



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA – DIVISIÓN DE POSGRADO
HOSPITAL ÁNGELES LOMAS

**ESTUDIO COMPARATIVO DE LOS RESULTADOS DEL USO DE DIFERENTES
GONADOTROPINAS Y SU RELACIÓN CON LA EDAD Y LOS NIVELES BASALES
DE FSH EN UN PROGRAMA DE FIVTE**

TESIS

PARA OBTENER EL TÍTULO DE
ESPECIALIDAD EN GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA

PRESENTA:

ENRIQUE MARTÍNEZ VILLAFANA

DIRECTORES DE TESIS:

DR. ALBERTO KABLY AMBE

DRA. ESPERANZA CARBALLO MONDRAGÓN

HOSPITAL ÁNGELES LOMAS

HUIXQUILUCAN, ESTADO DE MÉXICO, AÑO 2022



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.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	4
ABSTRACT	5
INTRODUCCIÓN	6
1. MARCO TEÓRICO	8
1.1. DESARROLLO FOLICULAR, OVOGÉNESIS Y ESTEROIDOGENESIS	8
1.1.1. Foliculogénesis	8
1.1.2. Foliculogénesis terminal	10
1.1.2.1. Expresión de receptores para FSH y LH	11
1.1.2.2. Función de la FSH y LH en la foliculogénesis y esteroidogénesis ...	12
1.1.2.3. Teoría de las dos célula dos gonadotropinas	13
1.1.3. Selección del folículo dominante	14
1.1.4. Ovulación	15
1.2. ESTIMULACIÓN OVÁRICA	17
1.2.1. Medición de la reserva ovárica	17
1.2.2. Concentraciones basales de FSH y E2	17
1.2.3. Hormona antimulleriana	18
1.2.4. Recuento de folículos antrales (RFA) y volumen ovárico	19
1.2.5. Utilidad de las pruebas de reserva ovárica	20
1.2.6. Baja respuesta ovárica	21
1.2.7. Historia de la estimulación ovárica	21
1.2.8. Consideraciones de la estimulación ovárica	25
1.2.9. Estimulación ovárica para fertilización in vitro	25
1.2.10. Protocolo con agonistas de GnRH	26
1.2.11. Protocolo con antagonistas de GnRH	26
1.2.12. Maduración final del ovocito	27
1.2.13. Protocolos de estimulación individualizado	28
1.3. GRUPOS POSEIDON	29
1.3.1. Estrategias de manejo para el grupo 1 de POSEIDON	32
1.3.2. Estrategias de manejo para el grupo 2 de POSEIDON	33
1.3.3. Estrategias de manejo para el grupo 3 y 4 de POSEIDON	34

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO	36
2.1. Pregunta de investigación	36
2.2. Hipótesis	36
2.3. Objetivos	37
2.3.1. Objetivo general	37
2.3.2. Objetivos específicos	37
3. METODOLOGÍA	37
3.1. Tipo de estudio	37
3.2. Universo de estudio	37
3.3. Población	37
3.4. Tipo de muestreo	37
3.5. Descripción de la metodología	37
3.6. Criterios de selección	37
3.6.1. Criterios de inclusión	37
3.6.2. Criterios de exclusión	37
3.7. Variables por analizar	38
3.7.1. Variables independientes	38
3.7.2. Variables dependientes	38
3.8. Operacionalización de variables	38
3.9. Análisis estadístico	39
3.10. Consideraciones éticas	39
4. RESULTADOS	40
4.1. Resultados generales por grupos tipo POSEIDON y por protocolo de estimulación	41
4.2. Resultados de variables dependientes en grupos POSEIDON por protocolo de estimulación	42
5. DISCUSIÓN	49
6. CONCLUSIONES	53
7. REFERENCIAS	54

“ESTUDIO COMPARATIVO DE LOS RESULTADOS DEL USO DE DIFERENTES GONADOTROPINAS Y SU RELACIÓN CON LA EDAD Y LOS NIVELES BASALES DE FSH EN UN PROGRAMA DE FIVTE”

RESUMEN

Antecedentes: el objetivo de la estimulación ovárica controlada es conseguir el mayor número de ovocitos, de tal manera que aumenten las posibilidades de obtener un embrión euploide. Actualmente se cuentan con múltiples gonadotropinas y protocolos de estimulación para este propósito, con distintas características fisiológicas cada una. Se necesita de mayor evidencia que demuestre la efectividad de cada protocolo de estimulación según la edad y reserva ovárica de la paciente, como para ofrecer una recomendación y tratamiento individualizado

Objetivo: determinar la efectividad de distintos protocolos de estimulación con gonadotropinas y su relación con la edad y los niveles de FSH de la paciente.

Metodología: se recabó la información de la base de datos del centro de infertilidad Doctor Alberto Kably de mujeres que recibieron estimulación ovárica para FIVTE del 2002 al 2017. Se analizaron variables independientes como edad, índice de masa corporal (IMC), niveles de FSH y tipo de gonadotropina. Las variables dependientes fueron el número total de ovocitos, total de ovocitos en metafase II, porcentaje de ovocitos en metafase II, número de ovocitos fertilizados, diagnóstico de embarazo. Se incluyeron pacientes con capturas en fresco, que recibieron estimulación ovárica con FSHr sola, FSHr + LHr, o con HCG (menotropinas), con antagonistas de GnRh. Se excluyeron pacientes que recibieron algún otro estímulo con otro tipo de medicamento y que tuvieran su expediente incompleto. Para el análisis se dividieron a las pacientes en 4 grupos, según su edad y niveles de FSH; grupo 1: <35 años y FSH <7, grupo 2: ≥35 años y FSH <7, grupo 3: <35 años y FSH ≥7, grupo 4: ≥35 años y FSH ≥7.

Resultados: se incluyeron en total 1,668 pacientes. La media del total de óvulos obtenidos en el grupo 1, 2, 3 y 4, fueron 12.8, 9.2, 10.1 y 7.1, respectivamente. El protocolo con FSHr obtuvo el mayor número de ovocitos en metafase II en el grupo 1, 2 y 4, con 8.9, 6.7 y 5.0, respectivamente. En el grupo 3 el protocolo con FSHr + LHr tuvo mayor efectividad con una media de 7.2 óvulos en metafase II.

Conclusión: las gonadotropinas recombinantes tienen una mejor efectividad que las menotropinas en cuanto a la respuesta ovárica obtenida en los protocolos de estimulación para FIVTE en cualquier grupo tipo POSEIDON. En el grupo 3 agregar LHr parece mejorar los resultados.

ABSTRACT

Background: The objective of controlled ovarian stimulation is to obtain the greatest number of oocytes, in such a way that the possibility of obtaining a euploid embryo is increased. There are currently multiple gonadotropins and stimulation protocols for this purpose, each with different physiological characteristics. Currently there is not enough information on the effectiveness of each stimulation protocol according to the age and ovarian reserve of the patient, to offer a recommendation.

Objective: to determine the effectiveness of different stimulation protocols with gonadotropins and their relationship with the patient's age and FSH levels.

Methodology: information was collected from the database of the Doctor Alberto Kably infertility center of women who received ovarian stimulation for IVFTE from 2002 to 2017. Independent variables such as age, body mass index (BMI), FSH levels and type of gonadotropin. Dependent variables were total number of oocytes, total number of oocytes in metaphase II, percentage of oocytes in metaphase II, number of fertilized oocytes, diagnosis of pregnancy. We included patients with fresh captures, who received ovarian stimulation with FSHr alone, FSHr + LHr, or with HCG (menotropins), receiving a stimulation scheme that included GnRh antagonists. Patients who received any other stimulus with another type of medication and who had incomplete records were excluded. For the analysis, the patients were divided into 4 groups, according to their age and FSH levels; group 1: <35 years and FSH <7, group 2: ≥35 years and FSH <7, group 3: <35 years and FSH ≥7, group 4: ≥35 years and FSH ≥7.

Results: A total of 1,668 patients were included. The mean of the total ovules obtained in group 1, 2, 3 and 4, were 12.8, 9.2, 10.1 and 7.1, respectively. The protocol with FSHr obtained the highest number of oocytes in metaphase II in group 1, 2 and 4, with 8.9, 6.7 and 5.0, respectively. In group 3, the protocol with FSHr + LHr was more effective with a mean of 7.2 ovules in metaphase II.

Conclusion: recombinant gonadotropins have a better effectiveness than menotropins regarding the ovarian response obtained in stimulation protocols for IVFTE. In group 3, adding LHr seems to improve the results.

INTRODUCCIÓN

La infertilidad se ha definido históricamente como la incapacidad para lograr un embarazo después de 12 meses de actividad sexual regular, sin protección. El 85% de las mujeres podrá quedar embarazada después de 12 meses. La American Society of Reproductive Medicine (ASRM) recomienda por lo tanto evaluar a mujeres <35 años que no han conseguido un embarazo después de 12 meses de intentarlo, sin embargo, la evaluación puede realizarse después de 6 meses en mujeres >35 años, y pudiera considerarse un lapso menor en aquellas mayores de 40 años. (1)

No obstante, se deben realizar pruebas diagnósticas inmediatamente cuando se conoce una condición que pudiera estar causando la infertilidad, por ejemplo, ciclos menstruales irregulares (ciclos <25 días, sangrado intermenstrual, oligomenorrea o amenorrea), endometriosis peritoneal, uterina o tubárica, sospecha de subfertilidad masculina, disfunción sexual, o alguna condición genética o adquirida que predisponga a reserva ovárica disminuida (quimioterapia, radioterapia) (1)

Del 37% de las parejas infértiles, el origen de la infertilidad es femenino, mientras que en el 35% de los casos se identificó una causa tanto femenina como masculina. De las condiciones femeninas identificables, las más comunes fueron las alteraciones ovulatorias con un 25%, seguido de endometriosis con 15%, adherencias pélvicas con 12%, bloqueo tubárico con 11%, e hiperprolactinemia en el 7%. (2)

Conforme aumenta la edad en las mujeres, las probabilidades de infertilidad aumentan. En mujeres de 15-34 años la tasa de infertilidad es del 7.3-9.2%, de los 35-59 años la tasa aumenta a 25%, entre 40-44 años la tasa es del 30%. (2)

Dentro de los estudios iniciales que se solicitan a una pareja infértil se encuentran el análisis de semen, estudios endócrinos, ultrasonido y pruebas de reserva ovárica. Con el ultrasonido es posible identificar múltiples condiciones que pudieran afectar la fertilidad, como síndrome de ovario poliquístico (SOP), tumores ováricos, miomatosis uterina, pólipos endometriales, malformaciones mullerianas, endometriosis, hidrosálpinx, etc. Una vez identificando dicha condición se solicitan estudios adicionales como histeroscopia, histerosalpingografía, laparoscopia, estudios de laboratorios adicionales, etc. (3)

Aquellas parejas que muestran un análisis de semen normal, sin factores de riesgo o alteraciones visibles por ultrasonido, el siguiente paso es determinar la reserva ovárica, midiendo los niveles de la hormona folículo estimulante, el recuento de folículo antrales (RFA) y la hormona antimulleriana (HAM). (3) La reserva ovárica disminuye con la edad, al igual que la fertilidad. Esto ha llevado a la presunción de que la reserva ovárica podría predecir el potencial reproductivo de una mujer. Sin embargo, eso no se ha podido demostrar en muchos estudios, y se ha visto en cambio, que tiene un bajo valor para predecir éxito reproductivo. Al parecer su principal utilidad radica en predecir la respuesta a la estimulación ovárica en pacientes sometidas a fertilización in vitro (FIV). (4)

Se sabe que la probabilidad de éxito de la FIV depende de la cantidad y calidad de ovocitos. Mientras mayor es la edad de la paciente, menor es la calidad de sus ovocitos; entendiendo por calidad en este caso, como la probabilidad de que el ovocito sea euploide. Mientras menor es la reserva ovárica, menor es la cantidad de ovocitos que se esperaría obtener durante la estimulación ovárica. De aquí la importancia de tomar en cuenta la edad y la reserva ovárica para determinar el esquema de estimulación y la dosis que se administrará a la paciente, con el objetivo de lograr el mayor número de óvulos posibles para aumentar las probabilidades de tener un embrión de alta calidad que pueda transferirse, sin exponer a la paciente a un riesgo muy alto de hiperestimulación ovárica. (5,6)

Agrupar a las pacientes que buscan embarazarse en "bajas respondedoras" y "altas respondedoras", dificulta la evaluación de mejores tratamientos de fertilidad. Recientemente se ha introducido la clasificación de POSEIDON, que agrupa a las pacientes con baja probabilidad de un FIV exitoso en cuatro categorías dependiendo de la edad y reserva ovárica. Se han estudiado diferentes opciones de tratamientos para cada grupo, como aumento en la dosis de gonadotropinas, inyecciones adicionales de gonadotropinas recombinantes. Sin embargo, la mayoría de estas estrategias de tratamiento necesitan más estudios para aprobar o desaprobar su aparente efecto benéfico. (7)

Durante el desarrollo del marco teórico se hace revisión de aspectos básicos como foliculogénesis, ovogénesis y esteroidogénesis, continuando con aspectos relacionados a la estimulación ovárica, marcadores de reserva ovárica, gonadotropinas, protocolos de estimulación y opciones de tratamientos actuales para cada grupo de la clasificación de POSEIDON.

1. MARCO TEÓRICO

1.1. DESARROLLO FOLICULAR, OVOGÉNESIS Y ESTEROIDOGENESIS

1.1.1. Foliculogénesis

El folículo es la unidad funcional del ovario y en la mayoría de los mamíferos el pool total de folículos primordiales se forma antes o poco después del nacimiento. Una vez formado este pool, cada folículo primordial puede pasar por uno de los siguientes tres caminos: mantenerse en estado de quiescencia, activarse y entrar en fase de crecimiento, o morir por apoptosis. El equilibrio entre el estado de quiescencia, la activación y la muerte de los folículos primordiales se considera el factor decisivo que determina la duración de la vida reproductiva de la mujer. El pool inicial de folículos primordiales al nacimiento es de aproximadamente 500,000 folículos. Para mantener una vida reproductiva prolongada es necesario que los folículos permanezcan en quiescencia. Eventualmente el 99% de los folículos morirán con el paso de los años. La menopausia llega cuando el conteo folicular es menor de 1,000. (8)

La duración de la foliculogénesis desde que inicia su crecimiento hasta la ovulación es de aproximadamente 200 días. (9) Más del 80% de este tiempo corresponde a la primera parte de la foliculogénesis, llamado foliculogénesis basal, en donde las células de la granulosa se duplican por 16 y el tamaño folicular alcanza los 5 mm. Esta etapa se caracteriza por la ausencia de receptores para gonadotropinas, lo que implica un crecimiento independiente de FSH. La foliculogénesis terminal hace referencia al desarrollo folicular dependiente de gonadotropinas, en donde se duplican las capas de la granulosa y el tamaño folicular alcanza los 16-20 mm. (9)

El mecanismo por el que se desencadena la activación del desarrollo del folículo primordial se desconoce hasta el momento, sin embargo, ya se encuentra bien establecido que la foliculogénesis basal es autónoma, regulada por factores paracrinos que comunican al ovocito con las células de la granulosa.

Las tres familias de vías de señalización implicadas en la activación folicular son la vía del fosfatidilinositol 3 kinasa (PI3K/AKT), la vía SMAD y la vía de las gonadotropinas. Cada una de estas vías a la vez, participa respectivamente en las siguientes fases: 1. Activación del folículo primordial y supervivencia de los folículos en crecimiento, 2. Transición del folículo primario a folículo secundario, crecimiento folicular basal y metabolismo del cúmulus, 3. Foliculogénesis terminal (10) (**Fig. 2**).

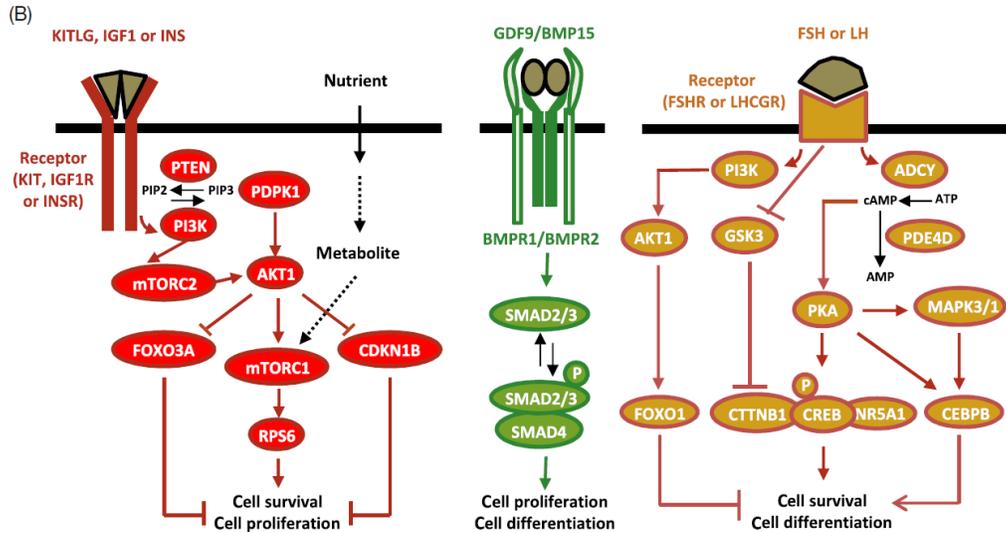


Fig. 1 Representación esquemática de las tres principales vías de señalización involucradas en el control de la foliculogénesis. Monniaux D. et al. Folliculogenesis. *Encycl Endocr Dis.* 2019;2:377–98.

Conforme el folículo crece, la teca se estratifica y se diferencia en dos partes. La parte más superficial, la teca externa, contienen fibroblastos, que producen colágeno para formar matriz extracelular y dar soporte estructural al folículo, además de contener vasos sanguíneos que llevarán nutrientes y oxígeno al folículo. (11,12) Las células más cercanas a la membrana basal, la teca interna, adquieren el aspecto característicos de células secretoras de esteroides. (12)

Las gonadotropinas no son esenciales para el desarrollo folicular temprano, hasta que alcanzan la fase antral (cuando el folículo mide aproximadamente 5 mm). (10) Sin embargo, la FSH participa en la formación del antro estimulando la síntesis de moléculas osmóticamente activas por las células de la granulosa (versicano, ácido hialurónico). (10) Estas moléculas son las que establecen un gradiente osmótico hacia la cavidad folicular.

