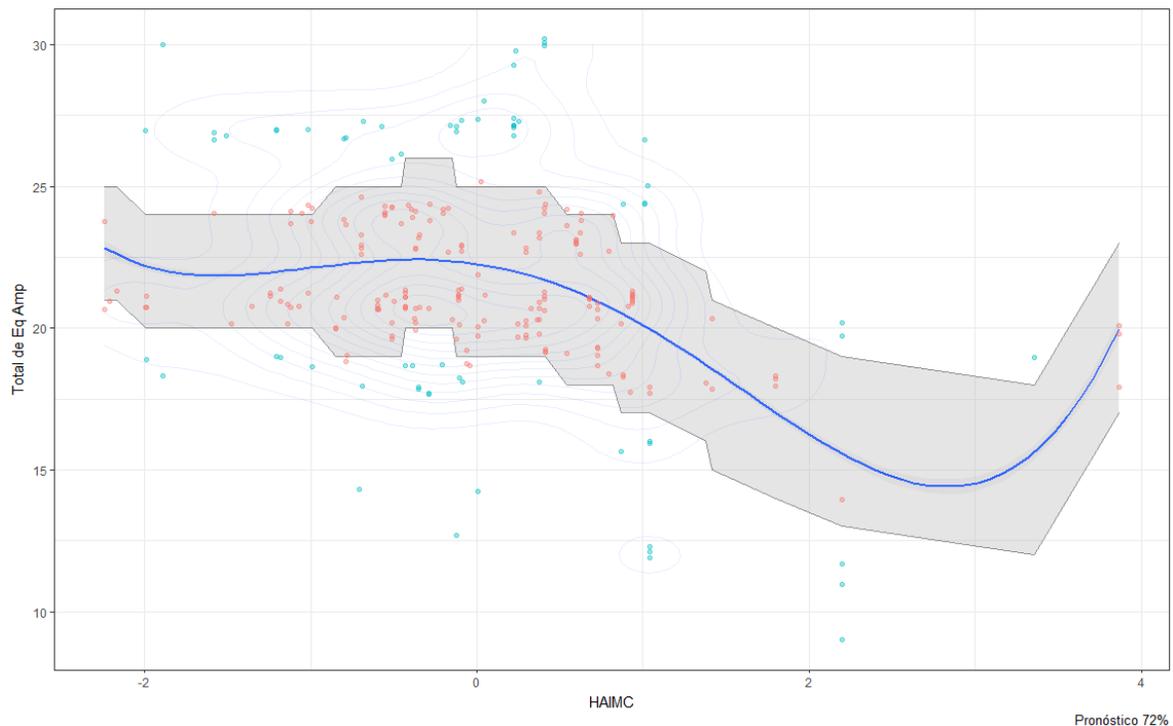
Análisis de componentes

$$HAMIC = 4.3837684 + 0.1946068 * HAM + -0.2319670 * IMC$$

QUAD POISSON

$$AMPS LN (y = 3.10965779 + -0.03763919 * hamic + -0.07150362 * hamic^2 + -0.01110877 * hamic^3 + 0.00773523 * hamic^4)$$

Mejorando el pronóstico al 72% cuando se toma en cuenta el nivel de HAM y el IMC en este grupo de mujeres donantes de entre 18 a 26 años de edad. Grafica 3.



Grafica 3.



Se diseñó una formula en Excel, donde anexando en las casillas el IMC y nivel de HAM de cada donante, se refleja la dosis total a emplear y determinando los días a estimular 8-9, según se prefiera, la dosis diaria a utilizar con rangos de más menos 2 ampolletas de dosis total. Figura 6 Ejemplos Figura 7 y 8.

	IMC			
	HAM			
	CI	MID	LOW	HIGH
	Total AMPS			
	DIAS			
	IU *DIA			

Figura 6

	IMC	18		
	HAM	5		
	CI	MID	LOW	HIGH
	Total AMPS	19	17	21
	DIAS	9		
	UI *DIA	158.33	141.67	175

	IMC	25		
	HAM	2		
	CI	MID	DE	HASTA
	Total AMPS	22	20	24
	DIAS	9		
	UI *DIA	183.33	166.67	200

Figura 7

Figura 8

Discusión

La primera donación de ovocitos con éxito se describió en 1983 en Australia. Entre las indicaciones se encuentran, una menopausia precoz, falla ovárica primaria, edad, indicaciones genéticas, y en algunos casos, aunque no sea una indicación absoluta, el antecedente de 3 o más FIV con óvulos propios sin éxito.^{xix}

La individualización del tratamiento en FIV a partir de características demográficas en cada paciente, permite mejorar las posibilidades de obtener una mejor respuesta ovocitaria, calidad embrionaria, embarazo e incluso recién nacido vivo, disminuyendo los riesgos iatrogénicos de la hiperestimulación estimulación ovárica o en otros casos baja respuesta.

HAM



Para poder determinar la predicción de la respuesta ovárica para cada individuo es importante determinar la normalidad y anormalidad de los niveles de HAM por cada grupo de edad.

En el 2014 el Human Reproduction, publicó un meta-análisis, donde recopila publicaciones hasta mayo de 2013 en Medline, EMBASE, Cochrane library y Web of Science referente a la inferencia de los marcadores ováricos como la HAM y la cuenta folicular antral en la estimulación ovárica controlada en los protocolos de FIV. ^{xx}

Se valoraron diversos estudios en los que se determina el riesgo de baja respuesta o hiper respuesta según los niveles séricos de HAM. Los valores de cohorte de baja respuesta de la HAM varían según la literatura, entre 0.1 y 2.97 ng/ml. ^{xxi} Figura 9.

Table 1 Cut-off values of anti-Müllerian hormone (AMH) for the prediction of poor- and hyper response in IVF cycles.

Study	Design	n	Assay used	Cut-off value		Sensitivity (%)	Specificity (%)	PPV (%)	NPV (%)	Conversion to AMH gen II assay*	
				ng/ml	pmol/l					ng/ml	pmol/l
Poor response											
van Rooij et al. (2002)	Prospective	119	IBC	0.3 ^b	2.1	60	89			0.3 ^b	2.1
Mutukrishna et al. (2004)	Prospective	69	IBC	0.1 ^b	0.7	87.5	72.2			0.1 ^b	0.7
Mutukrishna et al. (2005)	Retrospective	108	IBC	0.2 ^a	1.4	87	64			0.2 ^a	1.4
Tremellen et al. (2005)	Prospective	75	IBC	1.1	8.1 ^b	80	85			1.1	8.1 ^b
Peñarrubia et al. (2005)	Prospective	80	IBC	0.68	4.9 ^b	53	96			0.68	4.9 ^b
Ebner et al. (2006)	Prospective	141	IBC	1.66 ^b	11.9	69	86			1.66 ^b	11.9
Piccioglu et al. (2006)	Prospective	50	DSL	2.5 ^b	17.9	90.9	90.9			3.47	24.8
La Marca et al. (2007a)	Prospective	48	IBC	0.75 ^b	5.4	80	93			0.75 ^b	5.4
Féour et al. (2007)	Prospective	69	IBC	1.3 ^b	9.3	44	100			1.3 ^b	9.3
Smeenk et al. (2007)	Prospective	80	IBC	1.4 ^b	10	62	73			1.4 ^b	10
McLveen et al. (2007)	Prospective	84	IBC	1.25 ^b	8.9	58	75			1.25 ^b	8.9
Kwee et al. (2008)	Prospective	110	DSL	1.4 ^b	10	76	86			1.94	13.9
Nakhuda et al. (2007)	Prospective	77	DSL	0.35 ^b	2.5	90.1	81.8			0.48	3.5
Lakamege et al. (2007)	Retrospective	126	IBC	1.96	14 ^b	73	73			1.9	14 ^b
Nelson et al. (2007)	Prospective	340	DSL	0.7	5 ^b	75	91			0.97	6.95
Groth et al. (2008)	Prospective	132	DSL	1.26 ^b	9	97	41			1.75	12.51
Jaysprakash et al. (2008b)	Prospective	135	DSL	0.99 ^b	7.1	100	73			1.37	9.8
Riggs et al. (2008)	Retrospective	123	DSL	0.83 ^b	5.9	83	79			1.15	8.2
Egindy et al. (2008)	Prospective	33	IBC	2.7 ^b	19.3	83.3	82.4			2.7 ^b	19.3
Nardo et al. (2009)	Prospective	165	DSL	1 ^b	7.1	87	67			1.39	9.8
Barad et al. (2009)	Retrospective	76	DSL	0.5 ^b	3.6	87	84			0.69	5
Riggs et al. (2011)	Retrospective	78	DSL	1.5 ^b	10.7	86	78	16	99	2.1	14.8
Al-Azemi et al. (2011)	Prospective	356	IBC	1.36 ^b	9.7	75.5	74.8			1.36 ^b	9.7
Lee et al. (2011a, b)	Prospective	172	IBC	1.08 ^b	7.7	95	76			1.08 ^b	7.7
Buyuk et al. (2011)	Retrospective	73	DSL	0.6 ^b	4.3	70	70			0.83	6
Kurt et al. (2011)	Prospective	180	DSL	2.97 ^b	21.2	100	89.6			4.1	29.4
Lee et al. (2011a)	Retrospective	1538	DSL	0.68 ^b	4.8	64.7	85.1	92	47.8	0.94	6.67
Fridén et al. (2011)	Retrospective	127	DSL	0.7	5 ^b	75	75			0.97	6.95
Yoo et al. (2011)	Retrospective	91	IBC	0.95 ^b	6.8	73.3	82.1			0.95 ^b	6.8
Toikkas et al. (2011)	Prospective	90	DSL	2.74 ^b	19.6	69	70.5			3.8	27.2
Bonilla-Musoles et al. (2012)	Retrospective	143	IBC	1.3	9.28 ^b	69	64			1.3	9.28 ^b
Andikaart et al. (2012)	Retrospective	731	IBC	2.29	16.4 ^b	81	83			2.29	16.4 ^b
Sabwik et al. (2012)	Prospective	198	DSL	2 ^b	14.3	20	98			2.78	19.9

Figura 9



Uno de los estudios realizados con mayor número de pacientes en cuanto a baja respuesta es el realizado por Nelson en el 2007, en el cual incluyen 340 mujeres, las cuales tienen como punto de corte para baja respuesta un nivel de HAM de 0.7ng/ml, con 91% de especificidad, y 75% de sensibilidad^{xxii}.

Sin embargo el rango de respuesta varía en los estudios según lo considerado como mala respuesta variando los criterios de cancelación de ciclos, tal es el caso en el estudio realizado por Al-Azemi M y colaboradores, en el que incluyen 356 mujeres, obteniendo como límite para una baja respuesta a partir de niveles séricos menores a 1.36 ng/ml, asociados con 74% de sensibilidad y 74.8% de especificidad^{xxiii}.

Dado lo anterior se considera para la predicción de baja respuesta en FIV, niveles entre los 0.7-1.3 ng/ml.