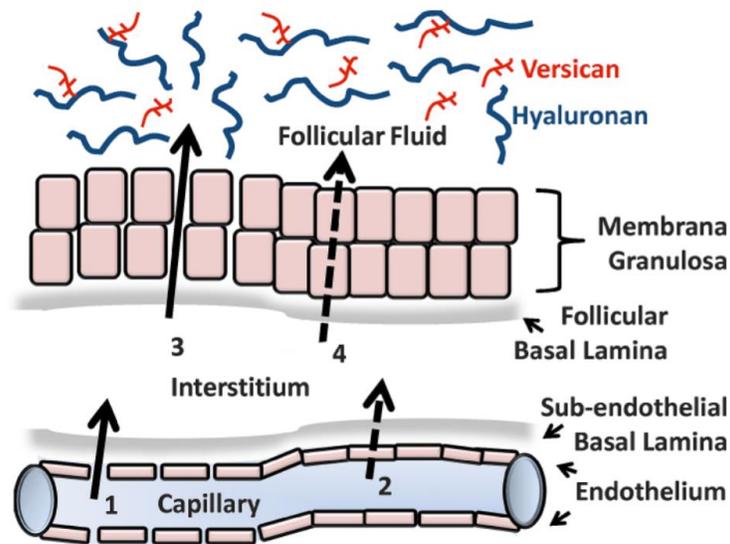


Fig. 2 Ruta que debe seguir el líquido folicular; atraviesa el endotelio, la lámina basal sub-endotelial, la lámina basal folicular y las células de la granulosa. Versicano y ácido hialurónico generan el gradiente osmótico hacia la cavidad folicular. Rodgers R. et al. Formation of the Ovarian Follicular Antrum and Follicular Fluid. Biol Reprod. 2010;82(6):1021–9.

Los ovarios de mujeres adultas jóvenes contienen miles de folículos primordiales (folículos quiescentes que representan la reserva ovárica) y cientos de folículos en crecimiento. Dentro de estos últimos, algunas decenas de folículos antrales pequeños (con diámetro entre 2-5 mm) representan el "pool" de folículos que pueden responder a gonadotropinas que aún no entran en la fase de foliculogénesis terminal y constituyen la reserva de folículos para la ovulación y técnicas de reproducción. Los folículos antrales pequeños (también llamados folículos seleccionables) son los principales contribuyentes de los niveles circulantes de la hormona antimulleriana (AMH). La evaluación de la reserva ovárica ya sea mediante la cuenta folicular antral por ultrasonido o midiendo los niveles séricos de AMH determinan la tasa de éxito de las técnicas de reproducción asistida. (13)

1.1.2. Foliculogénesis terminal

Hasta este momento, el crecimiento folicular se considera independiente de gonadotropinas porque el folículo es capaz de alcanzar la fase de folículo seleccionable en ausencia de FSH (≥ 2 mm de diámetro). (12) A partir de este punto, el folículo comienza a responder al estímulo de FSH hasta entrar a la foliculogénesis terminal, en donde el folículo es incapaz de alcanzar el tamaño ovulatorio en ausencia de gonadotropinas. (10,14) La foliculogénesis terminal por lo tanto, es estrictamente dependiente de gonadotropinas (FSH y LH), en donde actúan sinérgicamente las células de la teca y la granulosa junto con factores ováricos y endocrinológicos. (10) Para que pueda haber una transición folicular se presente

de manera adecuada, es necesario que las células de la granulosa se diferencien, expresando receptores de FSH y LH.

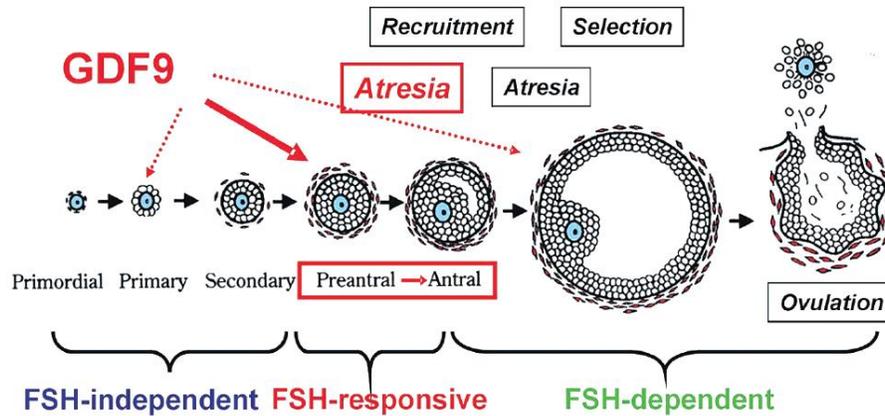


Fig. 3 Etapas del folículo en donde es independiente de FSH, con capacidad para responder a FSH y dependiente de FSH. Y. L. Advanced studies on ovary physiology in China in the past 30 years. Acta Physiol Sin. 2016;68(4):366–84.

1.1.2.1. Expresión de receptores para FSH y LH

El folículo primordial, primario y secundario son independientes de FSH, y su desarrollo se debe a factores paracrinos intraováricos y foliculares. Los folículos adquieren dependencia a FSH durante la etapa de transición de los folículos preantral a antral, y el mecanismo por el que se desarrolla el folículo comienza a cambiar de los reguladores intraováricos a las gonadotropinas. Este cambio es crucial para determinar el destino del folículo (crecimiento o atresia) posterior a la fase preantral. (15)

Los receptores de FSH y LH son receptores transmembrana asociados a proteína G. Algo importante a tener en cuenta es que los receptores de FSH solo pueden unirse con FSH, mientras que los receptores de LH se pueden unir tanto con LH, como con la hormona gonadotropina coriónica humana (hCG). (16)

La FSH juega un rol muy importante en el crecimiento folicular, teniendo mayor expresión de receptores en las células de la granulosa en la fase folicular antral pequeña (2-5 mm). En cambio, la expresión de los receptores de LH incrementa significativamente durante la selección folicular (a partir de los 10 mm). De esta manera la fase dependiente de gonadotropinas se puede clasificar en una fase de crecimiento dependiente de FSH y una fase de maduración dependiente de LH. (15,17,18)

Al igual que las células de la granulosa, las células de la teca tampoco expresan receptores para gonadotropinas en un inicio. Los receptores de LH comienzan a expresarse inicialmente solo en las células de la teca. Sin embargo, conforme el folículo crece también

las células de la granulosa comienzan a expresar receptores de LH. Esto es importante para que el folículo pueda responder al aumento preovulatorio de LH.

1.1.2.2. Función de la FSH y LH en la foliculogénesis y esteroidogénesis

Tanto la FSH como la LH estimulan enzimas que participan en la esteroidogénesis. La FSH estimula la supervivencia y diferenciación de las células de la granulosa en células esteroidogénicas con capacidad de producir estradiol, expresando las siguientes proteínas: (10)

- Proteína StAR
- Enzima P450scc (enzima de escisión de la cadena lateral del colesterol; nombre del gen: CYP11A1)
- Proteína 3 β HSD2 (3-beta-hidroxiesteroide deshidrogenasa tipo 2; nombre del gen: HSD3B2)
- Enzima P450arom (aromatasa; nombre del gen: CYP19A1)

La maduración final del folículo preovulatorio es llevada a cabo por la LH. Este estimula la producción de andrógenos, expresando las siguientes proteínas en las células de la teca:

- Proteína StAR
- Enzima P450scc
- Proteína 3 β HSD2
- Proteína P450c17 (gen: CYP17A1): con sus dos isoenzimas 17-alfa hidroxilasa y 17,20 liasa.

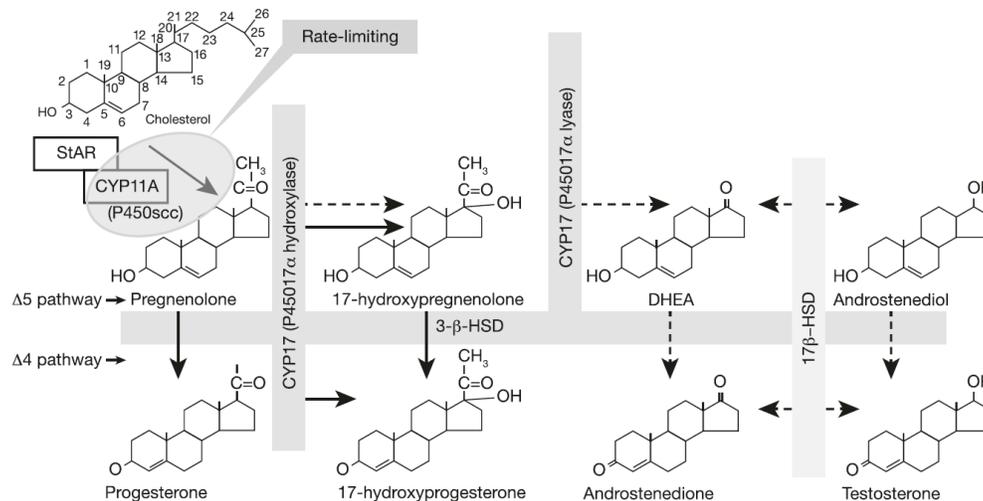


Fig. 4 Vía D4 y D5 de la esteroidogénesis, presentes en el ovario. Anderson C. et al. Human steroidogenesis: implications for controlled ovarian stimulation with exogenous gonadotropins. *Reprod Biol Endocrinol.* 2014;12(128).

Los estrógenos son producidos a partir de los andrógenos por una compleja serie de reacciones que son llevados a cabo por una única enzima, la aromatasa (P450arom). (19) Se ha demostrado que altas concentraciones de andrógenos se encuentra de manera universal en todos los folículos, indicando que la actividad de la teca se encuentra presente en casi todas las etapas del folículo. Conforme el folículo crece, la proporción de esteroides cambia, prevaleciendo el estradiol en etapas avanzadas de la foliculogénesis. (20)

Los folículos pequeños (<6 mm) son esencialmente "androgénicos", mientras que los folículos más grandes son "estrogénicos" y los folículos preovulatorios más "progestágenos". El cambio de un ambiente estrogénico a un ambiente progestágeno no indica una reducción en los estrógenos, sino más bien un aumento en la progesterona. Esto tiene relación con el aumento de la sensibilidad a la LH por parte de las células de la granulosa. (20) En la **figura 5** se observa la cantidad de cada esteroide según la etapa del folículo. (12)

Follicle type	E2	A + T + DHT	17 α -OHP	P
Atretic (1–5 mm)	20 \pm 5	794 \pm 90	–	73 \pm 13
Selectable	15 \pm 5	638 \pm 113	–	130 \pm 45
Newly selected	658 \pm 38	487 \pm 128	713 \pm 318	417 \pm 120
Preovulatory 1	1270 \pm 161	542 \pm 176	460 \pm 112	440 \pm 74
Preovulatory 2	2396 \pm 348	203 \pm 37	1002 \pm 212	1228 \pm 228
Preovulatory 3	2583 \pm 228	287 \pm 44	1812 \pm 142	2464 \pm 226
Preovulatory 4	1109 \pm 142	79 \pm 21	2034 \pm 326	7773 \pm 643

Fig. 5 Concentración de esteroides según la etapa folicular. E2: Estradiol, A: Androstenediona, T: Testosterona, DHT: Dihidrotestosterona, 17 α -OHP: 17 α -Hidroxi progesterona, P: Progesterona. Gougeon A. Human ovarian follicular development: From activation of resting follicles to preovulatory maturation. Ann Endocrinol. 2010;71(3):132–43.

1.1.2.3. Teoría de las dos células dos gonadotropinas

Tanto los andrógenos como los estrógenos son necesarios para el adecuado desarrollo folicular. El último paso para la biosíntesis de estrógenos es la aromatización del anillo A de los andrógenos, por la enzima aromatasa. Sin embargo, las células de la teca no expresan aromatasa y, las células de la granulosa no tienen la capacidad de sintetizar andrógenos. Debido a esto, la teoría más aceptada que explica la síntesis de estrógenos es la teoría de "las dos células, dos gonadotropinas", en la que supone una interacción entre las células de la teca y las células de la granulosa. Las células de la teca con suficiente vascularización y dotación de receptores para LDL, dispone de los sistemas enzimáticos capaces de transformar la pregnenolona en andrógenos (por contener CYP17A1). Las células de la granulosa tienen gran capacidad de sintetizar estrógenos (por contener CYP19A1). La teca por lo tanto, es la fuente de suministros de andrógenos para que las células de la granulosa produzca estrógenos. (21)

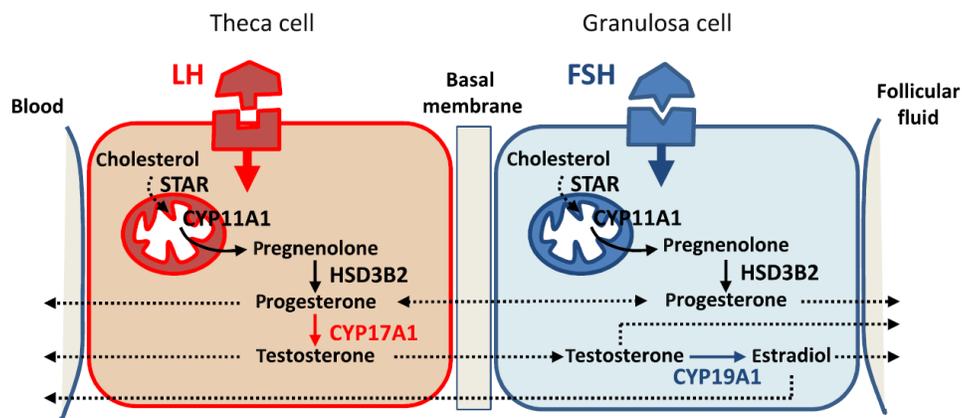


Fig. 6 Teoría de las dos células dos gonadotropinas en la foliculogénesis terminal. Monniaux D. et al. Folliculogenesis. *Encycl Endocr Dis.* 2019;2:377–98.

1.1.3. Selección del folículo dominante

La teoría tradicional de la selección folicular hace referencia al eje FSH-E2-inhibina. Existe una relación recíproca entre los niveles de FSH y los niveles de estradiol. Durante las etapas tempranas de foliculogénesis los niveles de FSH se encuentran elevados, mientras que los niveles de estradiol se encuentran muy bajos. Conforme la FSH estimula la producción de estrógenos por parte de la granulosa, los niveles de estrógenos suben gradualmente. Asociado al incremento de los estrógenos se observa una disminución de los niveles de FSH debido al "feedback" negativo de los estrógenos (y de la inhibina) sobre la liberación de gonadotropinas. (15)

Este último fenómeno es esencial en el proceso de selección folicular. Conforme el folículo dominante crece y sigue teniendo actividad de aromatasa por estímulo de la FSH, su producción de estrógeno disminuye los niveles de FSH por debajo del mínimo necesario para que los folículos menos maduros puedan seguir desarrollándose, lo que consecuentemente los conlleva a atresia. (22) De esta manera, solo los folículos con la mayor sensibilidad a FSH pueden sobrevivir y continuar desarrollándose como un folículo dominante único. Por otro lado, los folículos con baja sensibilidad a FSH sufrirán de atresia. (15)

El "feedback" de los estrógenos y FSH se encuentra documentado en estudios en animales, en donde administrar estrógenos de manera prematura durante el ciclo ovárico, suprime el desarrollo folicular. En humanos, es bien conocido que el bloqueo de la acción biológica de los estrógenos con clomifeno provoca un aumento en la secreción de gonadotropinas y maduración de más de un folículo preovulatorio. (22)

Esto hace pensar que deben existir cambios en el folículo, de tal manera que lo hagan menos dependiente de FSH para continuar con su desarrollo. Mientras las células de la granulosa del folículo temprano solo responden a FSH, las células de la granulosa del folículo preovulatorio responden tanto a FSH como a LH, por lo que es posible que la reducción en la dependencia de FSH se deba a la adquisición de receptores de LH. Mientras que los folículos subordinados solo expresan receptores de LH en las células de la teca, el folículo dominante expresa receptores de LH en las células de la granulosa antes que todos los folículos menos maduros. (22–24)

1.1.4. Ovulación

Con el incremento en las concentraciones de estradiol, generado por el folículo dominante, se crea un cambio en el feedback en el hipotálamo e hipófisis, pasando de un feedback negativo a un feedback positivo, lo que ocasiona la liberación de gran cantidad de LH. La elevación de LH comienza 34-36 horas antes de la ovulación; 24 horas posterior a la elevación de LH alcanza su pico máximo, y 10-12 horas después se da la ovulación. En esta etapa el folículo dominante mide >15 mm. (25)

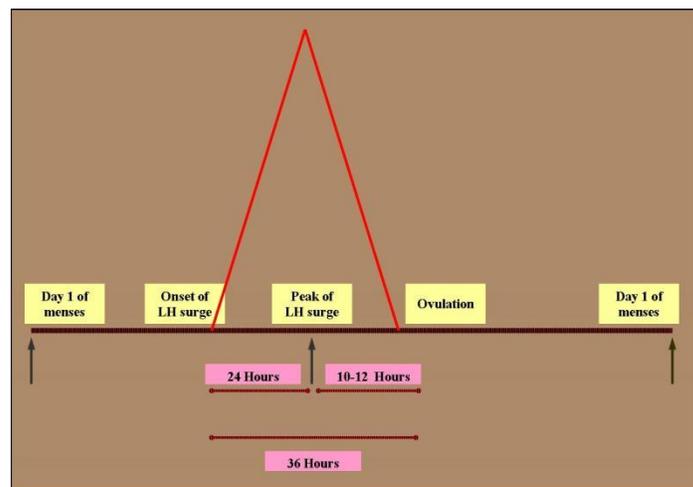


Fig. 7 Elevación de LH preovulatorio. Reed B. et al. The Normal Menstrual Cycle and the Control of Ovulation. Endotext [Internet]. 018;www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK279054/

La adquisición de receptores de LH por las células de la granulosa es un paso fundamental en la maduración folicular para poder responder de manera efectiva a la elevación de LH preovulatorio. La respuesta ovulatoria a la LH consiste en cuatro procesos: 1. Reanudación de la meiosis en el ovocito, 2. Mucificación y expansión del cúmulus, 3. Ruptura del folículo con liberación del ovocito, y 4. Luteinización. (26)

Durante la ovulación ocurre ruptura del folículo preovulatorio y la liberación del complejo de células del cúmulus-ovocito de la superficie del folículo. Esto se logra por la producción de

enzimas proteolíticas, como colagenasas y plasmina, la activación de progesterona y de prostaglandina sintetasa 2, que conlleva a la síntesis de prostaglandinas. (27)