Una mujer menor de 30 años con una reserva alterada, determinada por un recuento folicular antral bajo (igual o menor de 6) o por una hormona Antimülleriana baja (menor de 1 ng/ml) tiene una probabilidad de gestación 1,5 veces menor que las mujeres de la misma edad con una reserva ovárica normal. Tomando en cuenta esto, es importante tomar un punto de corte para la adecuada selección de donantes, con el fin de evitar el riesgo de una baja respuesta.

Por otro lado, ante el riesgo de una hiperestimulación ovárica que ponga en riesgo la estabilidad y salud de la donante, y ante la necesidad de determinar la cantidad necesaria de ovocitos a obtener durante una estimulación, sin sacrificar la calidad de los mismos y que esto repercuta en los resultados reproductivos, disminuyendo las tasas de embarazo, es importante determinar los niveles de riesgo para una respuesta no favorecedora.

La definición de hiper respuesta tampoco está estandarizada, varía entre la captura de 15 a 20 ovocitos en un ciclo con protocolo de estimulación.^{xxiv}



A manera de predecir la Hiperestimulación ovárica, se han realizado ensayos para el análisis AMH como predictor para la hiper respuesta.^{xxv} Existen reportes que fluctúan entre 2,6 a 4,83 ng/ml; 1,59 a 5 ng/ml y 3.52 a 3.9 ng/ml. Figura 10.

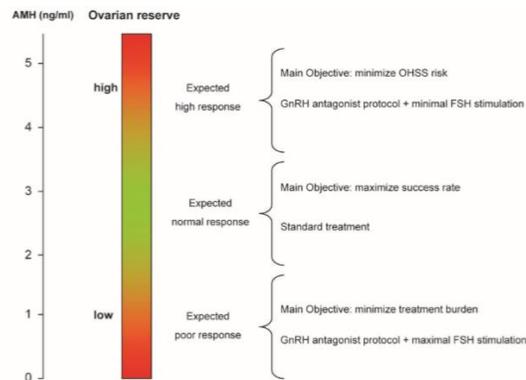


Figura 10

Alrededor del mundo en los Institutos donde se realiza FIV, existe el interés de obtener la mejor cantidad de ovocitos sin sacrificar la calidad de los mismos, es de vital importancia la correcta selección de donantes que predicen una mejor respuesta y la dosis necesaria, con el fin de disminuir la tasa de cancelación de ciclos, prolongación en el tratamiento, mayor uso de dosis con el consiguiente aumento en los costos, la obtención excesiva de ovocitos sacrificando la calidad y finalmente y lo más importante reducción en las tasas de embarazo.^{xxvi}

Existen reportes de alrededor de 10% de cancelación de ciclos, de los cuales, el 6.7% de los ciclos de FIV se cancelaron por una respuesta ovárica deficiente, el 1.5% por el riesgo de síndrome de hiperestimulación ovárica (SHO) y el 1.7% por otras causas, pero en general debido a una respuesta anormal a la estimulación con gonadotropinas.

Desde 2010 La Marca y colaboradores, determinó la HAM y la cuenta folicular antral superiores a la edad y a la FSH como marcadores de respuesta ovárica.



La elección en la dosis en el tratamiento, se simplifican cuando tenemos un ciclo de estimulación previo y se conoce la respuesta ovárica en cada caso, sin embargo, ante el reto que constituye determinar la dosis necesaria a utilizar en donantes de primera vez, se diseñó este estudio con la finalidad de estandarizar el protocolo de inducción, a partir de características demográficas.

En la literatura se ha descrito la combinación de la edad, cuenta folicular antral, volumen ovárico, flujometría Doppler de Ovarios, FSH sérica en día 3 e incluso antecedente de tabaquismo, como predictores de respuesta ovárica a Gonadotropinas.

Durante el 2012 en la revista Internacional de Ginecología y Obstetricia (BJOG), se publica por La Marca y Colaboradores, un normograma con la dosis adecuada para inicio de la estimulación ovárica.^{xxvii}

En tal grafica se identifica la edad, la cuenta folicular antral (CFA) y la FSH sérica en día 3 del ciclo, y mediante la unión de estos 3 puntos en el normograma, se determina la dosis a emplear de inicio de estimulación. Figura 11.

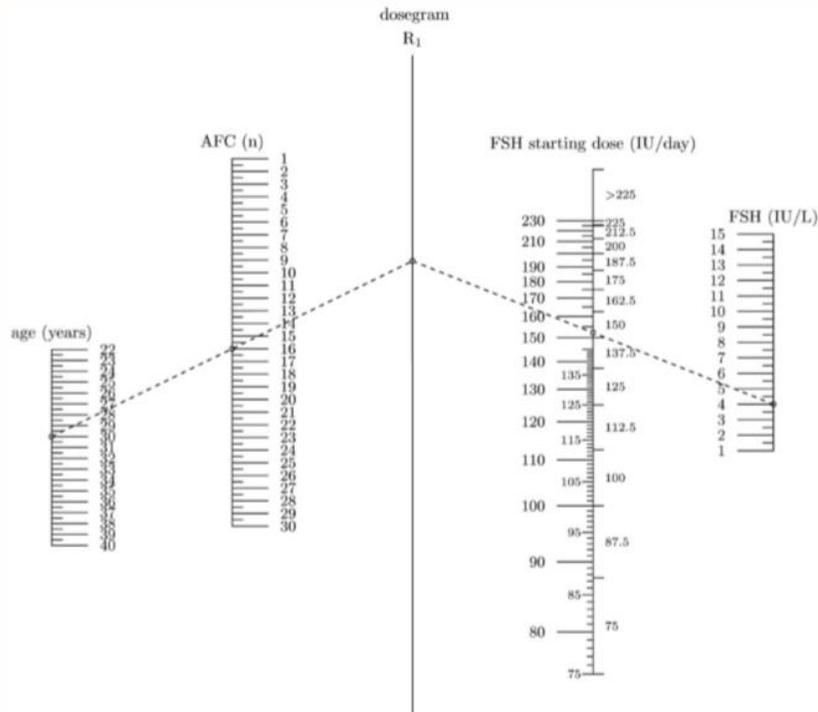


Figura 11

Un nomograma similar basado en AMH había sido desarrollado previamente por el mismo grupo en el 2012. La elección de desarrollar dos nomogramas diferentes basados en AMH o CFA (cuenta folicular antral) surgió del reconocimiento de que los médicos generalmente confían en un marcador de respuesta ovárica, considerando a la HAM y la CFA intercambiables. Figura 12.

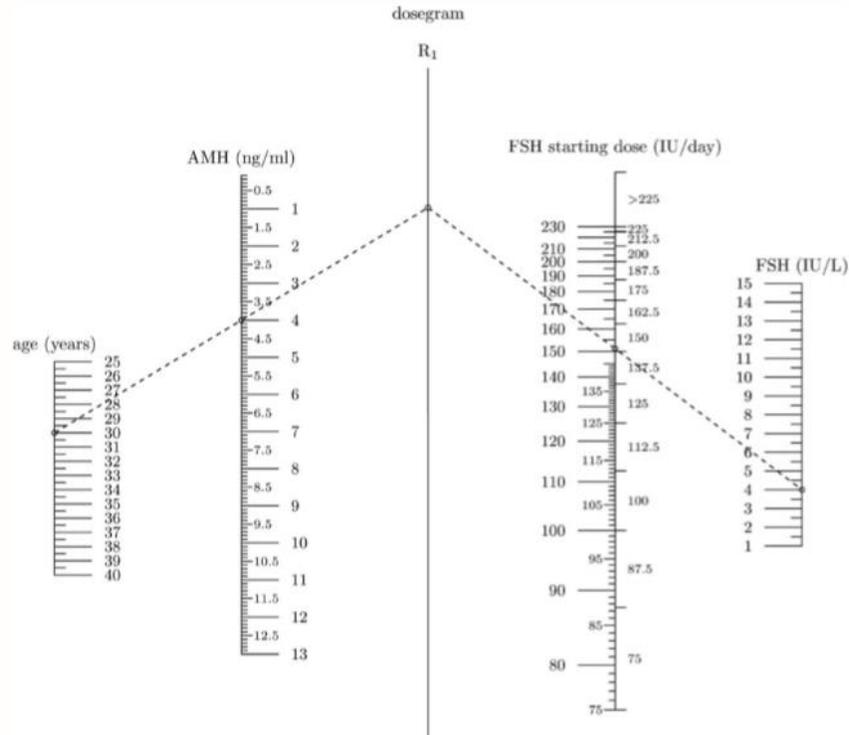


Figura 12

En cuanto a los estudios realizados en población donante, la revista *Fertility and Sterility*, durante el año 2008, publicó un trabajo donde se evaluó a la HAM como un marcador de respuesta ovárica en donación de óvulos, se realizó un análisis retrospectivo y ciego de 187 muestras de HAM en suero de jóvenes (<32 años (media \pm edad DS: 26-3 años)) al comienzo de su primera donación durante 2004-2007. Los niveles de AMH se analizaron en muestras de suero por técnica de ELISA, recolectadas en el día 2 después de la menstruación después del depósito-leuprolide y antes de la menstruación e inicio de menotropinas, se evaluaron la cantidad de ovocitos recuperados y el resultado del embarazo.

Los niveles promedio de AMH fueron 3.57 ± 2.34 ng / ml y se obtuvo 19 ovocitos recuperados (rango: 4-47). Se utilizó un promedio de 3255 - 2787 UI de menotropinas. Se encontró una correlación positiva entre el nivel de HAM y los ovocitos recuperados ($r = 0,484$; $p < 0.001$); las IU de menotropinas se correlacionó negativamente con el número de ovocitos ($r = 0.418$; $p < 0.001$).



Se identificó un umbral de HAM de 2.24 ng / ml para predecir > 12 ovocitos recuperados, los valores de HAM no predijeron resultado del embarazo; las tasas de embarazo para ciclos de un solo receptor fueron comparable cuando la HAM fue menor o mayor a 2.24 ng / ml (63% frente a 60%) como fue el caso cuando la cohorte de ovocitos fue compartida entre 2 receptores (75% vs 80%).

Concluyendo que la HAM es un marcador de reserva ovárica y predictor de óvulos recuperados, más no tiene impacto en el resultado del embarazo.^{xxviii}

Un año después se publica un estudio en la misma revista realizado en la universidad de Atlanta, donde estudian un grupo de 25 pacientes entre 19 y 28 años de edad todas con HAM mayor 1.4 ng/dl, se dio previo hormonal oral combinado, se estimuló con gonadotropinas y se utilizó protocolo de antagonista al llegar a medición folicular de al menos 12 mm, se aplicó la hCG recombinante a los 17 mm.