El cúmulus produce prostaglandinas durante la ovulación por la vía de COX-2 y otras enzimas sintetizadoras de prostaglandinas. Las prostaglandinas (principalmente PGE2) actúan liberando enzimas proteolíticas en la pared del folículo, estimulan la expansión del folículo y la contracción de fibras de músculo liso que se han identificado en el ovario, lo que ayuda a expulsar el ovocito fuera del folículo. La participación de las prostaglandinas se encuentra tan bien asentado, que a las mujeres con infertilidad se les recomienda evitar el uso de antiinflamatorios no esteroideos por su capacidad de inhibir la síntesis de prostaglandinas. (28)

El ovocito no tiene receptores para gonadotropinas, por lo que su reactivación en respuesta a la LH debe depender de señales provenientes de las células de la granulosa. El ovocito madura espontáneamente una vez que se separa de las células de la granulosa del cúmulus. Se piensa que la granulosa evita su maduración a través de la aportación de AMPc o de adenilato ciclasa al ovocito, por medio de las conexiones citoplasmáticas. El pico de LH rompe las uniones intracelulares entre las células de la granulosa y el ovocito, disminuyendo los niveles de AMPc y estimulando consecuentemente la reentrada del ovocito al ciclo celular. (29)

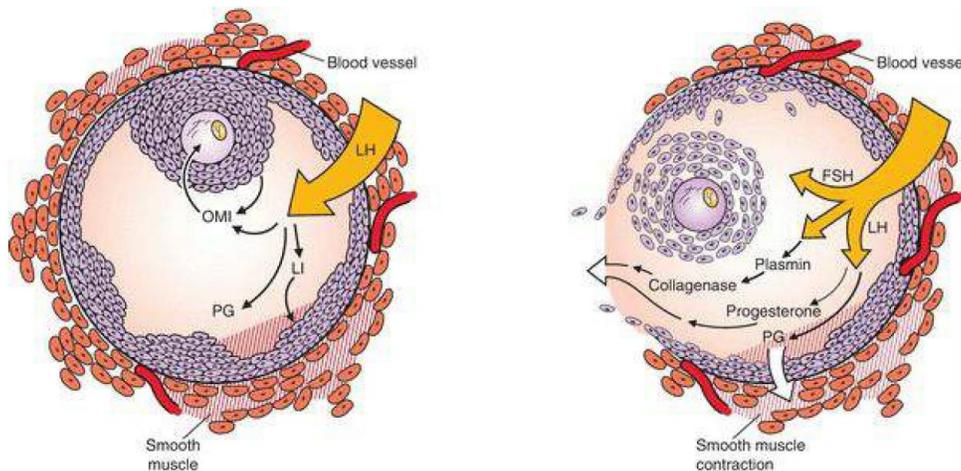


Fig. 8 El pico de LH desencadena una cascada de pasos que ocasionan degradando la membrana basa, rompiendo las uniones entre las células del cúmulus y expulsando el ovocito fuera del folículo. Taylor H. et al. Regulation of the menstrual cycle. Speroff's Clin Gynecol Endocrinol Infertil. 2020;9th Edition.

1.2. ESTIMULACIÓN OVÁRICA

1.2.1. Medición de la reserva ovárica

La reserva ovárica se define como el número de ovocitos (cantidad de ovocitos) que permanecen en el ovario. La cantidad de ovocitos o reserva ovárica es diferente a la calidad de los ovocitos, el cual tiene relación con la capacidad de un ovocito fertilizado de tener como resultado un recién nacido vivo. (4)

La reserva ovárica es un fenómeno complejo en donde influyen factores como la edad, genética y factores ambientales. Tiene una correlación inversa con la edad, pero existe una amplia variación entre mujeres con la misma edad cronológica. La disminución de la reserva ovárica es irreversible y aunque sigue siendo un reto predecir la tasa de velocidad a la que disminuirá la reserva ovárica de una mujer, el médico puede dar orientación sobre el potencial reproductivo de una mujer en un momento dado y ofrecer recomendaciones de tratamiento de fertilidad a mujeres que deseen tener un hijo. (30)

Las pruebas para medir la reserva ovárica se empezaron a utilizar con el surgimiento de la tecnología de reproducción asistida a finales de la década de los 80s, con el objetivo de predecir tanto la respuesta a medicamentos estimuladores de ovulación como la probabilidad de embarazarse con el tratamiento. (30) Estas pruebas incluyen las pruebas bioquímicas y el ultrasonido de ovario. Las pruebas bioquímicas se pueden dividir a la vez en tres: (4)

- Medición de FSH, E2 o inhibina B en la fase folicular temprana
- Medición de hormona antimulleriana (HAM)
- Prueba de exposición al citrato de clomifeno

La primera prueba creada fue la determinación de FSH en el día 3 del ciclo (1988), seguido de la prueba con citrato de clomifeno (1989). Posteriormente se crea la prueba con agonistas de GnRH (1989), la inhibina B (1997), el recuento de folículos antrales (1997) y la hormona antimulleriana (2002). (30)

La inhibina B y la HAM son hormonas glicoproteicas producidas por folículos pequeños, y por lo tanto son mediciones directas del pool folicular. La secreción de HAM se da principalmente por los folículos primarios, preantrales y antrales en fase temprana, mientras que la inhibina B es secretada principalmente por folículos preantrales. (4)

1.2.2. Concentraciones basales de FSH y E2

Las concentraciones séricas basales de FSH y estradiol se encuentran elevadas en los días 2, 3 y 4 del ciclo menstrual en mujeres con reserva ovárica disminuida (ROD). La concentración sérica basal elevada de FSH es específica, pero no sensible, como prueba para ROD. Sin embargo, los niveles de FSH tienen mucha variabilidad durante el ciclo y de un ciclo a otro, lo que limita su valor al usarse como única prueba. Por esa razón, es que se recomienda combinarse con la medición de estradiol, pues ayudar a una mejor

interpretación de los resultados de FSH. Una elevación temprana de E2 es una característica clásica de envejecimiento reproductivo y puede disminuir los niveles basales de FSH a rangos normales, causando una inadecuada interpretación de la prueba. Cuando la FSH basal se encuentra en rango normal pero el E2 se encuentra elevado (>60-80 pg/ml), esto puede indicar disfunción ovárica atribuido a ROD. (4)

La FSH tiene alta especificidad (45-100%) en identificar baja respuesta ovárica (definido como ≤ 4 folículos recuperados) utilizando múltiples puntos de corte (10-20 IU/l), pero su sensibilidad es relativamente baja (11-86%) y disminuye conforme más alto es el punto de corte. Estos números se traducen en que, si la FSH se encuentra elevada, es prácticamente sinónimo de ROD tardía (alto valor predictivo positivo), sin embargo, la mayoría de las mujeres tendrán una FSH normal (incluidas las que tengan ROD), lo que habla de un valor predictivo negativo bajo. La FSH no tiene valor predictivo sobre el riesgo de desarrollar síndrome de hiperestimulación ovárica. (30)

1.2.3. Hormona antimulleriana

La HAM producida exclusivamente por las células de la granulosa a partir de que los folículos primordiales inician su desarrollo hasta que alcanzan un tamaño de entre 2 y 6 mm. De esta manera la HAM es secretada por folículos cuyo crecimiento es independiente de gonadotropinas, por lo tanto, sus niveles permanecen constantes durante el ciclo menstrual. (31)

La producción de HAM comienza in útero a las 36 semanas de gestación, sus niveles tienen un incremento acelerado a partir de la adolescencia hasta alcanzar su pico máximo a los 25 años, posteriormente sus niveles disminuyen gradualmente hasta volverse indetectables pocos años antes de la menopausia. (30) La HAM actúa como un regulador paracrino negativo de la foliculogénesis temprana al inhibir el reclutamiento de folículos primarios a partir del pool de folículos primordiales, previene la selección folicular por la FSH e inhibe la aromatasas. (32,33)

La HAM es más sensible para medir la reserva ovárica que los niveles de FSH, además de que sus niveles tienden a disminuir antes de que la FSH se eleve. Por esta razón la HAM ha reemplazado a las pruebas que miden FSH y E2. (4)

En una revisión sistemática de mujeres que fueron sometidas a estimulación ovárica con gonadotropinas, un punto de corte de HAM de 0.1-1.66 ng/ml tuvo una sensibilidad de 44-97% y especificidad del 41-99% para predecir baja respuesta ovárica. Además de que demostró ser de gran utilidad para predecir hiperestimulación ovárica con estímulo de gonadotropinas, con una sensibilidad del 53-90% y especificidad del 80-94% cuando se utilizaban puntos de corte de 3.3-5.0 ng/ml. (34) A pesar de ello, la HAM es un pobre predictor de embarazo, teniendo una sensibilidad y especificidad para embarazo clínico del 34-86% y del 26-78%, respectivamente, con puntos de corte entre 1.0-3.22 ng/ml. Por esta razón es que se sugiere al personal médico no denegar el tratamiento de infertilidad a mujeres solamente por tener una HAM baja. (35)

Los niveles de HAM pueden verse alterados por otras circunstancias no relacionadas a la edad. Por ejemplo, el síndrome de ovario poliquístico se asocia a niveles elevados de HAM, incluso niveles de HAM >5 ng/ml tiene una sensibilidad del 92% y especificidad del 97% para diagnóstico de SOP. (36) Por otro lado, el uso de anticonceptivos hormonales o de agonistas de GnRH disminuye sus niveles, retornando a sus niveles basales 3-4 meses después de discontinuarlos. Otros factores asociados a bajos niveles de HAM son la obesidad, el tabaquismo y bajos niveles de vitamina D. Es importante tener esto en cuenta al momento de interpretar los resultados para evitar una evaluación inexacta de la reserva ovárica. (30)

El límite inferior de HAM para cada edad se muestran a continuación: (30)

Edad	Límite inferior HAM (ng/ml)
25 años	3.0
30 años	2.5
35 años	1.5
40 años	1
45 años	0.5

Tabla 1 Límite inferior de HAM por rango de edad. Tal R. et al. Ovarian reserve testing: a user's guide. AJOG. 2017;217(2):129–40

Los autores que reportan estos valores mencionan ser conservadores, ya que en estudios más grandes se han reportado valores 30-40% mayores a los que aparecen en la tabla. De tal manera que, si una mujer de 35 años presenta una HAM de 1 ng/ml, debería ser de preocupación, ya que se esperaría que tuviera al menos 1.5 ng/ml. En estos casos se debe de ser más expeditivo en el tratamiento de fertilidad, especialmente si la paciente tiene deseos de tener más de un hijo. (30)

1.2.4. Recuento de folículos antrales (RFA) y volumen ovárico

Las mediciones ultrasonográficas para la reserva ovárica incluyen el RFA y el volumen ovárico. El RFA es la suma del número de folículos antrales en ambos ovarios observados por ultrasonido transvaginal durante la fase folicular temprana (día 2-4 del ciclo). La mayoría de los estudios define los folículos antrales como aquellos que tienen un diámetro de 2-10 mm en el plano bidimensional mayor. (4)

El rango en el recuento de folículos antrales normalmente es entre 3 a 10 folículos. Tener un RFA de 3-4 folículos tiene una alta especificidad (73-97%) para predecir baja respuesta ovárica, pero una baja sensibilidad (9-73%). Además, al igual que la HAM, el RFA es un pobre predictor de embarazo. (31)

Aunque es una prueba que es fácil de realizar, con un resultado inmediato, con poca variación interciclo y con buena confiabilidad interobservador cuando se realiza en un mismo centro, tiene las limitantes de que solo puede llevarse a cabo en un periodo del ciclo

muy corto, el sobrepeso y la obesidad disminuyen su precisión, y depende de la resolución del ultrasonido. Además, esta prueba no puede realizarse en pacientes con patología ovárica como síndrome de ovario poliquístico, endometriomas o quistes muy grandes. (31)

Al igual que la HAM es un buen predictor de síndrome de hiperestimulación ovárica en aquellas con alto riesgo. (30)

A continuación, se muestra un esquema mostrando la relación entre el desarrollo folicular y los marcadores de reserva ovárica:

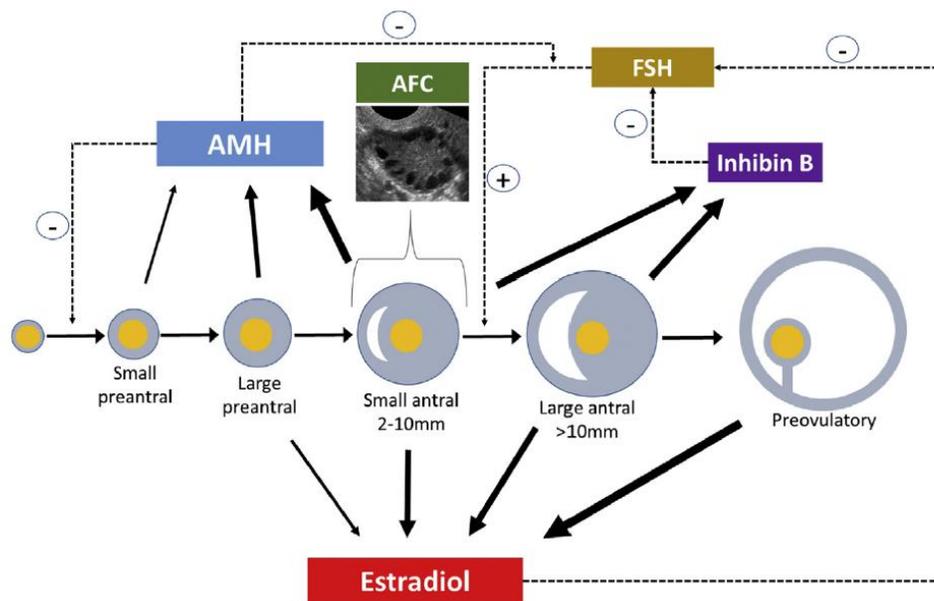


Fig. 9 Etapas foliculares reflejadas por pruebas de reserva ovárica. Tal R. et al. Ovarian reserve testing: a user's guide. AJOG. 2017;217(2):129–40

1.2.5. Utilidad de las pruebas de reserva ovárica

La reserva ovárica disminuye con la edad, al igual que la tasa de fertilidad. Esto ha llevado a la presunción de que la reserva ovárica debería predecir la capacidad reproductiva de una mujer, sin embargo, esto no se ha comprobado en múltiples estudios. Como ya se mencionó anteriormente, la HAM tiene un bajo rendimiento diagnóstico tanto para predecir embarazo como para predecir quienes que no se van a embarazar. (4,37)

De este último punto es por lo que se cuestiona el valor costo efectividad de las pruebas para estimar la reserva ovárica. Estas no son útiles para predecir embarazo, sin embargo, se utilizan en la práctica clínica junto con la edad para estimar la respuesta a estimulación ovárica. (31)

El objetivo de utilizar pruebas de reserva ovárica como estudio de tamizaje es identificar a mujeres infértiles con riesgo de tener baja reserva ovárica, las cuales tienen mayor probabilidad de tener una baja respuesta al estímulo con gonadotropinas y por ende menor probabilidad de embarazo con técnicas de reproducción asistida o inductores de ovulación. Tener una reserva ovárica disminuida no necesariamente significa infertilidad, solamente que podría estar disminuida su probabilidad de embarazo. (4,30)

1.2.6. Baja respuesta ovárica

Es importante distinguir entre una reserva ovárica disminuida (ROD), en donde las pruebas de reserva ovárica se encuentran alteradas, y baja respuesta ovárica (BRO), en donde se tuvo una respuesta subóptima al tratamiento con estimulación. De acuerdo con el consenso de Bolonia, una baja respuesta ovárica indica un bajo número de ovocitos recuperados y se diagnostica por la presencia de 2 de los siguientes 3 criterios: (38)

1. Edad materna avanzada ≥ 40 años o presencia de otros factores de riesgo para BRO
2. Ciclo de estimulación previo con ≤ 3 ovocitos recuperados
3. Pruebas de reserva ovárica alteradas con HAM $< 0.5-1.1$ ng/ml o RFA $< 5-7$

Dos episodios de baja respuesta ovárica después de estimulación máxima es suficiente para definir a una paciente como baja respondedora cuando no tiene edad materna avanzada o una prueba de reserva ovárica alterada.

1.2.7. Historia de la estimulación ovárica

La estimulación ovárica (EO) se define como el uso de medicamentos que tiene como intención inducir el desarrollo de folículos ováricos. Se puede utilizar para dos propósitos: 1. Relaciones sexuales programadas o inseminación artificial y 2. Reproducción asistida, para obtener múltiples ovocitos por aspiración folicular. (5)

Existe múltiples fármacos que se utilizan en la práctica hoy en día para la estimulación ovárica, es importante conocer la historia del desarrollo de dichos fármacos para entender por qué son los medicamento de referencia hoy en día.

En 1937 se intenta por primera vez la estimulación ovárica en mujeres con anovulación, con gonadotropina sérica equina, extraído de yeguas embarazadas, sin embargo, sin mucho éxito en un inicio. En 1941 se introduce el concepto de protocolo con dos pasos, utilizando gonadotropina sérica equina y posteriormente induciendo la ovulación con HGC, logrando la menstruación en 19 de 23 mujeres. (39) Esta hormona no fue utilizada por mucho tiempo debido a que se desarrollaban anticuerpos contra la hormona equina, lo que provocaba que posterior a 1 o 2 ciclos se volvieran insensibles al tratamiento, lo que marcó el fin de su uso. (40)

En 1958 se descubre otra fuente de gonadotropinas, la glándula pituitaria de cadáveres. (41) La gonadotropina pituitaria humana se utilizó en pacientes hipofisectomizadas para inducir la ovulación hasta 1988 que se reportaron 12 casos de enfermedad de Creutzfeldt-Jakob y murieron por esta condición algunos años después del tratamiento. (42)

La gonadotropina menopáusica humana o menotropina (HMG) se desarrolló durante el mismo periodo que la gonadotropina pituitaria humana. Esta gonadotropina se encuentra presente en la orina de mujeres postmenopáusicas y se extrae utilizando caolín para absorber las glicoproteínas y posteriormente administrando anticuerpos polivalentes contra HGC para unirse a LH y anticuerpos monoclonales anti-FSH. Se empezó a utilizar en humanos en 1959 observando cambios muy importantes en la secreción de esteroides y en el epitelio endometrial y vaginal, y en 1962 se obtuvo el primer recién nacido vivo con la administración de HMG. (43) A pesar de las técnicas de purificación, el producto no seguía siendo 100% puro, presentando todavía proteínas urinarias, lo que ocasionaba reacciones de hipersensibilidad y en el sitio de inyección. (44)

Por esta época se desarrolló la hipótesis del umbral de la FSH, en donde se sugiere que alargar el periodo de ventana de la FSH conlleva a un incremento en el número de folículos desarrollados en la etapa folicular temprana. A partir de este rápido desarrollo en el campo, a mediados de 1950 se formó el club G (club de gonadotropinas) en donde científicos de todo el mundo se reunían para asentar las bases del futuro de las gonadotropinas, así como estandarizar los nuevos productos que salieran al mercado. (45)

Poco después del uso de la HMG para procedimientos de estimulación ovárica, se reportó el primer caso de SHO en 1965. Como resultado la OMS propuso una clasificación para el manejo de estos casos en 1969. (46)

La teoría de las dos células dos gonadotropinas se propuso en 1966.(47) Se sabe hoy en día que se necesita que los niveles de LH superen cierto umbral para el adecuado desarrollo del ovocito, y que lo contrario, provoca una maduración insuficiente del ovocito. De igual manera, un exceso de LH provoca la luteinización temprana del folículo, con subsiguiente atresia folicular y pobre calidad del ovocito, conllevando a menor tasa de embarazo. Viendo el efecto no deseado de las altas concentraciones de LH se intentó purificar la HMG. Esto se logró administrando anticuerpos polivalentes contra HGC y utilizando anticuerpos monoclonales anti-FSH que separaban la FSH de las proteínas urinarias y de la LH. Con esto se logró obtener una FSH altamente purificada. Esta demostró ser más efectiva que la HMG, incrementando la tasa de embarazo 1.7 veces. El problema con la FSH altamente purificada es que se necesitan grandes cantidades de orina de mujeres postmenopáusicas, lo que hace muy difícil conseguir las donadoras suficientes para la alta demanda, debido al creciente número de indicaciones de las gonadotropinas. De hecho, el primer embarazo logrado por FIV fue resultado de estimulación con HMG, aunque terminó siendo un embarazo ectópico. El primer nacimiento logrado por FIV se dio en 1978 con Louise Brown. (45)

En 1953 Watson y Crick publicaron su artículo clásico que describe la estructura del DNA. En 1958 Crick propone el dogma central de la biología molecular. En 1972 se obtiene la primera secuencia de genes completa y en 1974 Shome y Parlow descubren la secuencia

de aminoácidos de FSH. (44) La producción de gonadotropinas utilizando la tecnología de ingeniería genética recombinantes fue posible una vez que se pudieron aislar los genes humanos codificantes para la subunidad alfa y beta. Esto llevo a la preparación de vectores que pueden transferirse dentro de una línea celular de mamífero inmortalizada, llamado línea celular de ovario de hámster chino (CHO). Estas líneas celulares se utilizaron para establecer los bancos de células maestras. (45)

Las ventajas de haber creado la FSH humana recombinante incluyen la disponibilidad de cantidades ilimitadas de la hormona, la garantía de tener un producto con la misma calidad de un lote a otro lote, y la disponibilidad de un preparado purificado que no se encuentre contaminado por proteínas urinarias. Además, haciendo análisis costo beneficio, utilizar la FSH recombinante es más rentable que utilizar HMG por ser más efectiva. Tecnología similar fue utilizada para crear LH recombinante y HGC recombinante, disponibles en el mercado actualmente. (45) El primer embarazo logrado utilizando FSH para FIV se logró en 1992. (44)

No fue hasta que se desarrolló la purificación por inmunoafinidad y la cromatografía líquida de alta resolución que se pudieron obtener gonadotropinas derivadas de la orina con bajos niveles de proteínas (<1%). Esto permite al médico combinar FSH y LH recombinante con gonadotropinas menopáusica humana, lo que otorga mayor flexibilidad para determinar protocolos de estimulación individualizados. (44)

Por varios años, el aumento prematuro de LH en los protocolos de estimulación ovárica provocaba ovocitos y embriones de mala calidad, con bajas tasas de implantación y embarazo. A partir de 1983, se usa por primera vez buserelina, un agonista de GnRH, con el objetivo de suprimir la elevación de LH endógena, acorde a un protocolo de tratamiento llamado "protocolo largo con agonista de GnRH". Este protocolo incluye la administración de agonista de GnRH ya sea en la fase folicular temprana o en la fase lútea media. Después de 14 días, cuando la secreción de LH se encuentra suprimida, se administran gonadotropinas hasta que el folículo alcanza un tamaño apropiado y se induce la ovulación con HGC. (48)

Posteriormente se creó el mismo protocolo utilizando antagonistas de GnRH, con la ventaja de acortar la duración del tratamiento de estimulación, y por lo tanto utilizar una dosis acumulada más baja de gonadotropinas; disminuye el riesgo de SHO, así como el efecto de brote, disminuyendo el riesgo de formación de quistes; no provoca depleción de las hormonas esteroides y por consiguientes evita sus efectos secundarios. (45)

El clomifeno se sintetizó en 1956 y se creyó que funcionaba como anticonceptivo al ocasionar infertilidad en las ratas. Pronto se dieron cuenta que el clomifeno inducía la ovulación en las mujeres y en 1963 se reportó en la literatura el primer embarazo logrado con clomifeno. La FDA aprobó su uso como medicamento para inducir la ovulación en 1967. A partir de ahí la FDA no ha autorizado ningún otro medicamento vía oral para este propósito. El tamoxifeno es un modulador selectivo de los receptores de estrógeno. Similar al clomifeno, actúa inactivando los receptores de estrógeno en el hipotálamo. Sin embargo, a diferencia del clomifeno el tamoxifeno actúa como agonista estrogénico en la vagina y

endometrio. El tamoxifeno ha demostrado ser igual de efectivo que el clomifeno en inducir la ovulación en ensayos clínicos. (49)

El letrozol es un inhibidor de la aromatasa aprobado como tratamiento adyuvante en el cáncer de mama. La inhibición de la aromatasa provoca menores niveles de estrógeno circulante y disminución del feedback negativo en el hipotálamo e hipófisis, incrementando la secreción de gonadotropinas. (50) La última revisión de Cochrane del 2018 que compara el letrozol con el clomifeno en mujeres con SOP, menciona que con letrozol se logran mayores tasas de recién nacido vivo (OR 1.68, IC 95% 1.42-1.99), y mayores tasas de embarazo (OR 1.56, IC 95% 1.37-1.78). Teniendo las mismas tasas de síndrome de hiperestimulación ovárica, de abortos y embarazos múltiples. (51)

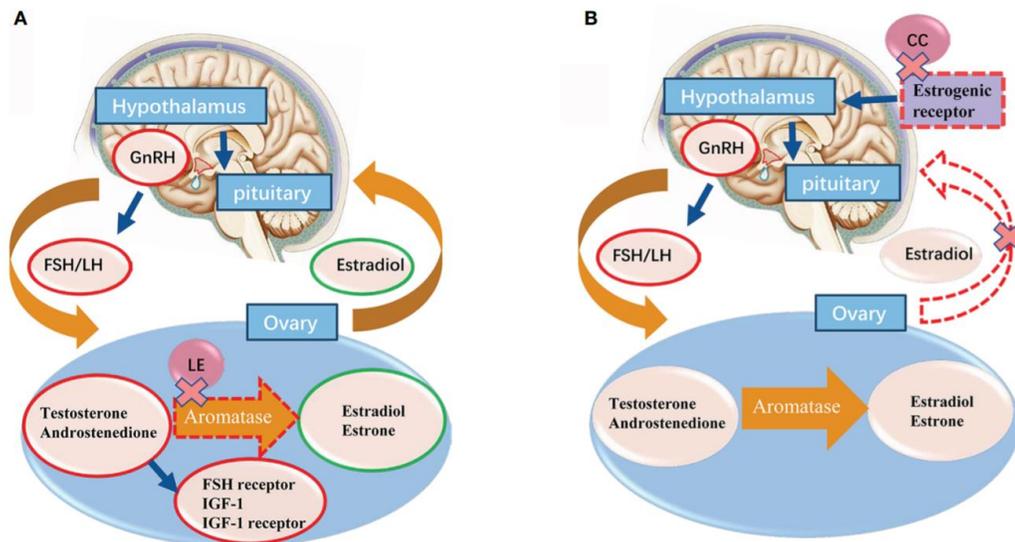


Fig. 10 Mecanismo de acción del letrozol y el citrato de clomifeno. A) Letrozol inhibe la aromatasa P450, impidiendo la formación de estrógeno. B) El citrato de clomifeno se une a los receptores de estrógenos en el hipotálamo, impidiendo su feedback negativo. Yang Ai-Min. et al. Letrozole for female infertility. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2021;12:1–8.

1.2.8. Consideraciones de la estimulación ovárica

El objetivo de la estimulación ovárica sola o en combinación con técnicas de reproducción asistida es lograr un mayor número de gametos (óvulo y espermatozoide) para aumentar la posibilidad de embarazo. La estimulación ovárica por sí sola aumenta de 2 a 4 veces la posibilidad de embarazo. (52)

Una mujer que presenta amenorrea sin anovulación teóricamente no tiene posibilidad de embarazarse y la inducción ovulatoria puede restablecer la fertilidad. Sin embargo, lograr ciclos ovulatorios normales no siempre es posible, por lo que las posibilidades de tener un embarazo múltiple o desarrollar SHO deben de considerarse siempre, especialmente en mujeres con SOP. El balance entre tener éxito y complicaciones, resultado de la inducción ovulatoria depende de múltiples factores, incluyendo las características de la paciente, el medicamento utilizado, las preparaciones de gonadotropinas y dosis utilizadas, la intensidad de la monitorización de la respuesta ovárica al estímulo y la disposición a cancelar el ciclo en caso de hiperrespuesta. (52) La incidencia de SHO leve, moderada y severa se reporta que es del 20%, 6% y 1%, respectivamente. El riesgo es mayor en mujeres jóvenes y con poco peso corporal. De igual manera el riesgo aumenta cuando se utilizan agonistas de GnRH. (53)

Se calcula que en Estados Unidos hasta el 40% de los embarazos de alto orden se atribuyen al uso de medicamentos inductores de la ovulación sin reproducción asistida. (54)

Desde el primer embarazo exitoso logrado por FIV en Estados Unidos en 1981 ha existido un aumento significativo en el uso de esta tecnología. De 1997 al 2009, el uso de FIV aumentó 84%. La probabilidad de tener un hijo vivo en 1997 era del 24%, comparado con el 30.4% en el 2009. Al mismo tiempo ha disminuido el número de embriones transferidos de 3.8 a 2.4 por ciclo. Esto ha disminuido el número de embarazos de alto orden en un 62%. Sin embargo, no ha disminuido el número de embarazos gemelares dobles, y dado que el número de parejas que optan por la reproducción asistida ha aumentado, el número de embarazo gemelares dobles también ha aumentado. (55)

Estos datos son importantes por la mortalidad perinatal aumentada de 4 a 7 veces en embarazos gemelares dobles y hasta 20 veces en triples. El riesgo de parálisis cerebral aumenta casi 50 veces en embarazos triples. Además, los costos por la atención obstétrica y neonatal aumentan de 5 a 7 veces en embarazos de alto orden. (52)

1.2.9. Estimulación ovárica para fertilización in vitro

El objetivo de la estimulación ovárica en la fertilización in vitro es el desarrollo de múltiples folículos dominantes para obtener múltiples ovocitos que pudieran estar en reserva en caso de necesitar múltiples FIV, para cultivo embrionario y selección de embriones para transferencia e implantación. De esta manera múltiples embriones pueden ser transferidos a un paciente, mientras que algunos otros pueden estar en criopreservación en caso de subsecuentes embarazos sin la necesidad de repetir la estimulación ovárica. (53)

La estimulación ovárica controlada con altas dosis de gonadotropinas y agonistas de GnRH ha sido el tratamiento estándar desde la década de 1990. Una buena respuesta ovárica al estímulo es un indicador de función ovárica normal y de buen pronóstico para el éxito de FIV. Una baja respuesta ovárica sugiere envejecimiento ovárico y se asocia a baja tasa de éxito de FIV. (52) Una baja respuesta puede predecirse con la edad cronológica y parámetros endocrinológicos y ultrasonográficos, como se mencionó en el apartado de baja respuesta ovárica.

1.2.10. Protocolo con agonistas de GnRH

Durante los inicios de la estimulación ovárica para FIV, se observó que en el 20-25% de los casos existía una elevación prematura de LH, estimulado por el feedback positivo del estradiol. Esto provocaba luteinización prematura de los folículos y cancelación del ciclo por arresto de la maduración folicular o porque se veía comprometido el resultado de la FIV. El desarrollo de los agonistas de GnRH en la década de los 80's permitió la supresión de gonadotropinas endógenas durante los protocolos de estimulación ovárica para FIV. La supresión pituitaria resulta en menores tasas de cancelación y mejores resultados del FIV. Además, utilizar agonistas de GnRH facilita programar la FIV y la aspiración de folículos. (56) Las preparaciones más frecuentes incluyen busarelina, triptorelina, nafarelina y leuprolide.

La supresión pituitaria con agonistas de GnRH es precedida de una estimulación inicial (efecto flare up), que tiene una duración de aproximadamente 2 semanas. En este protocolo largo, el tratamiento con agonistas de GnRH por lo tanto inicia en la fase lútea y se continua hasta la administración de HGC. El problema con el protocolo largo es que algunas mujeres pueden presentar efectos adversos por el hipoestrogenismo como cambios de humor, bochornos y sudoraciones. (52)

1.2.11. Protocolo con antagonistas de GnRH

La ventaja potencial de los antagonistas de GnRH es que generan una supresión inmediata de la hipófisis, por lo tanto, estos medicamentos se utilizan justo en el momento del ciclo donde existe mayor riesgo de un pico de LH prematuro (entre la parte media y tardía de la fase folicular del ciclo). Esto evita que se presenten síntomas por hipoestrogenismo. (57)

Ventajas y desventajas de utilizar antagonistas de GnRH en FIV

Ventajas

- La prevención de la elevación prematura de LH es más fácil y toma menos tiempo
- Los antagonistas de GnRH no tienen efecto "flare up"
- No presentan síntomas de hipoestrogenismo
- Evita la formación de quistes ováricos
- La duración de la estimulación ovárica es menor
- Los requerimientos de gonadotropinas son menores por lo que disminuye el costo de la estimulación ovárica
- Se reduce el riesgo de SHO
- Se evita el riesgo de administración inadvertida de agonistas de GnRH en embarazo temprano

Desventajas

- Se tiene mayor experiencia con el uso de agonistas de GnRH
- Los antagonistas de GnRH ofrecen menor flexibilidad al momento de programar el ciclo, comparado con los protocolos largos con agonistas de GnRH

1.2.12. Maduración final del ovocito

En el ciclo normo-ovulatorio natural, la ruptura del folículo dominante, la reanudación de la meiosis para avanzar hacia la metafase II y la liberación del ovocito se genera como respuesta a la elevación de la LH. Esta liberación súbita en la síntesis y liberación de LH (y FSH) ocurre por la combinación de niveles elevados de E2 y una ligera elevación de progesterona. En la estimulación de FIV, el estrógeno se eleva en etapas muy tempranas, lo que puede provocar la elevación prematura de LH. Como se mencionó anteriormente, el uso de agonistas de GnRH evita dicha elevación de LH. Por lo tanto, se requiere administrar HGC en la fase folicular tardía que reemplace el pico de LH endógena. Este esquema ha sido el estándar utilizado para la inducción de la maduración final del ovocito previo a la aspiración folicular. (58)

En protocolos de estimulación folicular para FIVTE es importante contar con ovocitos maduros (en metafase II), ya que son los óvulos capaces de ser fertilizados y por lo tanto de generar embriones. La proporción de ovocitos en metafase II se puede ver afectado por el tamaño folicular y por el protocolo de estimulación, Por esta razón es muy importante utilizar protocolos de estimulación que permitan el desarrollo de ovocitos maduros, con el objetivo de lograr el mayor número de ovocitos capaces de ser fertilizados, que logren formar un embrión euploide y, por lo tanto, aumente la probabilidad de embarazo. (59)

1.2.13. Protocolos de estimulación individualizado

Cuando se utilizan gonadotropinas para la inducción de la ovulación, la duración del tratamiento, la cantidad de gonadotropinas administradas, el desarrollo multifolicular, el SHO, y el riesgo de embarazo múltiple se podría reducir si la dosis inicial fuera individualizada. Es decir, mejoraría la seguridad de la inducción ovulatoria. (52)

Con respecto al tratamiento con FIV, parece ser que el factor más importante para determinar el resultado es la variabilidad individual de respuesta a la estimulación.(60)

La baja respuesta ovárica se relaciona con la edad, con disminución en la cantidad de folículos y calidad del ovocito (61) Esta bien establecido en FIV la relación que existe entre una baja respuesta ovárica por una reserva ovárica disminuida y las tasas de cancelación y tasa de resultados exitosos. La edad es un predictor importante para el resultado de FIV, sin embargo, la edad cronológica tiene poca relación con la "edad ovárica".

Existe mucha variabilidad entre las mujeres, ya que la menopausia puede variar en un rango entre los 40 y 60 años. (52) Esto significa que algunas mujeres mayores de 40 años pueden mostrar buena respuesta a la estimulación ovárica y tener un embarazo con FIV, mientras que otras mujeres por debajo de los 40 años pueden no responder de manera adecuada debido a una depleción acelerada de la reserva ovárica. (52)

Como se mencionó anteriormente, la FSH es un marcador de reserva ovárica. Este ha demostrado ser un predictor independiente de la edad para resultado de FIV. En la práctica actual se suele restringir la FIV en mujeres con niveles FSH basales elevados, debido a que se espera un pobre resultado. Sin embargo, aunque mujeres jóvenes con altos niveles de FSH demuestren poco crecimiento folicular y alta probabilidad de cancelación del ciclo, se pueden observar tasas de embarazo normales si se obtienen ovocitos. Mujeres mayores de 40 años con niveles normales de FSH pueden demostrar bajas tasas de cancelación, pero las tasas de implantación por embrión y de embarazo son menores que las mujeres jóvenes con niveles elevados de FSH. Por lo tanto, aunque tiene un desempeño moderado en predecir la respuesta ovárica, es un pobre predictor de embarazo. Lo mismo pasa con los demás marcadores de respuesta ovárica como la HAM y el RFA. (62)

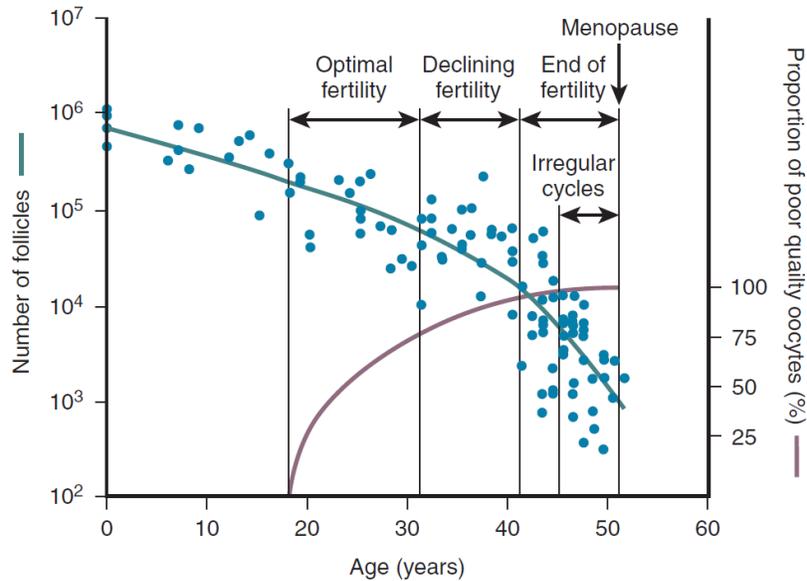


Fig. 11 Disminución en la cantidad de folículos y calidad del ovocito en relación con la edad materna. Broekmans FJ. et al. Female reproductive ageing: current knowledge and future trends. Trends Endocrinol Metab. 2007;18(2):58–65.