Al analizar, se observó valor medio de AMH de 3.36 ng / ml \pm 1.69 (SD). La media cantidad de FSH utilizada fue 2264 IU \pm 773. El número promedio de total de ovocitos recuperados fue de 21.1 \pm 10.1, con 16.6 \pm 8.1 ovocitos maduros. Con variaciones de 9 a 46 y 6-36, respectivamente, por lo que HAM no predijo el número de huevos recuperados (P=0.45), ni el número de huevos maduros (P=0.84), o la cantidad de FSH utilizada (P=0.57). Concluyen que un nivel superior a 1.4nd&dl de HAM, puede ser considerado para Donantes con resultados de 22 ovocitos recuperados y 16 maduros.^{xxix}

IMC

Se ha señalado que las mujeres con obesidad tardan más tiempo en presentar un embarazo de forma espontánea debido, especialmente, a la anovulación que muestran con frecuencia. Así, en un estudio realizado sobre 2527 pacientes infértiles, el riesgo de infertilidad por causa ovulatoria



aumentó desde el 1.3 en el grupo con un IMC normal hasta el 2.7 en las mujeres con un IMC superior a 32.^{xxx}

Cuando hay infertilidad y existe la necesidad de la inducción a la ovulación, hay quienes reportan menor cantidad de embarazos posterior a coito programado o Inseminación Intrauterina (IIU) cuando existe obesidad, otros por su parte afirman que una vez que se logre la ovulación, los resultados son similares independientemente del peso, y por otro lado hay quien también opinan que la obesidad, sobre todo cuando se está por encima de IMC 30, incrementa las posibilidades de éxito mediante HOC (Hiperestimulación ovárica controlada) e IIU.^{xxxii} Siendo aún controversial el impacto del IMC sobre la respuesta a la estimulación ovárica en tratamientos de baja complejidad.

Cuando pasamos a las técnicas de alta complejidad, las probabilidades de éxito en los tratamientos de FIV, son menores en las pacientes que presentan obesidad, se han descrito tasas menores de gestación, implantación y recién nacido vivo. Además de aumento en las tasas embarazo bioquímico y aborto clínico sin contar el aumento de las comorbilidades en el embarazo que aumentan la frecuencia de complicaciones maternas y fetales durante la gestación disminuyendo la tasa de nacido vivo.^{xxxiii}

Las mujeres obesas sin tratamiento que incluso presentan ciclos regulares y ovulatorios siguen teniendo una probabilidad menor de embarazo; se describe que por cada unidad de IMC superior a 29 kg/m^2 , la tasa acumulada de gestación a lo largo de 1 año disminuye 5%, (un efecto similar al inducido por cada año de avance de la edad de la mujer)^{xxxiiii}, y en tratamientos de FIV se reportan disminuciones de hasta el 16% en el éxito del tratamiento por cada unidad de aumento del IMC.

Algunos autores describen una media de 3.9 nacimientos menos en mujeres obesas, en comparación con el grupo control con peso normal por cada 100 ciclos de FIV/ICSI. Calculado en forma de efecto acumulativo, de cada 100 mujeres obesas 41 dieron a luz a recién nacidos vivos a lo largo de tres ciclos de tratamiento, en comparación con 50 de cada 100 mujeres con peso normal.^{xxxv}



La probabilidad de embarazo en los ciclos de FIV, aumenta la posibilidad de embarazo en un 19% en cada reducción de una unidad en el IMC, afirmando lo anterior.^{xxxv}

Las mujeres obesas presentan diferencias en la respuesta ovárica durante la estimulación. Se encuentra una respuesta menor a las gonadotropinas con independencia de que exista o no SOP (Síndrome de Ovario Poliquístico) asociado, y se obtienen menores tasas de ovulación y una menor tasa acumulada de recién nacido vivo.

Durante el FIV, requieren altas dosis por la presencia de resistencia a la acción de estas, que conduce a una respuesta ovárica disminuida, también presente en asociación al SOP. Además en las mujeres obesas la respuesta ovárica en los ciclos de reproducción asistida está alterada presentan un estado de resistencia a gonadotropinas, requieren periodos más largos de estimulación ovárica, mayores dosis de gonadotropinas, mayores tasas de cancelación por baja respuesta, y una mayor a sincronía folicular^{xxxvi} además de disminución de la concentración intra folicular de HCG, menores picos de E2 y menor recuperación ovocitaria.^{xxxvii xxxviii}

La sociedad Española de Ginecología y Obstetricia en el 2014 publica un estudio realizado en el 2014, en 863 ciclos de estimulación ovárica y comparó los resultados reproductivos en función del índice de masa corporal (IMC) en las pacientes sometidas a ciclos de FIV-ICSI. Con las siguientes características demográficas y descriptivas. Figura 13.



Características descriptivas del grupo de estudio (n = 863)

	Grupo 1 (n = 601)	Grupo 2 (n = 191)	Grupo 3 (n = 71)
IMC (kg/m ²)	20-24,9	25-29,9	> 30
Edad (años)	34,2 ± 3,5	35,4 ± 3,6 *	34,2 ± 4,6 **
Dosis FSH (UI)	2978 ± 1225	3122 ± 1161	2980 ± 1226
Días	10,63 ± 1,9	10,85 ± 1,7	10,9 ± 1,9
Número de folículos	13,7 ± 6,6	12,59 ± 6,3 *	12,04 ± 6,9 ***
Ovocitos punción	12,49 ± 6,6	11,28 ± 6,2 *	10,52 ± 6,7 **
Número MII totales	9,45 ± 5,4	8,56 ± 5,05 *	7,32 ± 4,2 **
Embriones totales	5,4 ± 3,4	4,75 ± 3,0 *	3,9 ± 2,6 **

* p < 0,05 obtenido de la comparación entre grupo 1 y grupo 2.