1.3. GRUPOS POSEIDON

Como se mencionó anteriormente, los marcadores de reserva ovárica se utilizan para predecir respuesta ovárica. Sin embargo, estos tienen bajo rendimiento al momento de predecir resultados subóptimos en tratamiento con FIV. Es por eso por lo que guiarse solamente por los criterios de Bolonia puede no ofrecer beneficio en algunas pacientes, especialmente porque no se ofrecen recomendaciones terapéuticas con estos criterios.

Lo que se ha visto claro en los últimos años es la fuerte asociación que existe entre el número de ovocitos y la tasa de nacidos vivos. Sin embargo, el número de ovocitos debe combinarse con la edad materna, ya que la probabilidad de obtener un nacido vivo entre pacientes con mismo pool de ovocitos varía dependiendo de la edad de la paciente. Significa esto que, el número de ovocitos que se necesitan para maximizar la probabilidad de tener un recién nacido vivo debe de individualizarse considerando la edad la paciente. (63)

En un intento de ofrecer un tratamiento más individualizado se establecieron los criterios de POSEIDON (Patient-Oriented Strategies Encompassing Individualized Oocyte Number) para clasificar a pacientes que reciben tratamiento de reproducción asistida (TRA). Las pacientes se clasifican en cuatro grupos dependiendo de sus resultados en los marcadores de reserva ovárica (HAM, RFA o ambos), su edad y el número de ovocitos obtenidos en ciclos previos con estimulación ovárica convencional. (63)

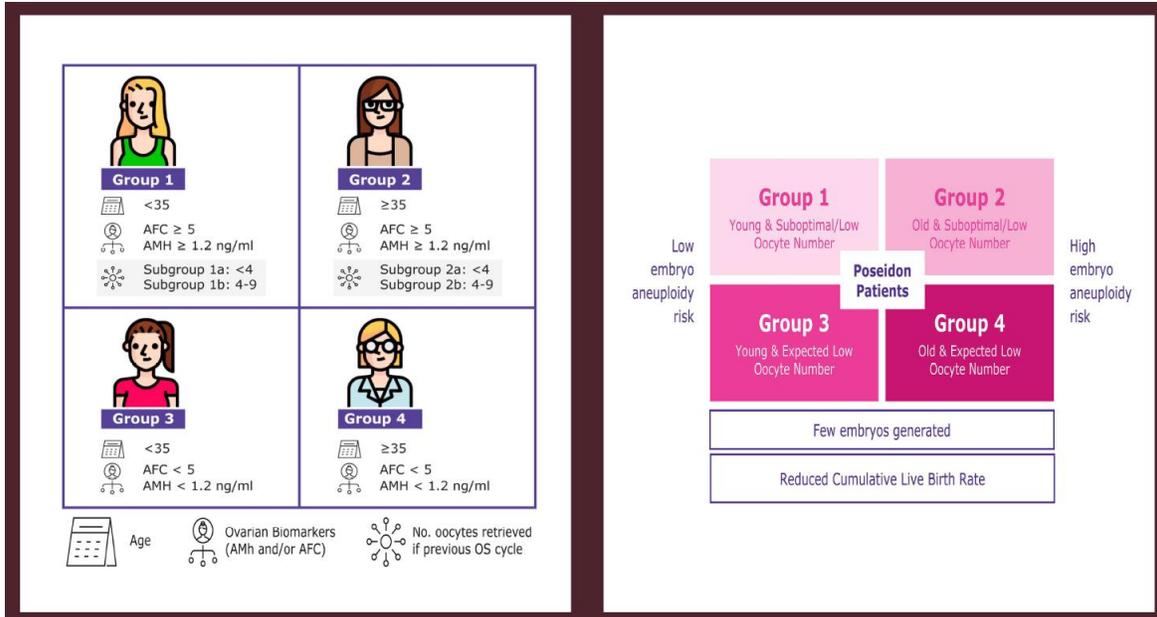


Fig. 12 Criterios de POSEIDON para bajo pronóstico a tratamiento de reproducción asistida. Esteves S. et al. The POSEIDON Criteria and Its Measure of Success Through the Eyes of Clinicians and Embryologists. Front Endocrinol (Lausanne). 2019;10(814):1–8.

Las mujeres con bajo pronóstico para TRA debido a un número reducido de ovocitos, limita su número de embriones producidos. Esta condición se agrava aún más por la edad materna, por el riesgo de tener un embrión aneuploide, afectando la tasa de nacidos vivos por ciclo.

De acuerdo con los criterios de POSEIDON, las pacientes se clasifican en grupo 1 y 3 si son menores de 35 años, y grupos 2 y 4 si son mayores de 35 años. La edad es importante porque se relaciona con la euploidía del embrión y con probabilidad de nacidos vivos. En un estudio donde se analizaron 1,296 biopsias de trofoectodermo se calculó la probabilidad de tener un embrión euploide de acuerdo con la edad; en la siguiente figura se puede observar como la probabilidad de tener un embrión euploide disminuye conforme aumenta la edad de la paciente. (64)

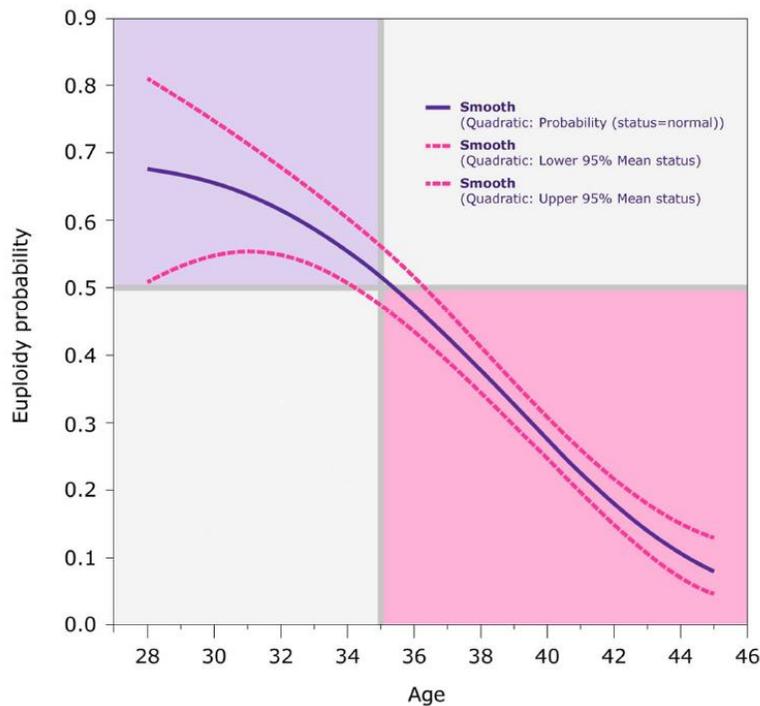


Fig. 13 Probabilidad de un blastocisto euploide en relación con su edad. Esteves S. et al. Estimation of age-dependent decrease in blastocyst euploidy by next generation sequencing: development of a novel prediction model. *Panminerva Med.* 2019;61(1):3–10

Este fenómeno biológico en combinación con una reserva ovárica disminuida en mujeres con edad avanzada puede aumentar aún más el riesgo de no tener un embrión euploide para transferir. Se han creado calculadoras para estimar el número de ovocitos necesarios para obtener al menos 1 blastocisto euploide considerando la edad, marcadores de reserva ovárica, así como factores masculinos. Así, por ejemplo, la calculadora estima que se necesitan al menos de 6-9 y de 10-15 ovocitos maduros para obtener un blastocisto euploide para transferir en los grupo 3 y 4 de POSEIDON a la edad de 33 y 36 años, respectivamente. (65)

El objetivo de agrupar a las pacientes según los criterios de POSEIDON es individualizar el tratamiento de estimulación ovárica, seleccionando adecuadamente el régimen de supresión pituitaria, la gonadotropina ideal, así como la dosis, para optimizar la respuesta ovárica y obtener el mayor número de ovocitos posibles para obtener un embrión euploide que tenga las mayores posibilidad de implantación. (66)

1.3.1. Estrategias de manejo para el grupo 1 de POSEIDON

El grupo 1 incluye a las mujeres con aparentemente mejor pronóstico, refiriéndose a mujeres jóvenes (<35 años), con adecuada reserva ovárica (RFA ≥ 5 , HAM ≥ 1.2 ng/ml) y con pobre (<3 ovocitos) o subóptima (4-9 ovocitos) respuesta a la estimulación ovárica convencional.

Algunas teorías fisiopatológicas tratan de explicar la razón de una respuesta pobre/subóptima en este grupo. La teoría dominante es la que sugiere una alteración de la sensibilidad ovárica a las gonadotropinas, derivado de variaciones genéticas en los receptores de gonadotropinas. En particular, polimorfismos en los receptores de FSH (Ser680Asn y Thr307Ala) se han asociado a disminución en la sensibilidad, y podría ser la explicación más razonable para una respuesta inadecuada a la estimulación ovárica. Necesitando mayores dosis en estas mujeres. (67)

Por otro lado, se han identificado variantes en la subunidad beta de la LH que afecta la sensibilidad de FSH y la respuesta ovárica a la FSH. Mujeres con estas variantes genéticas presentan respuesta subóptima a la estimulación y requieren de mayores dosis de gonadotropinas. (68)

Aunque el manejo debe realizarse de acuerdo con el mecanismo fisiopatológico que presente cada paciente, utilizar mayores dosis de gonadotropinas "más potentes" recombinadas podría solucionar el problema en gran porcentaje de mujeres de este grupo, especialmente en mujeres con polimorfismos en el receptor de FSH. En cambio, mujeres con variaciones genéticas en la LH, se pueden ver beneficiadas de la suplementación de LH recombinante. Se ha visto en estudios clínicos que la LH-r incrementa el número de ovocitos obtenidos, aumentando la tasa de embarazos en mujeres con reserva ovárica normal y antecedente de baja respuesta ovárica. (69)

Se han estudiado tratamientos adyuvantes que han mostrado mejorar los resultados en el grupo 1 de POSEIDON en algunos estudios, como la administración de hormona del crecimiento (HC) y la testosterona.

Por ejemplo, en un metaanálisis se encontró que la suplementación con testosterona transdérmica aumentó la tasa nacidos vivos (RR 1.91, IC 95% 1.01-3.63) y la tasa de embarazo clínico (RR 2.07, IC 95% 1.13-3.78). Estos resultados apoyan la teoría sinérgica entre los andrógenos y la FSH para el desarrollo folicular. Tomando en consideración que las células de la granulosa expresan receptores de andrógenos en etapas tempranas del desarrollo folicular, y que estas etapas de maduración ocurren de semanas a meses antes de la ovulación, sería razonable asumir que la suplementación prolongada de andrógenos podría incrementar el pool de folículos disponibles para la estimulación con gonadotropinas, lo que aumentaría el número de ovocitos disponibles para capturar. (70)

Cochrane realizó una revisión en 2010 sobre el uso de la HC en mujeres con pobre respuesta a estimulación ovárica. Aquí se obtuvo un resultado a favor del uso de hormona del crecimiento con incremento en la tasa de nacidos vivos y en la tasa de embarazo, con

un OR de 5.49 (IC 95%, 1.89-15.35), y un OR de 3.28 (IC 95%, 1.74-6.20), respectivamente. (71)

Sin embargo, aunque existe evidencia prometedora sobre el uso de estos tratamiento adyuvantes, aún se necesita más información para incluir estos tratamiento dentro de los regímenes actuales. (69)

1.3.2. Estrategias de manejo para el grupo 2 de POSEIDON

Los protocolo largos con agonistas de GnRH se han asociado a obtener un pool mayor de ovocitos en comparación con los protocolos cortos. Por lo tanto, los protocolos largos deben ser el protocolo de elección. Los protocolos largos de GnRH y los protocolos con antagonistas de GnRH han demostrado ser igual de eficaces, por lo que ambos se recomiendan para el grupo 2 de POSEIDON. Como el objetivo es obtener el mayor número de ovocitos posibles, se recomienda una dosis más alta de gonadotropinas a la dosis estándar de 150-225 UI al día. (66)

Al igual que en el grupo 1, en este grupo deben de considerarse las variaciones en el receptor de FSH y en la LH, para decidir si se utilizan dosis altas de r-FSH o se agrega r-LH para incrementar la respuesta de la r-FSH. La recomendación para realizar tamizaje de dichos polimorfismos se basa en la prevalencia de dichos polimorfismos en la población donde se realice el tratamiento con FIV. (72)

La doble estimulación o "DuoStim" es un protocolo de estimulación ovárica en donde se realizan dos estimulaciones y dos aspiraciones foliculares en un mismo ciclo. Tradicionalmente se creía que solo existía una sola ola de reclutamiento folicular. sin embargo, se ha visto que existen dos y tres cohortes de folículos antrales en un mismo ciclo. Esta idea es la base del protocolo con doble estimulación. Este protocolo doble se ha propuesto como estrategia de manejo en el grupo de POSEIDON 2, al maximizar el pool de ovocitos en un solo ciclo ovárico. En el protocolo de estimulación doble se combina la estimulación en fase folicular y la estimulación en fase lútea. Se ha visto en estudios que este régimen incrementa de un 40 a un 70% la probabilidad de tener un blastocisto euploide en un solo ciclo ovárico. (73)

Es posible que el grupo 2 de POSEIDON se vea beneficiado de tratamientos adyuvantes como la administración de andrógenos o de hormona del crecimiento, así como del diagnóstico genético preimplantacional, sin embargo, se necesitan más estudios para su recomendación. En el siguiente cuadro se resumen las sugerencias de tratamiento para este grupo.

Sugerencias de manejo para el grupo 2 de POSEIDON (66)	
1	<ul style="list-style-type: none"> • Supresión pituitaria: protocolo largo de agonista de GnRH o protocolo con antagonista de GnRH • Dosis de gonadotropina: utilizar dosis de FSH mayores al estándar (150-225 UI/día)
2	<ul style="list-style-type: none"> • LH adicional: opcional, considerar la posibilidad de tener polimorfismos en la hormona o el receptor de LH • Ovulación: usar HGC para los protocolos con agonistas de GnRH; usar agonista de GnRH o HGC para los protocolos con antagonista de GnRH; usar agonista de GnRH para la doble estimulación
3	<ul style="list-style-type: none"> • Nuevas estrategias: protocolo de doble estimulación • Otras opciones: tratamiento adyuvante con andrógenos, hormona del crecimiento; utilizar pruebas de diagnóstico genético preimplantacional

1.3.3. Estrategias de manejo para el grupo 3 y 4 de POSEIDON

De los cuatro grupos de POSEIDON, el grupo 3 y 4 corresponden el 10% y el 55%, respectivamente. Debido a que estos dos grupos tienen alta probabilidad de que al final no se obtenga un embrión de alta calidad para transferir, es común que estas mujeres pasen por repetidos protocolos de estimulación ovárica, conllevando a incremento en el costo económico, financiero y emocional. (74)

En estas pacientes tanto los protocolos largos con agonistas de GnRH como los protocolos con antagonistas de GnRH se consideran como tratamientos de primera línea. Se ha visto que, en los protocolos largos con agonistas de GnRH, la FSH-r + LH-r es superior a la gonadotropina menopáusica humana en cuando a la tasa de embarazo clínico (12.5 vs 8.1, $P < 0.02$). (75) Existe mucha evidencia que indica que la FSH recombinante es superior a las FSH urinaria y a la gonadotropina menopáusica humana para incrementar el pool de ovocitos. Debido a esto, parece razonable concluir que la FSH recombinante sola o en combinación con LH recombinante son las gonadotropinas de elección en el grupo 4 de POSEIDON. (74)

El objetivo de administrar un fármaco desencadenante de la ovulación es lograr que al menos el 75% de los ovocitos sean maduros sin incrementar el riesgo de SHO. Cuando se utilizan protocolos largos con agonista de GnRH el fármaco a utilizar debe ser HGC. Al utilizar antagonistas de GnRH se pueden utilizar tanto agonistas de GnRH como HGC (**Figura 28**). (74)

Al igual que en los grupos anteriores, en los grupos 3 y 4 también se recomiendan los andrógenos y la hormona del crecimiento como tratamiento adyuvante previo a la administración de gonadotropinas. En el grupo 3 se observó que la administración de la coenzima Q10 aumenta el número de ovocitos obtenidos, además de obtener embriones de mayor calidad. La hipótesis es que reduce el estrés oxidativo mitocondrial, mejorando las condiciones para el desarrollo del ovocito. Se piensa que el estrés oxidativo es uno de los principales responsables de los casos de baja respuesta ovárica. (76)

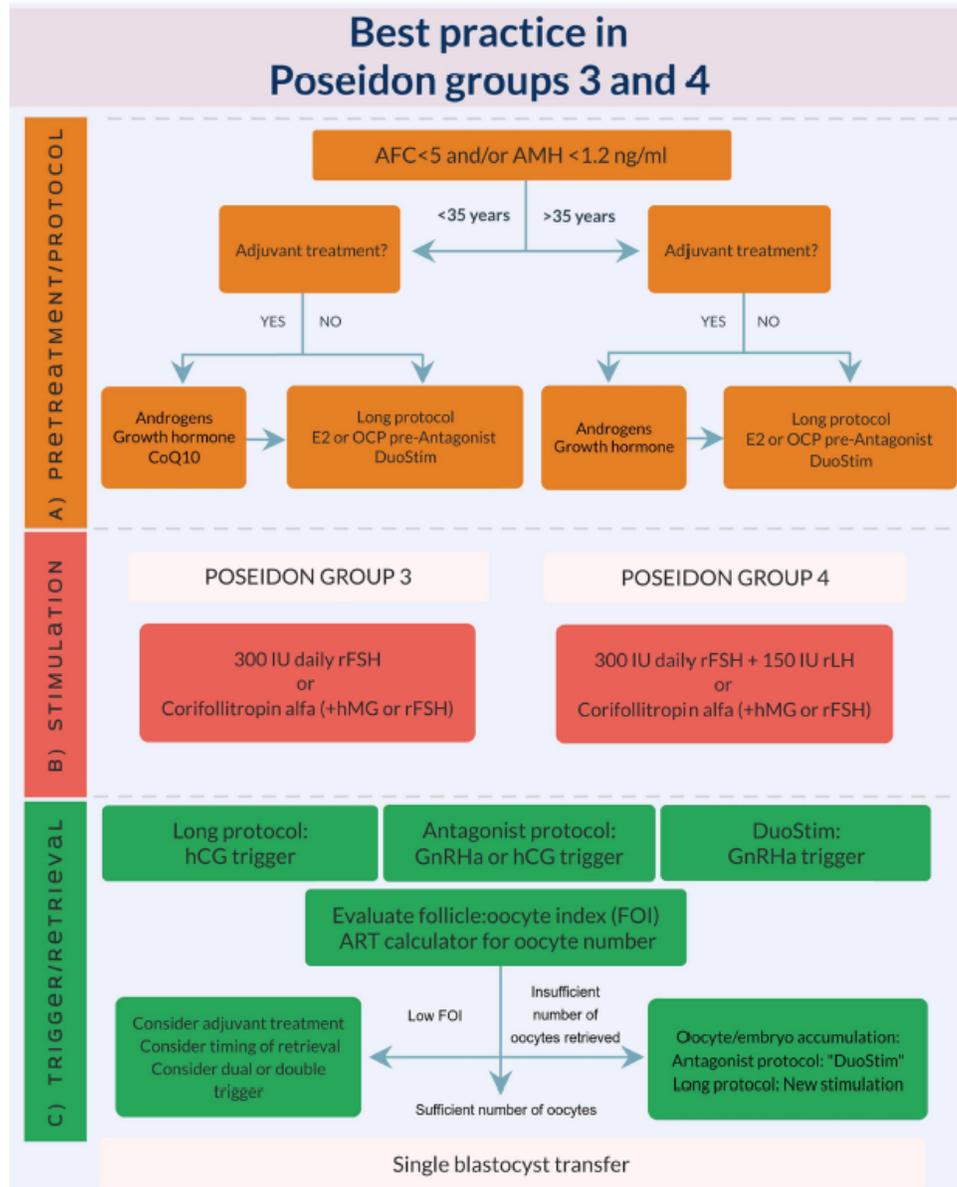


Fig. 14 Manejo de pacientes del grupo 3 y 4 de POSEIDON. Haahr T. et al. Management Strategies for POSEIDON Groups 3 and 4. Front Endocrinol (Lausanne). 2019;10(614):1–11.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

Desde el nacimiento de la primera persona lograda por fertilización in vitro en 1978, Louise Brown, en Inglaterra, se han logrado muchos avances en el campo de la reproducción. Se han creado gonadotropinas exógenas para la estimulación ovárica controlada, se han mejorado las técnicas de cultivo embrionario, de criopreservación, y actualmente es posible hacer un diagnóstico pre-implantación para corroborar que el embrión sea euploide. Todo esto ha permitido que la tasa de embarazo y recién nacido vivo en pacientes que se someten a fertilización in vitro haya aumentado de un 23% en 1982 a casi un 50% actualmente en mujeres menores de 35 años. (77)

Sin embargo, la tasa de fallo sigue siendo alta, especialmente en mujeres mayores de 35 años y en aquellas con reserva ovárica disminuida. Las múltiples opciones de protocolos de estimulación ovárica obligan a cuestionarse si existe algún protocolo de estimulación que sea de mayor beneficio dependiendo de la edad y la reserva ovárica de la paciente, que pudiera maximizar el número de folículo y ovocitos maduros obtenidos por ciclo, con el objetivo de aumentar las posibilidades de tener un embrión de buena calidad, con altas posibilidades de implantación.

Hasta el momento la clasificación de POSEIDON que se publicó recientemente es un intento de lograr la estratificación de pacientes para recibir un protocolo de estimulación individualizado, sin embargo, aún falta información que contribuya a fortalecer la evidencia actual para lograr crear algoritmos de tratamiento que permitan mejorar los resultados.

En este trabajo buscamos analizar el efecto de los esquemas de estimulación de acuerdo con edad y niveles de FSH. Para el análisis de este trabajo se crearon grupos "Tipo POSEIDON" al clasificar a las pacientes según su edad (35 años como punto de corte) y sus niveles de FSH (7 mUI/ml como punto de corte). Es importante recalcar que los grupos que analizamos son "tipo" POSEIDON, ya que la clasificación original de POSEIDON toma en cuenta la hormona antimülleriana y/o el recuento folicular antral, no los niveles de FSH. Nosotros decidimos utilizar la FSH con punto de corte de 7 mUI/ml, ya que en la clínica de infertilidad se ha observado que este punto de corte tiene correlación significativa con la cantidad de ovocitos recuperados en los ciclos de fertilización in vitro. (78)

2.1. Pregunta de investigación

¿Cuál es la efectividad de los distintos tipos de gonadotropinas según la edad cronológica y la reserva ovárica de la paciente?

2.2. Hipótesis

Los protocolos de estimulación con LH recombinante tienen mayor beneficio en mujeres mayores de 35 años y con reserva ovárica disminuida

2.3. Objetivos

2.3.1. Objetivo general:

- determinar la efectividad de los distintos protocolos de estimulación ovárica para pacientes sometidas a fertilización in vitro de acuerdo con la edad cronológica y la reserva ovárica

2.3.2. Objetivos específicos:

- Determinar la efectividad de la hormona menopáusica humana y de las gonadotropinas recombinantes en el número total de ovocitos
- Determinar la efectividad de la hormona menopáusica humana y de las gonadotropinas recombinantes en la obtención de ovocitos en metafase II
- Determinar la efectividad de la hormona menopáusica humana y de las gonadotropinas recombinantes en el número de ovocitos fertilizados
- Determinar la efectividad de la hormona menopáusica humana y de las gonadotropinas recombinantes en lograr un embarazo

3. METODOLOGÍA

3.1. **Tipo de estudio:** cohorte, retrospectivo, longitudinal, analítico

3.2. **Universo de estudio:** pacientes que acuden a la clínica de infertilidad Doctor Alberto Kably

3.3. **Población:** pacientes que se someten a estimulación ovárica para FIV

3.4. **Tipo de muestreo:** consecutivo, no aleatorizado

3.5. Descripción de la metodología

Se analizó la información de la base de datos del centro de infertilidad Doctor Alberto Kably de mujeres que recibieron estimulación ovárica para FIVTE del 2002 al 2017. Se recabaron variables dependientes e independientes para evaluar los resultados de los distintos protocolos de estimulación según la edad de la paciente y sus niveles de FSH.

3.6. Criterios de selección

3.6.1. Criterios de inclusión

- Pacientes con capturas en fresco
- Estimulo ovárico con FSHr + LHr, FSH r sola, o con HCG (menotropinas)
- Esquema de estimulación que haya incluido antagonistas de GnRh

3.6.2. Criterios de exclusión

- Estimulo con otro tipo de medicamento
- Expediente incompleto

3.7. Variables por analizar

3.7.1. Variables independientes:

- Edad
- IMC
- Niveles de FSH
- Tipo de gonadotropina

3.7.2. Variables dependientes:

- Total de óvulos obtenidos
- Total de óvulos en metafase 2
- Número de óvulos fertilizados
- Diagnóstico de embarazo
- Dosis total de gonadotropinas utilizada

3.8. Operacionalización de variables

VARIABLE	CONCEPTO	TIPO DE VARIABLE	ESCALA	UNIDADES DE MEDICIÓN
Variables independientes				
Edad	Tiempo que ha vivido una persona.	Cuantitativa discreta.	No aplica	Años
IMC	Peso en kilogramos dividido por la talla en metros elevada al cuadrado	Cuantitativa continua	<18.5: Bajo peso 18.6-24.9: Normal 25.0- 29.9: Sobrepeso 30.0-34.4: Obesidad I 35-39.9: Obesidad II ≥40: Obesidad II	Kg/m ²
Niveles de FSH	Niveles en sangre de hormona foliculoestimulante en el día 3-5 del ciclo menstrual	Cuantitativa continua	<7: buena reserva ovárica ≥7: mala reserva ovárica	mIU/ml
Tipo de gonadotropina	Gonadotropina exógena utilizada para la estimulación ovárica	Cualitativa nominal	FSH recombinante FSH + LH recombinante Menotropina	No aplica
Variables dependientes				
Total de óvulos	Número total de óvulo obtenidos en un ciclo de estimulación	Continua discreta	No aplica	No aplica
Total de óvulos en metafase 2	Número de óvulos en metafase 2 obtenidos en un ciclo de estimulación	Continua discreta	No aplica	No aplica
Número de óvulos fertilizados	Número de óvulos que lograron ser fertilizados por un espermatozoide	Continua discreta	No aplica	No aplica

Dosis total de gonadotropina	Dosis total de gonadotropina utilizada en un ciclo de estimulación	Continua discreta	No aplica	UI
Diagnóstico de embarazo	Prueba cuantitativa de HGC-beta en sangre	Nominal dicotómica	>5 mUI/ml: embarazo <5 mUI/ml no embarazo	mUI/ml

3.9. Análisis estadístico

Para el análisis estadístico se utilizó el programa SPSS de IBM, versión 21. Todas las variables categóricas se expresan en frecuencias y porcentajes. Se utilizó χ^2 para diferencia de proporciones y t de student para diferencia entre dos medias y ANOVA para diferencia entre tres o más medias. Se consideró significativo un valor de alfa menor de 0.05.

3.10. Consideraciones éticas

Se realizará un estudio observacional, retrospectivo, donde no se someterá a las pacientes a ninguna intervención. Se realizará revisión de sus expedientes clínicos. Los datos recolectados serán totalmente confidenciales y no se darán a conocer en ningún momento del estudio, por disposición de la NOM-004 del expediente clínico.

De acuerdo con el Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud título 2 de los aspectos de la investigación en seres humanos Capítulo 1, Artículo 17, Fracción I, Investigación sin riesgo: son estudios que emplean técnicas y métodos de investigación documental retrospectivos y aquellos en los cuales no se realiza ninguna intervención o modificación intencionada en las variables fisiológicas, psicológicas y sociales de los individuos que participan en el estudio, dentro de los cuales se consideran revisión de expedientes clínicos.

4. RESULTADOS

Se estudiaron en total a 1,668 mujeres que recibieron estimulación ovárica para FIVTE, con uno de los siguientes 4 protocolos:

- **FSHr:** Gonal
- **FSHr + LHr:** Gonal + Pergoveris
- **HMG:** Merapur
- **HMG + FSHr:** Merapur + Gonal

En total 1,138 mujeres recibieron FSHr, 319 tuvieron FSHr + LHr, 174 mujeres recibieron estimulación con HMG y 37 recibieron HMG + FSHr. (Tabla 1)

Tabla 1. Número de pacientes por protocolo de estimulación

Protocolo de estimulación	Número (%)
FSHr	1,138 (68.2)
FSHr + LHr	319 (19.1)
HMG	174 (10.4)
HMG + FSHr	37 (2.2)

El 48.1% de las pacientes tuvieron menos de 35 años, mientras que el 51.9% tenía igual o más de 35 años. En cuanto a los niveles de FSH basales, el 63.8% tenía <7 mUI/ml, mientras que el 36.2% tenía igual o más de 7 mUI/ml. De esta manera fue posible crear los grupos POSEIDON, los cuales se describen el cuadro 1, siendo el grupo 1 aquellas pacientes menores de 35 años con menos de 7 mUI/ml de FSH, el grupo 2 aquellas igual o mayores de 35 años con FSH <7 mUI/ml, el grupo 3 mujeres menores de 35 años con FSH igual o mayor de 7 mUI/ml, y el grupo 4 mujeres mayores de 35 años con FSH igual o mayor de 7 mUI/ml.

Cuadro 1. Grupos POSEIDON

<p style="text-align: center;">Grupo 1 N= 544</p> <ul style="list-style-type: none"> • <35 años • FSH <7 	<p style="text-align: center;">Grupo 2 N= 521</p> <ul style="list-style-type: none"> • ≥35 años • FSH <7
<p style="text-align: center;">Grupo 3 N= 259</p> <ul style="list-style-type: none"> • <35 años • FSH ≥7 	<p style="text-align: center;">Grupo 4 N= 344</p> <ul style="list-style-type: none"> • ≥35 años • FSH ≥7

4.1. Resultados generales por grupos tipo POSEIDON y por protocolo de estimulación

Observando el efecto de las gonadotropinas de manera general, podemos ver que la estimulación con FSHr logra mayor cantidad de óvulos con una media de 10.8, mientras que la HMG es la que menor cantidad de óvulos produce con una media de 6.9. Sin embargo, el porcentaje de óvulos en metafase 2 es mayor en el grupo de HMG, mientras que el grupo que solo recibe FSHr es el de menor porcentaje. En cuanto al número de óvulos fertilizados, el grupo de HMG + FSHr fue el que mayor número presentó con 5.3, mientras que el grupo con HMG fue el de menor cantidad con 3.5. Al analizar el porcentaje de embarazo en cada grupo podemos observar que no existieron diferencias significativas entre los grupos. (Tabla 1)

Tabla 1. Resultados de variables dependientes por tipo de gonadotropina

Variables	FSHr	FSHr + LHr	HMG	HMG + FSHr	P
Total de óvulos – media ±SD	10.8 ±7.3	8.9 ±6.8	6.9 ±5.2	10.8 ±5.6	0.00
Total de óvulos en metafase 2 – media ±SD	7.1 ±5.2	6.2 ±5.1	5.1 ±3.7	6.8 ±4.3	0.00
Porcentaje de óvulos en metafase 2 - %	68%	71%	75%	69%	0.00
Total de óvulos fertilizados – media ±SD	5.1 ±4.5	4.1 ±3.7	3.5 ±3.5	5.3 ±4.0	0.00
Diagnóstico de embarazo	26.3%	26%	22.4%	24.3%	0.74

Al hacer un análisis general entre los grupos POSEIDON, podemos ver que el grupo 1 es el que mayor cantidad de óvulos produce, con una media de 12.8, mientras que el grupo 4 es el de menor cantidad con 7.1. En cuanto al porcentaje de óvulo con metafase 2 la diferencia entre grupos no es significativa con una p de 0.27. Al observar el número de óvulos fertilizados vemos que el grupo 1 es del mayor número con 6.1, mientras que el grupo 4 es el de menor cantidad con 3.2. En cuanto al diagnóstico de embarazo el grupo 1 tuvo un porcentaje del 28.7%, el grupo 2 del 24%, el grupo 3 del 34.7% y el grupo 4 del 17.2%. (**Tabla 2**)

Tabla 2. Resultados de variables dependientes por grupo POSEIDON

Variables	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4	P
Total de óvulos – media \pm SD	12.8 \pm 7.9	9.2 \pm 6.2	10.1 \pm 6.9	7.1 \pm 5.4	0.00
Total de óvulos en metafase 2 - media \pm SD	8.5 \pm 5.6	6.2 \pm 4.5	6.7 \pm 5.2	4.7 \pm 3.9	0.00
Porcentaje de óvulos en metafase 2 - %	68%	71%	68%	69%	0.27
Total de óvulos fertilizados – media \pm SD	6.1 \pm 5.1	4.4 \pm 3.7	4.6 \pm 3.5	3.2 \pm 3.1	0.00
Diagnóstico de embarazo	28.7%	24%	34.7%	17.2%	0.00

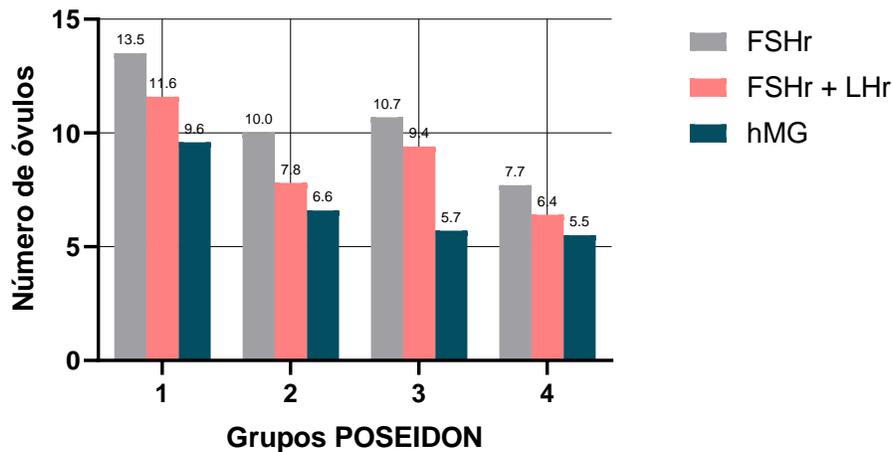
4.2. Resultados de variables dependientes en grupos POSEIDON por protocolo de estimulación

Haciendo un análisis sobre el efecto de cada protocolo de estimulación en cada grupo POSEIDON, podemos ver en la **tabla 3** y **gráfica 1**, que el comportamiento es muy similar en todos los grupos en cuanto a la producción total de ovocitos, siendo FSHr el que mayor cantidad de óvulos logra, seguido de FSHr + LHr y en último lugar el protocolo con HMG. Como es de esperarse, el grupo 1 presentó mayor cantidad de óvulos en todos los protocolos de estimulación, seguido del grupo 3, posteriormente el grupo 2 y grupo 4.