** p < 0,05 obtenido de la comparación entre grupo 2 y grupo 3.

*** p < 0,05 obtenido de la comparación entre grupo 1 y grupo 3. Se presentan datos de media ± DE.

Figura 13

Entre los resultados se encontraron diferencias en la edad media de las pacientes de los diferentes grupos, no clínicamente relevantes (± 1 año). No se encontraron diferencias significativas en la duración de la estimulación, ni en la dosis total de gonadotropinas utilizadas entre los diferentes grupos.

Sin embargo, hubo menor número de folículos, ovocitos recuperados, ovocitos maduros y de embriones disponibles para transferir al incrementarse el IMC, siendo las diferencias estadísticamente significativas.

En cuanto a los resultados reproductivos; la tasa de embarazo clínico y nacido vivo se reduce progresivamente a medida que aumenta el IMC, siendo las diferencias estadísticamente significativas (Grupo 1: 41,4%, Grupo 2: 32,5%, Grupo 3: 29,6%; p < 0,05). Figura 14.

IMC	I. 20-24,9 (n = 601)	II. 25-29,9 (n = 191)	III. > 30 (n = 71)	p
Embarazo clínico	41,40%	32,50%	29,60%	p < 0,01
Aborto	5,70%	3,70%	4,20%	NS
Ectópico	1,30%	1,60%	0	NS
Nacido vivo	34,40%	27,20%	25,40%	p < 0,05
Ciclos cancelados	12,50%	12,80%	12,30%	NS

Figura 14



Concluyendo que el sobrepeso y la obesidad empeoran los resultados reproductivos en ciclos de FIV-ICSI, reduciéndose de forma significativa la tasa de embarazo clínico y nacido vivo a medida que aumenta el IMC.^{xxxix} Figura 15.

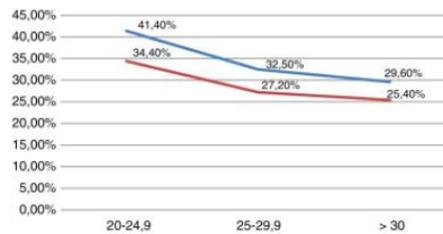


Figura 15

Según nuestro estudio al igual que la literatura hasta la fecha, muestran que la HAM es un marcador confiable para la evaluación de la reserva ovárica y predicción de respuesta a la estimulación hormonal y puede ser preferido sobre otros por su comodidad debido a su poca variación a lo largo del ciclo.

Observamos que entre mayor el nivel de HAM menores dosis necesaria para la estimulación Ovárica Controlada y mejores resultados reproductivos.

En donantes con niveles de HAM menores de 2.5 ng/dl, tuvieron resultados muy por debajo en comparación con cifras mayores, en cuanto a fertilización, formación de blastocisto y prueba de embarazo positiva, considerándolo a partir de este estudio criterio de exclusión para la selección de donantes en el centro de fertilidad.

El aumento del IMC tiene un efecto negativo en la función reproductiva, debido a su estado de resistencia a gonadotropinas, requieren periodos más largos de estimulación ovárica, mayores dosis de gonadotropinas, mayores tasas de cancelación, mayor a sincronía folicular, menor



recuperación ovocitaria y tasas menores de recién nacido vivo tanto en ciclos naturales como en las TRA.

Dentro de los criterios de selección de Donantes debe tomarse en cuenta el IMC y excluir aquellas mujeres con obesidad.

Respecto a la edad no hubo diferencias en cuanto a los resultados en el grupo de pacientes entre 18 y 26 años, considerándolo buen rango de selección para donantes en el centro de fertilidad.

Entre los hallazgos secundarios en este estudio se encontró que:

- Las probabilidades de obtener una prueba de embarazo positiva son mayores transfiriendo blastocistos en día 5 en comparación con las transferencias realizadas en día 3.
- El parámetro del espermograma directo más importante para mejores tasa de fertilización de ovocitos es la CTM.

Dados los resultados obtenidos, y el análisis de este estudio, es posible determinar la dosis de estimulación en donantes en tratamientos de reproducción asistida con FSHr y fase lútea tardía, a partir de niveles de HAM e IMC dentro de un grupo de mujeres de 18 y 26 años.

En el futuro, será importante valorar las tasas de embarazo acumulado, tomando en cuenta los embriones congelados y los resultados de FET, completando el estudio de estos ciclos de estimulación.

Conclusiones

Existe relación entre la HAM el IMC para estimar la dosis de estimulación en donantes en tratamientos de reproducción asistida con FSHr y fase lútea tardía, dentro de un grupo de mujeres de 18 y 26 años.



En nuestro grupo de estudio, se demostró que a mayores niveles de HAM, se requiere menor dosis para obtener una mayor respuesta ovocitaria, mejores tasas de fertilización, formación de Blastocisto, y mayor incidencia de pruebas de embarazo positivas.

Aquellas Donantes con HAM menor a 2.5ng/ml, tuvieron tasas muy por debajo en comparación con los grupos con HAM mayores, respecto a la cantidad de óvulos capturados, fertilizados, formación de Blastocisto y Prueba de embarazo positiva, por lo que proponemos excluir para Donación de Óvulos, mujeres con niveles por debajo de 2.5ng/ml de HAM.

Al igual que lo encontrado en la literatura, las pruebas de embarazo positivas se obtienen en mayor incidencia cuando la transferencia embrionaria se realiza en día 5 de desarrollo embrionario en comparación de aquellos ciclos transferidos en día 3.

Las tasas de nacido vivo se encuentran más altas en el grupo con HAM entre 2.5 y 3.5 ng/ml.