Tabla 3. Cantidad de óvulos en cada grupo POSEIDON según el protocolo de estimulación

Gonadotropinas	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4
FSHr – media (SD)	13.5 (\pm 7.9)	10.0 (\pm 6.5)	10.7 (\pm 7.1)	7.7 (\pm 5.9)
FSHr + LHr – media (SD)	11.6 (\pm 8.0)	7.8 (\pm 6.1)	9.4 (\pm 5.9)	6.4 (\pm 4.9)
hMG – media (SD)	9.6 (\pm 7.7)	6.6 (\pm 3.5)	5.7 (\pm 4.4)	5.5 (\pm 3.3)

Número de óvulos por grupo POSEIDON



Gráfica 1. Número total de óvulos en cada grupo POSEIDON según el protocolo de estimulación

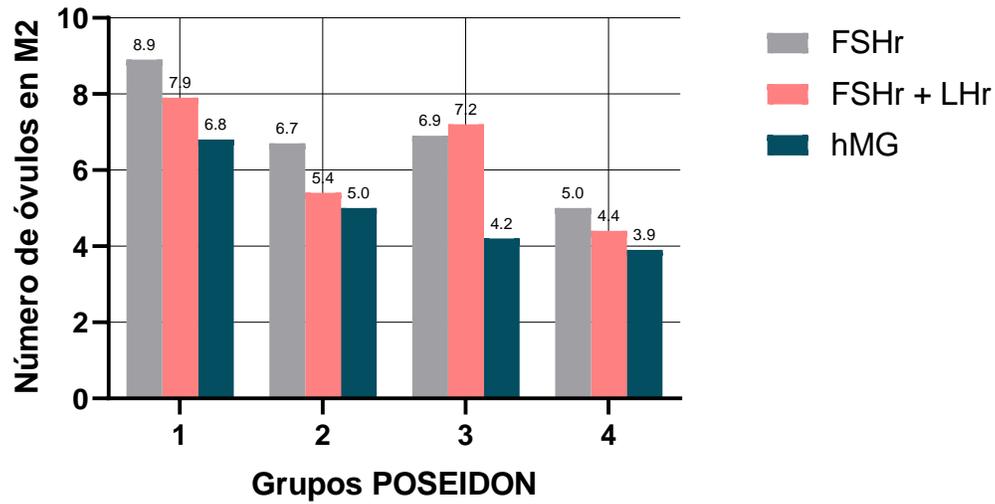
En cuanto al resultado en cuanto al número de óvulos en metafase 2, podemos ver en la **tabla 4** y **gráfica 2**, un comportamiento muy similar en cuanto al número total de óvulos, sin embargo, en el grupo 3 (<35 años, FSH \geq 7) el protocolo de estimulación con FSHr + LHr generó un mayor número de óvulos en metafase 2 que con el protocolo de FSHr. Resulta interesante ver que el porcentaje de óvulos en metafase 2 es mayor en todos los grupos POSEIDON en el protocolo de estimulación con hMG, seguido del protocolo con FSHr + LHr, y por último el protocolo de FSHr, como se observa en la **tabla 5** y **gráfica 3**.

Se puede observar que a pesar de que los protocolos de estimulación con FSHr + LHr y con hMG producen una menor cantidad de óvulos que el protocolo de estimulación con FSHr, es más probable que sus óvulos se encuentren en metafase 2. Sin embargo, a pesar de que el protocolo con FSHr tiene un menor porcentaje de óvulos en metafase 2, al final logra obtener un mayor número de óvulos en metafase 2 en casi todos los grupos, a excepción del grupo 3.

Tabla 4. Número de ovocitos en metafase 2 en cada grupo POSEIDON según el protocolo de estimulación

Gonadotropinas	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4
FSHr – media (SD)	8.9 (\pm 5.7)	6.7 (\pm 4.7)	6.9 (\pm 5.3)	5.0 (\pm 4.2)
FSHr + LHr – media (SD)	7.9 (\pm 5.9)	5.4 (\pm 4.4)	7.2 (\pm 5.2)	4.4 (\pm 3.7)
hMG – media (SD)	6.8 (\pm 4.6)	5.0 (\pm 3.1)	4.2 (\pm 3.8)	3.9 (\pm 2.8)

Óvulos en metafase 2 por grupos POSEIDON

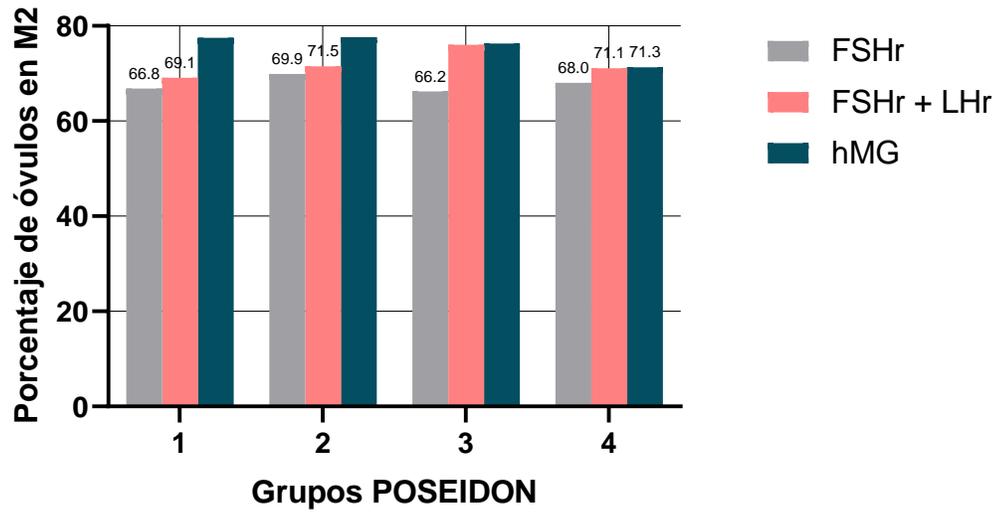


Gráfica 2. Número de óvulos en metafase 2 en cada grupo POSEIDON según el protocolo de estimulación

Tabla 5. Porcentaje de óvulos en metafase 2 en cada grupo POSEIDON según el protocolo de estimulación

Gonadotropinas	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4
FSHr – media (SD)	66.8 (\pm 20.2)	69.9 (\pm 21.4)	66.2 (\pm 19.4)	68.0 (\pm 24.9)
FSHr + LHr – media (SD)	69.1 (\pm 25.6)	71.5 (\pm 25.6)	76.0 (\pm 23.6)	71.1 (\pm 27.4)
hMG – media (SD)	77.5 (\pm 23.8)	77.6 (\pm 22.2)	76.3 (\pm 25.1)	71.3 (\pm 25.7)

Porcentaje de óvulos en M2 por grupos POSEIDON



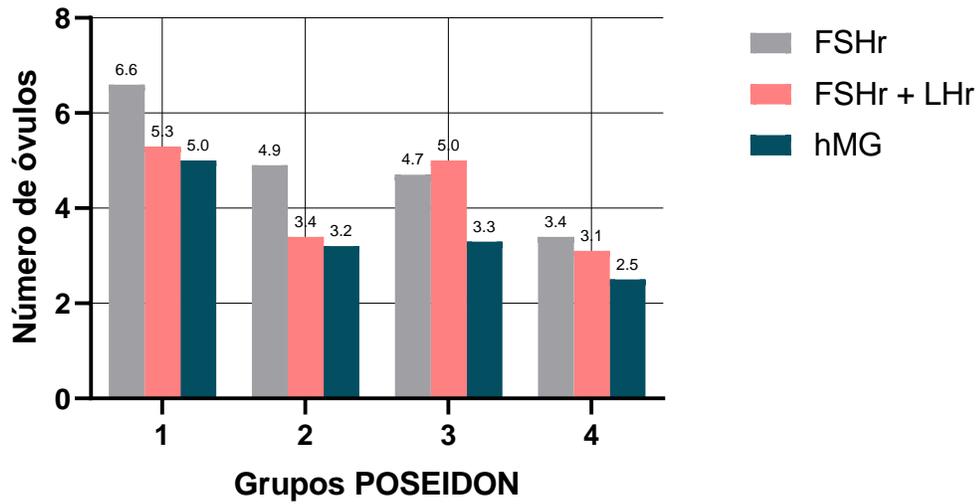
Gráfica 3. Porcentaje de óvulos en metafase 2 en cada grupo POSEIDON según el protocolo de estimulación

Uno de los resultados más significativos es el número de óvulos fertilizados. Podemos ver en la **tabla 6** y **gráfica 4**, que en el grupo 1 y 2 el protocolo de FSHr es el que mayor óvulos fertilizados logró; mientras que el grupo 3 el mejor protocolo fue el de FSHr + LHr, y en el grupo 4 el protocolo FSHr, con una diferencia más pequeñas entre protocolos.

Tabla 6. Número de óvulos fertilizados en cada grupo POSEIDON según el protocolo de estimulación

Gonadotropinas	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4
FSHr – media (SD)	6.6 (\pm 5.4)	4.9 (\pm 4.0)	4.7 (\pm 3.5)	3.4 (\pm 3.3)
FSHr + LHr – media (SD)	5.3 (\pm 4.4)	3.4 (\pm 3.0)	5.0 (\pm 3.3)	3.1 (\pm 3.0)
hMG – media (SD)	5.0 (\pm 5.0)	3.2 (\pm 2.6)	3.3 (\pm 3.1)	2.5 (\pm 2.3)

Número de óvulos fertilizados por grupos POSEIDON



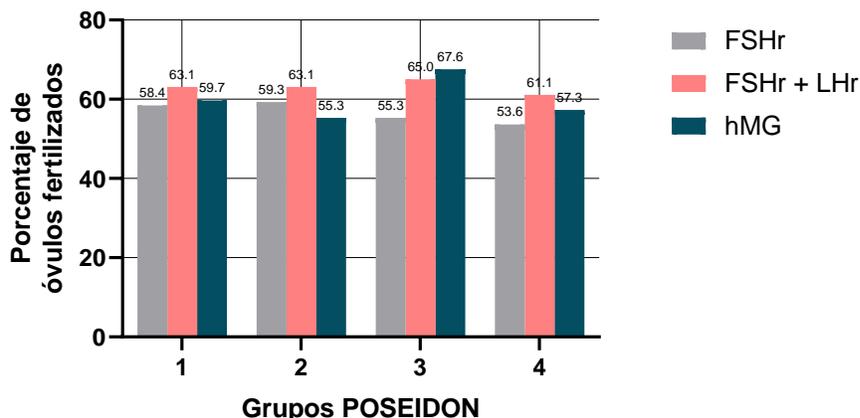
Gráfica 4. Número de óvulos fertilizados en cada grupo POSEIDON según el protocolo de estimulación

De la misma manera, el porcentaje de óvulos fertilizados es mayor con los protocolos de FSHr + LHr y de hMG, en comparación con el protocolo de FSHr, con una diferencia más marcada en los grupos 3 y 4. (**tabla 7** y **gráfica 5**)

Tabla 7. Porcentaje de óvulos fertilizados en cada grupo POSEIDON según el protocolo de estimulación

Gonadotropinas	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4
FSHr – media (SD)	58.4 (±25.1)	59.3 (±27.5)	55.3 (±26.6)	53.6 (±31.5)
FSHr + LHr – media (SD)	63.1 (±30.6)	63.1 (±28.1)	65.0 (±25.1)	61.1 (±31.4)
hMG – media (SD)	59.7 (±30.8)	55.3 (±31.7)	67.6 (±33.9)	57.3 (±34.7)

Porcentaje de óvulos fertilizados por grupos POSEIDON



Gráfica 5. Porcentaje de óvulos fertilizados en cada grupo POSEIDON según el protocolo de estimulación

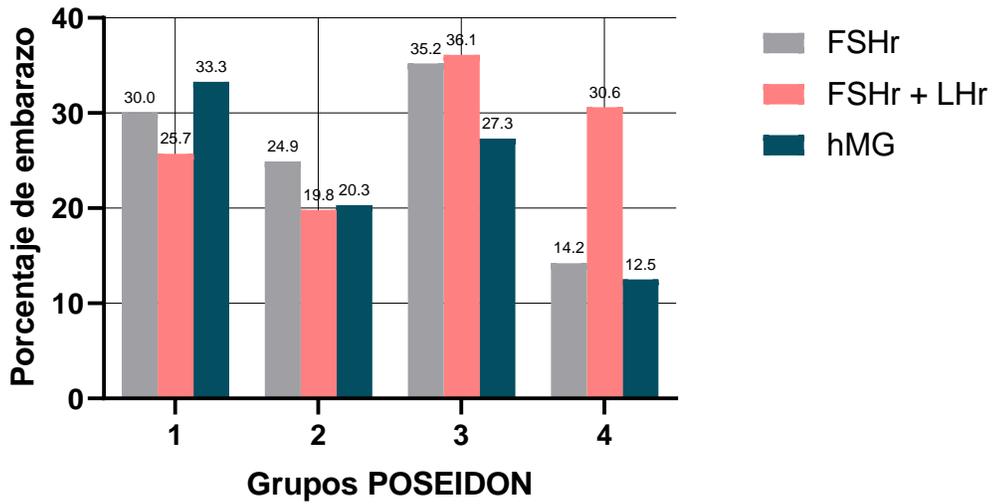
Al observar el porcentaje de pacientes que tuvieron un diagnóstico de embarazo, por una prueba en sangre de embarazo positiva, vemos que el grupo 1 tuvo el mayor porcentaje con hMG (33%), en el grupo 2 lo tuvieron con FSHr (24.9%), mientras que con el grupo 3 y 4 se tuvo mayor porcentaje con el protocolo de FSHr + LHr, con 36% y 30.6%, respectivamente. (tabla 8 y gráfica 6)

Si hacemos un análisis entre diagnóstico de embarazo y protocolo de estimulación por grupo de edad, resulta interesante observar como FSHr tiene mayor efectividad en la población joven, y conforme aumenta la edad los protocolos de FSHr + LHr logran tener un porcentaje mayor de embarazos. Especialmente en mujeres mayores de 40 años, el protocolo de FSHr tiene menor efectividad para lograr un embarazo comparado que con FSHr + LHr y con hMG.

Tabla 8. Porcentaje de embarazo en cada grupo POSEIDON según el protocolo de estimulación

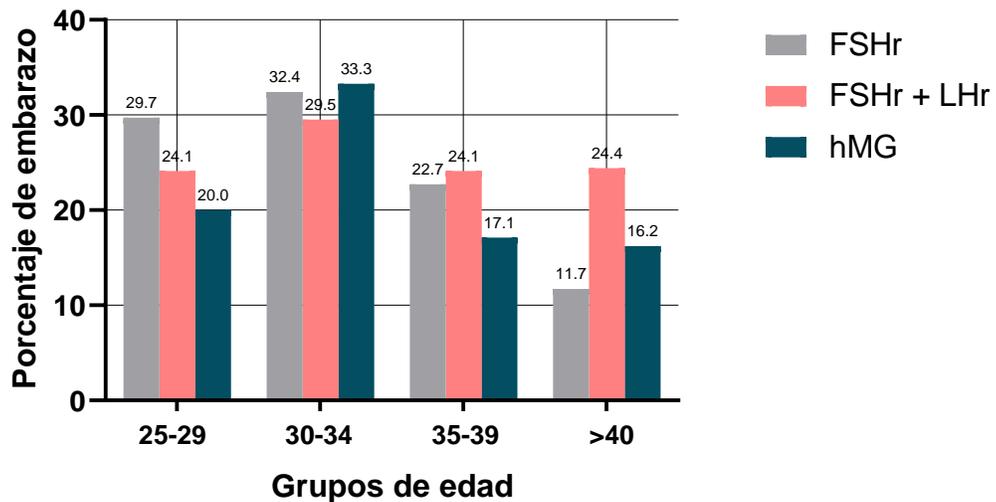
Gonadotropinas	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4
FSHr – N. (%)	113 (30)	86 (24.9)	69 (35.2)	31 (14.2)
FSHr + LHr – N. (%)	27 (25.7)	21 (19.8)	13 (36.1)	22 (30.6)
hMG – N. (%)	15 (33.3)	20 (20.3)	6 (27.3)	6 (12.5)

Diagnóstico de embarazo por grupos POSEIDON



Gráfica 6. Porcentaje de embarazo en cada grupo POSEIDON según el protocolo de estimulación

Diagnóstico de embarazo por grupo de edad



Gráfica 7. Porcentaje de embarazo por grupo de edad según el protocolo de estimulación

5. DISCUSIÓN

La gran mayoría de los ovocitos humanos están destinados a sufrir atresia. Solo aquellos folículos que adquieren la capacidad de responder a FSH podrán avanzar a las etapas finales del desarrollo y lograr ovular. Los niveles de FSH incrementan en la fase folicular temprana permitiendo el desarrollo de una cohorte de folículos. En el ciclo normo-ovulatorio, un folículo alcanza un diámetro >8 mm y produce altas cantidades de estrógeno. En respuesta al feedback negativo ocasionado por los estrógenos y la inhibina, los niveles de FSH disminuyen en la fase folicular tardía. El folículo dominante adquiere mayor sensibilidad a la FSH y continúa creciendo, mientras que los demás folículos menos desarrollados sufren atresia. La duración de esta ventana de la FSH en que los niveles de FSH se encuentra por arriba del umbral requeridos para continuar con el desarrollo de la cohorte folicular, determina el número de folículos que alcanzaran el estado preovulatorio.

Este concepto ha sido la base para lograr un desarrollo multifolicular en ciclos de fertilización in vitro. Administrando FSH endógena durante este periodo, se logran mantener niveles por arriba del umbral por más tiempo, permitiendo que la cohorte de folículos siga desarrollándose y alcancen el estado preovulatorio. Una dosis insuficiente de FSH impacta negativamente en el número de folículos reclutados y por lo tanto en el número de ovocitos obtenidos. Por el contrario, un exceso de dosis de FSH puede llevar a un sobre reclutamiento de folículos, aumentando el riesgo de desarrollar síndrome de hiperestimulación ovárica, si se utiliza HCG para inducir la maduración ovocitaria final. Por lo tanto, una dosis de FSH adecuada se considera una decisión de tratamiento clave que afecta tanto el éxito como la seguridad del tratamiento de FIV. (79)

Seleccionar la dosis óptima inicial de FSH llega a ser todo un reto debido a la gran variación interindividual que existe en la respuesta a una misma dosis. Los médicos se basan actualmente en la experiencia clínica, así como en la reserva ovárica y la edad para estimar una dosis apropiada cuando una mujer recibe su primer ciclo de FIV. Debido a esta variabilidad en la respuesta, el principal factor a tomar en cuenta para decidir la dosis de FSH en una paciente que se presenta a un segundo ciclo de FIV, es la respuesta ovárica que presentó en un ciclo previo. (79)

Actualmente el médico encargado de la estimulación ovárica cuenta con múltiples gonadotropinas que cumplen el mismo propósito, lograr un desarrollo multifolicular que permita obtener la mayor cantidad de ovocitos maduros, que aumenten la probabilidad de tener un embrión sano que pueda ser transferido. De esta manera no solamente se toma la decisión en cuanto a la dosis de gonadotropina a utilizar, sino también en el tipo de gonadotropina con la que se piensa estimular.