Considerando la cantidad de embriones vitrificados, es importante dar seguimiento a los ciclos, para valorar la tasa de embarazo acumulado. Y así obtener los resultados reproductivos finales.

BIBLIOGRAFIA

ⁱ Marck, V. Sauer, et al. Oocyte donation for assisted reproduction. Up to date Jan 2018

ⁱⁱ J. L. Pouly, F. Brugnon. Donación de gametos y embriones. Ginecología – Obstetricia, 2014-03-01, Volumen 50, Número 1, Páginas 1-14, Copyright © 2014 Elsevier Masson SAS.

ⁱⁱⁱ Bhide P, Shah A, Gudi A, Hamburg R. The role of anti-mullerian hormone as a predictor of ovarian function. The Obstetrician & Gynaecologist 2012; 14:161-6.

^{iv} Burger HG, Dudley EC, Hopper JL, et al. Prospectively measured levels of serum follicle Stimulating hormone, estradiol and the dimeric inhibins during the menopausal transition in a population based cohort of women. J Clin Endocrinol Metab 1999;84:4025-4030.

^v Franchin R, Schonauer LM, Righini C, Guibourdenche J, Frydman R, Taieb J, 2003 Serum Anti Mullerian hormone is more strongly related to ovarian follicular status than serum inhibin B, estradiol, FSH and LH on day 3. Hum Reprod 18: 323-327.



- ^{vi} Cook CL, Siow Y, Taylor S, Fallat M, 2000 Serum Mullerian inhibiting substance levels during normal menstrual cycles. *Fertil Steril* 73: 859---861.
- ^{vii} Streuli I, Fraisse T, Pillet C, Ibecheole V, Bischof P, de Ziegler D, 2008 Serum anti-Mullerian hormone levels remain stable throughout the menstrual cycle and after oral or vaginal administration of synthetic steroids. *Fertil Steril* 90: 395---400.
- ^{viii} Van Rooij I, Den Tonkelaar I, Broekman F, Looman C, et al. Anti---mullerian hormone is a promising predictor for the occurrence of the menopausal transition. *Menopause* 2004;11(6):601-606
- ^{ix} Lee MM, Donahoe PK, Hasegawa T, et al, 1996 Mullerian inhibiting substance in humans: normal levels from infancy to adulthood. *J Clin Endocrinol* 81: 571-576.
- ^x Dolleman M, Verschuren WM, Eijkemans MJ, Dolle ME, Jansen EH, Broekmans FJ, vander Schouw YT. Reproductive and lifestyle determinants of anti-Mullerian hormone in a large population---based study. *J Clin Endocrinol Metab. Act* 2017
- ^{xi} Su HI, Maas K, Sluss P, Chang RJ, Hall JE, Joffe H. The impact of depot GnRH agonist onAMH levels in healthy reproductive---aged women. *J Clin Endocrinol Metab* 2013; 98:E1961---6.
- ^{xii} Iliodromiti S, Kelsey TW, Anderson RA, Nelson SM. Can anti---mullerian hormonepredict the diagnosis of polycystic ovary syndrome? A systematic review andmeta---analysis of extracted data. *J Clin Endocrinol Metab* 2013;98:3332---3340.
- ^{xiii} Bersinger NA, Winder D, Birkhauser MH, Guibourdenche J, 2007 Measurement of anti-Mullerian hormone by Beckman Coulter ELISA and DSL ELISA in assisted reproduction: differences between serum and follicular fluid. *Clin Chim Acta* 384: 174---175.
- ^{xiv} David B. Seifer, M.D.,a,b Valerie L. Baker, M.D.,c,e and Benjamin Leader, M.D., Ph.D.,d,e Age-specific serum anti---M€ullerian hormone values for 17,120 women presenting to fertility centers within the United States. *Fertility and Sterility*Vol. 95, No. 2, February 2011
- ^{xv} Kyoung Yong Moon^{1,2}, Hoon Kim^{1,3}, Joong Yeup Lee⁴, Jung Ryeol Lee^{1,5}, Byung Chul Jee^{1,5}, Chang SukSuh^{1,3}, Ki Chul Kim⁴, Won Don Lee², Jin Ho Lim², Seok Hyun Kim^{1,3}. Nomogram to predict the number of oocytes retrieved in controlled ovarian stimulation. *Clin Exp Reprod Med* 2016;43(2):112---118
- ^{xvi} Bhide P, Shah A, Gudi A, Hamburg R. The role of anti---mullerian hormone as a predictor of ovarian function. *The Obstetrician & Gynoecog/sf*2012; 14:161-6.
- ^{xvii} Maria Mercedes Calero Ruiz. Niveles de hormona antimulleriana en suero y líquidos foliculares como marcadores predictivos de respuesta ovárica en tratamientos de reproducción asistida. *Medicina Reproductiva y Embriología Clínica*, 2017-04-01, Volumen 4, Número 1, Páginas 22-31, Copyright © 2017 Asociación para el Estudio de la Biología de la Reproducción y Sociedad Española de Fertilidad
- ^{xviii} Ana Polo Ramos, Et al. ¿Qué utilidad tiene la hormona antimülleriana en la predicción de la reserva funcional ovárica? ¿Cuáles son sus rangos de normalidad? *Hospital de la Santa Creu i Sant Pau-Fundació Puigvert*. Barcelona Elsevier febrero 14
- ^{xix} ^{xix} J. L. Pouly, F. Brugnon. Donación de gametos y embriones. *Ginecología – Obstetricia*, 2014-03-01, Volumen 50, Número 1, Páginas 1-14, Copyright © 2014 Elsevier Masson SAS.
- ^{xx} AntonioLaMarca^{1,*} andSeshKamal Sunkara. Individualization of controlled ovarian stimulation in IVF using ovarian reserve markers: from theory to practice. *HumanReproductionUpdate*,Vol.20,No.1pp.124---140,2014



- ^{xxi} AntonioLaMarca1,* andSeshKamal Sunkara. Individualization of controlled ovarian stimulation in IVF using ovarian reserve markers: from theory to practice. *HumanReproductionUpdate*,Vol.20,No.1pp.124–140,2014
- ^{xxii} NelsonSM.Biomarkersofovarianresponse:currentandfutureapplications.*FertilSteril* 2013;99:963–969.
- ^{xxiii} Al-Azemi M, Killick SR, Duffy S, Pye C, Refaat B, Hill N, Ledger W. Multi-marker assessment of ovarian reserve predicts oocyte yield after ovulation induction. *Hum Reprod* 2011;26:414–422.
- ^{xxiv} Humaidan P, Quartarolo J, Papanikolaou EG. Preventing ovarian hyperstimulation syndrome: guidance for the clinician. *Fertil Steril* 2010b;94:389–400.
- ^{xxv} Arce JC, La Marca A, Mirner Klein B, Nyboe Andersen A, Fleming R. Antimullerian hormone in gonadotropin releasing-hormone antagonist cycles: prediction of ovarian response and cumulative treatment outcome in good-prognosis patients. *FertilSteril* 2013;99:1644–1653.
- ^{xxvi} BroerSL,Do ´llemanM,OpmeerBC,FausserBC,MolBW,BroekmansFJ.AMHandAFC as predictors of excessive response in controlled ovarian hyperstimulation: a meta-analysis. *Hum Reprod Update*2011;17:46–54.
- ^{xxvii} La Marca A, Papaleo E, Grisendi V, Argento C, Giulini S, Volpe A. Development of a nomogram based on markers of ovarian reserve for the individualisation of the follicle-stimulating hormone starting dose in in vitro fertilisation cycles. *BJOG* 2012b;119:1171–1179. Garcia velazco.... Ivi... donadoras y ham
- ^{xxviii} S. Talebian, Assessing anti-mullerian hormone (AMH) as a marker of ovarian response in anonymous oocyte donors: quantity or quality? *Obstetrics and Gynecology*, NYU School of Medicine- NYU Fertility Center, New York, NY; Biostatistics, New York University School of Medicine, New York, NY. *Fertility & Sterility* S267. P474, 2008.
- ^{xxix} A. Lovingood, et al. THE USE OF ANTI MULLERIAN HORMONE IN THE EVALUATION OF EGG DONORS. Emory University School of Medicine, Atlanta, GA. *Fertility and Sterility*. Vol 92, No. 3, Supplement, September 2009.
- ^{xxx} Rich-Edwards J.W., Goldman M.B., Willet W.C., Hunter D.J., Stampfer M.J., Colditz G.A., et al: Adolescent body mass index and infertility caused by ovulatory disorder. *Am J Obstet Gynaecol* 1994; 171: pp. 171-177
- ^{xxxi} Wang J.X., Warnes G.W., Davies M.J., et al: Overweight patients have a higher fecundity than normal weight woman undergoing controlled ovarian hyperstimulation with intrauterine insemination. *Fertil Steril* 2004; 81: pp. 1710-1712
- ^{xxxii} Bellver J., Busso C., Pellicer A., Remohí J., and Simón C.: Obesity and assisted reproductive technology outcomes. *Reprod Biomed Online* 2006; 12: pp. 562-568
- ^{xxxiii} Van der Steeg J.W., Steures P., Eijkemans M.J.C., Habbema J.D., Hompes P.G., Burggraaff J.M., et al: Obesity affects spontaneous pregnancy chances in subfertile, ovulatory women. *Hum Reprod* 2008; 23: pp. 324-328
- ^{xxxiv} Fedocksák P., Dale P., Storeng R., Ertzeid G., Bjercke S., Oldereid N., et al: Impact of overweight on assisted reproduction treatment. *Hum Reprod* 2004; 11: pp. 2523-2528
- ^{xxxv} Fertilisch K., Sator M., Gruber D., Rücklinger E., Gruber C.J., and Huber J.C.: Body Mass Index, Follicle-Stimulating Hormone and Their Predictive Value in In Vitro Fertilization. *J Assist Reprod Genet* 2004; 12: pp. 431-436
- ^{xxxvi} Marcos Ferrando Serrano, et al. Influencia del peso corporal sobre la función ovárica. Inducción a la ovulación. 6, 47-57. 2014 Elsevier España, S.L.



^{xxxvii} Van Swieten E., Leew-Harmsen L., Badings E., and van der Linden P.J.Q.: Obesity and clomiphene challenge test as predictors of outcome of in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection. *Gynecol Obstet Invest* 2005; 59: pp. 220-224

^{xxxviii} Loveland J.B., McClamrock H.D., Malinow A.M., and Sharara F.I.: Increased body mass index has a deleterious effect on in vitro fertilization outcome. *J Assist Reprod Genet* 2001; 18: pp. 382-386

^{xxxix} Cecilia Olivier Sánchez, et al. Obesidad como factor pronóstico reproductivo en ciclos de fecundación in vitro-inyección espermática intracitoplasmática. *Progresos de obstetricia y ginecología*, 2014-11-01, Volumen 57, Número 9, Páginas 393-399, Copyright © 2014 SEGO