Como se mencionó anteriormente, muchas de estas decisiones se toman de manera teórica, estimando "según la experiencia del clínico", la respuesta que puede tener la paciente a la estimulación, tomando en cuenta su reserva ovárica y su edad, principalmente, así como la "mejor" gonadotropina para lograr la mayor cantidad de folículos posibles. Sin

embargo, hacen falta estudios para determinar si existen diferencias en la efectividad entre las distintas gonadotropinas con las que se cuentan actualmente, tomando en cuenta la edad y la reserva ovárica de la paciente. Esto permitiría individualizar de manera más objetiva el protocolo de estimulación para cada paciente, pudiendo incrementar las tasas de éxito.

En un intento de lograr la estratificación de pacientes para recibir un protocolo de estimulación individualizado se creó la clasificación de POSEIDON, publicada recientemente en el año 2016, la cual cataloga a las mujeres según su edad (mayor o menor de 35 años) y su reserva ovárica (tomando en cuenta los niveles de HAM o RFA). Esta clasificación aporta recomendaciones sobre el manejo de cada grupo de pacientes, sin embargo, los grupos se conforman de mujeres que fueron sometidas a un protocolo de estimulación para FIV previo y tuvieron una baja respuesta. Es decir, no aportan recomendaciones para aquellas mujeres que se someten a un ciclo de FIVTE por primera vez. Agregado a esto, aún falta información que contribuya a fortalecer la evidencia actual para lograr crear algoritmos de tratamiento individualizados que permitan mejorar los resultados.

En este trabajo se buscó analizar la efectividad de distintos protocolos de gonadotropinas de acuerdo con la edad y su reserva ovárica (tomando en cuenta sus niveles de FSH). De esta manera se crearon cuatro grupos "tipo POSEIDON", según fueran mayores o menores de 35 años y sus niveles de FSH fueran mayores o menores de 7 mUI/ml.

Es importante recalcar que los grupos que analizamos son "tipo" POSEIDON", ya que la clasificación original de POSEIDON no toma en cuenta los niveles de FSH para determinar la reserva ovárica. Nosotros decidimos utilizar la FSH como medida de reserva ovárica porque es un valor con el que cuentan todas las pacientes que ingresan a protocolo de estimulación para FIVTE en la clínica. Además, en un estudio realizado en pacientes de la clínica se observó que existe relación entre los niveles de FSH y la obtención de ovocitos. (78)

La evidencia actual no establece un punto de corte claro para los niveles de FSH; en general diversos autores toman puntos de corte entre 10 y 20 mUI/ml, variando en su sensibilidad y especificidad para predecir baja respuesta ovárica, dependiendo del valor tomado. (30) Sin embargo, algunos autores han demostrado que existen diferencias en el número de ovocitos obtenidos tomando en cuenta distintos niveles de FSH aún dentro de rangos normales (debajo de 10 mUI/ml).(80) De aquí la importancia de que cada centro de fertilidad establezca un punto de corte específico para su población. En un estudio realizado en la población de la clínica donde se realizó este trabajo, se observó que a partir de 7 mUI/ml de FSH, la cantidad de ovocitos obtenidos comenzaba a disminuir, observando que ese punto de corte se correlacionaba significativamente con menor cantidad de ovocitos recuperados en los ciclos de fertilización in vitro con protocolo de antagonistas. (78)

Dividiendo a nuestros grupos de esta manera se obtuvo una muestra representativa en los cuatro grupos. Los protocolos de estimulación utilizados fueron 4 principalmente: 1. FSHr (Gonal), 2. FSHr + LHr (Pergoveris), 3. HMG (Merapur), 4. HMG + FSHr (Merapur + Gonal). Sin embargo, debido a la poca muestra en el grupo de HMG + FSHr, para el análisis se decidió comparar solamente los primeros tres esquemas de estimulación. De esta manera podemos observar los resultados de los tres esquemas de estimulación en cada grupo tipo POSEIDON con una muestra representativa.

En la **tabla 2** podemos observar las variables dependientes por cada grupo POSEIDON. Lo importante en esta tabla es que podemos comparar entre un mismo grupo de edad, el efecto de la reserva ovárica. Entre el grupo 1 y 3, donde las pacientes tienen una edad menor de 35 años, se aprecia que en el grupo 1 (con FSH <7) el número de óvulos obtenidos fue mayor que en el grupo 3 (con FSH ≥7), al igual que lo fue el total de óvulos en metafase 2 y el total de óvulos fertilizados. De igual manera, comparando el grupo 2 y 4, en donde ambos grupos tienen una edad mayor de 35, se observan diferencias en las mismas variables, teniendo mejores resultados el grupo 2, que es el grupo con FSH menor de 7. Esto nos habla de que el punto de corte establecido de 7 mUI/ml para FSH se relaciona significativamente con los resultados de estimulación, independientemente de la edad.

En cuanto al protocolo de estimulación que más óvulos permite obtener es el que utiliza solamente FSHr independientemente de la edad y la reserva ovárica, pues en los 4 grupos tipo POSEIDON se observa una mayor cantidad de óvulos con este protocolo (**tabla 3**). Sin embargo, algo importante que hemos mencionado es que los óvulos obtenidos deben encontrarse en metafase II para que puedan ser fertilizados y tengan probabilidad de formar un embrión. En este sentido observamos en la tabla 5, que el protocolo con HMG sola tuvo un mayor porcentaje de sus óvulos en metafase II. Resulta interesante ver como en el grupo 1 y 2, que son los grupos con buena reserva ovárica, la diferencia es más significativa entre el protocolo de hMG con cualquier otro protocolo; mientras que en los grupos 3 y 4 el protocolo de hMG y el protocolo de FSHr + LHr tienen prácticamente el mismo porcentaje de sus óvulos en metafase II.

Ahora, considerando que el protocolo con FSHr logra más óvulos, y que los protocolos con HMG y FSHr + LHr tienen mayor porcentaje de óvulos en metafase II, queda ver qué protocolo logra en total más óvulos en metafase II. En la **tabla 4** podemos ver que en todos los grupos la FSHr tuvo en total más óvulos en metafase II, excepto en el grupo 3 (<35 años con FSH ≥7), en donde el protocolo con FSHr + LHr tuvo un mejor resultado.

Teniendo en cuenta que los óvulos con capacidad de ser fertilizados serán aquellos que se encuentren en metafase II, la **tabla 6** tiene un comportamiento muy similar a la **tabla 4**, en donde todos los grupos tuvieron más óvulos fertilizados con el protocolo de FSHr, excepto en el grupo 3 donde el protocolo con FSHr + LHr logró un mejor resultado.

En un metaanálisis de 70 estudios prospectivos que consideraban la combinación de todas las gonadotropinas (FSH sola vs FSH + LH, o FSH + HCG, o hMG), se encontró que el

protocolo con FSH sola lograba un mayor número de ovocitos. Mientras que el protocolo con hMG lograba mayor número de embriones y una mayor tasa de implantación.(81) Aunque en este estudio no hicieron una división de su población según su edad y reserva ovárica, su resultado es muy similar al obtenido en nuestro estudio, en donde en todos los grupos tipo POSEIDON se obtuvieron mayor número de ovocitos con el protocolo de FSHr, mientras que con el uso de hMG el porcentaje de óvulos en metafase II era mayor.

Analizando esta evidencia y teniendo en cuenta que los criterios de POSEIDON se basan en el número de ovocitos requeridos para obtener al menos un blastocisto euploide transferible, con nuestro estudio podemos concluir que parece razonable utilizar los protocolos con FSHr sola o en combinación con LHR para potenciar el resultado del ciclo de FIVTE, para cualquier grupo POSEIDON; teniendo en cuenta que el grupo 3 tuvo un mejor resultado con la combinación de FSHr + LHR.

En una serie de estudios sobre el manejo de cada grupo POSEIDON, mencionan que el uso de FSHr sola o en combinación con LHR son las mejores opciones para el grupo 3 y 4; haciendo énfasis en que los esquemas con hMG no traen mayor beneficio para estos grupos. Mientras tanto, para los grupos 1 y 2, el protocolo con FSHr sola es el de elección, y solo estaría justificado agregar LHR para aquellas mujeres en las que se detectaran polimorfismos en los receptores de LH. Mencionando que para lograr un manejo más individualizado se debería realizar un estudio genético en estas mujeres. (66,69,74)

Revisando la bibliografía actual sobre el diagnóstico de embarazo y tasa de nacidos vivos, en un metaanálisis de Cochrane en el 2011 que comparó gonadotropinas recombinantes y gonadotropinas urinarias para hiperestimulación ovárica para FIVTE, no se encontraron diferencias significativas en cuanto a la tasa de recién nacido vivo, ni en el riesgo de desarrollar síndrome de hiperestimulación ovárica, concluyendo que la elección clínica del tipo de gonadotropina debe basarse en la disposición, conveniencia y costos. (82) De igual manera, en una encuesta realizada en 340 centro de fertilidad, en donde se realizaron un total de 218,300 ciclos de FIV, la mayoría de los clínicos respondieron que no creen que existan diferencias entre utilizar gonadotropinas urinarias y gonadotropinas recombinantes con respecto a la efectividad y tasa de nacidos vivos. (83)

En nuestro estudio no se midió la tasa de recién nacido vivo. En cambio, medimos la tasa de diagnóstico de embarazo por prueba de gonadotropina positiva. En este sentido obtuvimos resultados variables en cada grupo tipo POSEIDON. En el grupo 1, el protocolo de estimulación que mayor tasa de embarazo logró fue el de HMG, en el grupo 2 fue el protocolo con FSHr, mientras que en los grupos 3 y 4 fue el protocolo con FSHr + LHR. Sin embargo, estos resultados deben tomarse con cautela, pues el diagnóstico de embarazo es un resultado que se ve influenciada por múltiples factores. Cuando se evalúa la efectividad de un régimen de gonadotropinas el resultado principal a evaluar debe ser la respuesta ovárica, ya que es el parámetro medible que evalúa directamente la acción de la gonadotropina. En cambio, lograr el embarazo es un resultado final, en donde influyen múltiples factores incluidos la receptividad endometrial, el factor espermático, etc. Por esta

razón, la efectividad entre gonadotropinas se mide en cuanto a la respuesta ovárica y no en cuanto a la tasa de embarazo.

6. CONCLUSIONES

La estratificación de las pacientes por grupos "tipo POSEIDON", considerando la edad y los niveles de FSH, muestra diferencias significativas en cuanto al número de ovocitos obtenidos, independientemente del protocolo de estimulación utilizado, por lo que la medición de los niveles basales de FSH es útil en la práctica clínica para estimar la respuesta ovárica de las pacientes.

De manera general, el protocolo con FSHr sola es el que mejor rendimiento tiene en cuanto al número de ovocitos obtenido en todos los grupos tipo POSEIDON. Sin embargo, en el grupo 3, el protocolo con FSHr + LHr logra un mayor número de ovocitos en metafase II.

Los protocolos con gonadotropinas recombinantes logran mejores resultados que las menotropinas en cuanto al número de ovocitos, ovocitos en metafase II y el número de ovocitos fertilizados. Teniendo en cuenta que el objetivo de la estimulación es lograr la mayor cantidad de ovocitos posible para aumentar las probabilidades de obtener un embrión euploide, se puede concluir que, los protocolos con gonadotropinas recombinantes deben ser los de elección para cualquier grupo tipo POSEIDON.

Es importante tener en cuenta que los resultados aplican únicamente en cuanto a la respuesta ovárica y no en cuanto a diagnóstico de embarazo o recién nacido vivo. Como se mencionó anteriormente según los estudios de metaanálisis, no parece haber diferencias significativas en estos resultados entre las distintas gonadotropinas, por lo que, al considerar otros factores, como aspectos económicos, experiencia clínica y disponibilidad de recursos, es válido utilizar tanto menotropinas como gonadotropinas recombinantes para estimulación ovárica en la práctica.

7. REFERENCIAS

1. ASRM. Fertility evaluation of infertile women: a committee opinion. *fertiity Steril.* 2021;116:1255–65.
2. Matthew H et al. Female Infertility. *Stat Pearls.* 2021;https://ww.
3. Garolla A et al. Practical Clinical and Diagnostic Pathway for the Investigation of the Infertile Couple. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2021;11:1–15.
4. ASRM. Testing and interpreting measures of ovarian reserve: a committee opinion. *Fertil Steril.* 2020;114:1151–7.
5. ESHRE. ESHRE guideline: ovarian stimulation for IVF/ICSI. *Hum Reprod Open.* 2020;2:1–13.
6. Kundan V et al. An Overview on the Protocols used in the Management of Infertility. *J Clin Diagnostic Res.* 2019;13(2):1–3.
7. Parimala C et al. POSEIDON classification and the proposed treatment options for groups 1 and 2: time to revisit? A retrospective analysis of 1425 ART cycles. *Hum Reprod Open.* 2021;0(0):1–10.
8. Zhao Y. et al. Current Understandings of Core Pathways for the Activation of Mammalian Primordial Follicles. *Cells.* 2021;10(6):1491.
9. Gougeon A. Regulation of ovarian follicular development in primates: facts and hypotheses. *Endocr Rev.* 1996;17:121–55.
10. Monniaux D. et al. Folliculogenesis. *Encycl Endocr Dis.* 2019;2:377–98.
11. J. R. Female Reproduction. *Encycl Reprod.* 2018;2da edició.
12. Gougeon A. Human ovarian follicular development: From activation of resting follicles to preovulatory maturation. *Ann Endocrinol.* 2010;71(3):132–43.
13. Monniaux D. The Ovarian Reserve of Primordial Follicles and the Dynamic Reserve of Antral Growing Follicles: What Is the Link? *Biol Reprod.* 2014;90(4):1–11.
14. Liu Y. Advanced studies on ovary physiology in China in the past 30 years. *Acta Physiol Sin.* 2016;68(4):366–84.
15. Orisaka M. et al. The role of pituitary gonadotropins and intraovarian regulators in follicle development: A mini-review. *Reprod Medi Biol.* 2021;20:169–75.
16. Kishi H. et al. Expression of the gonadotropin receptors during follicular development. *Reprod Med Biol.* 2018;17:11–9.
17. Hiller. S. Gonadotropic control of ovarian follicular growth and development. *Mol Cell Endocrinol.* 2001;179(1–2):39–46.
18. Recchia K. et al. Actions and Roles of FSH in Germinative Cells. *Int J Mol Sci.* 2021;22(18):10110.
19. Walter M. et al. Ovarian and Adrenal Androgen Biosynthesis and Metabolism. *Contemporary Endocrinology: Androgen Excess Disorders in Women: Polycystic Ovary Syndrome and Other Disorders, Second Edition.* 2006.

20. Anderse C. et al. Human steroidogenesis: implications for controlled ovarian stimulation with exogenous gonadotropins. *Reprod Biol Endocrinol.* 2014;12(128).
21. Jesus A. Capítulo 83: Reproducción II: eje hipotálamo-hipófiso-ovárico. *Access Med.* 2021;
22. Zeleznik A. The physiology of follicle selection. *Reprod Biol Endocrinol.* 2004;2(31).
23. Monniaux D. et al. Multi-scale modelling of ovarian follicular development: From follicular morphogenesis to selection for ovulation. *Biol Cell.* 2016;108:1–12.
24. Rimon N. et al. Ovarian Folliculogenesis. *Results Probl Cell Differ.* 2016;58:167–90.
25. Reed B. et al. The Normal Menstrual Cycle and the Control of Ovulation. *Endotext* [Internet]. 2018;www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK279054/.
26. Gershon A. et al. Newly Identified Regulators of Ovarian Folliculogenesis and Ovulation. *Int J Mol Sci.* 2020;21(4565).
27. Richards J. The Ovarian Cycle. *Vitam Horm.* 2018;107:1–24.
28. Taylor H. et al. Regulation of the menstrual cycle. *Speroff's Clin Gynecol Endocrinol Infertil.* 2020;9th Editio.
29. Colin W. Physiology of Ovulation. How to Prep egg embryo to maximize IVF success. 2019;1–21.
30. Tal R. et al. Ovarian reserve testing: a user's guide. *AJOG.* 2017;217(2):129–40.
31. Kaur M. et al. Diminished Ovarian Reserve, Causes, Assessment and Management. *Int J Infertil Fetal Med.* 2013;4(2):45–55.
32. Grossman MP. et al. Müllerian-inhibiting substance inhibits cytochrome P450 aromatase activity in human granulosa lutein cell culture. *Fertil Steril.* 2008;89(5):1364–70.
33. Durlinger AL. et al. Anti-Müllerian hormone attenuates the effects of FSH on follicle development in the mouse ovary. *Endocrinology.* 2001;142(11):4891–9.
34. La Marca A. et al. Anti-Mullerian hormone (AMH) as a predictive marker in assisted reproductive technology (ART). *Hum Reprod Update.* 2010;16(2):113–30.
35. Reshef Tal. et al. Antimüllerian hormone as predictor of implantation and clinical pregnancy after assisted conception: a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril.* 2015;103(1):119–30.
36. Dewailly D. et al. Diagnosis of polycystic ovary syndrome (PCOS): revisiting the threshold values of follicle count on ultrasound and of the serum AMH level for the definition of polycystic ovaries. *Hum Reprod.* 2011;26(11):3123–9.
37. Zarek SM. et al. Antimullerian hormone and pregnancy loss from the Effects of Aspirin in Gestation and Reproduction trial. *Fertil Steril.* 2016;105:946–62.
38. Ferraretti AP. et al. ESHRE consensus on the definition of 'poor response' to ovarian stimulation for in vitro fertilization: the Bologna criteria. *Hum Reprod.* 2011;26(7):1616–24.

39. C M. *Diagnosis and Treatment of Menstrual Disorders and Sterility*. Paul B Hoeber, New York. 1946;
40. Ostergaard. *Antigonadotrophic Substances*. Munksgaard, Copenhagen, Denmark. 1942;
41. CA. G. Clinical effect of human pituitary follicle stimulating hormone. *J Clin Endocrinol Metab*. 1958;18:138–48.
42. LK. D, RD. K. Creutzfeldt–Jakob legacy for Australian women treated with human pituitary gonadotropins. *Lancet*. 1992;340:847–8.
43. Lunenfeld B. et al. L'induction de l'ovulation dans les amenorrheas hypophysaires par un traitement combine de gonadotrophins urinaires menopausiques et de gonadotrophins chorioniques. *C R Soc Fr Gynecol*. 1962;32:346.
44. Stephanie A. et al. History and challenges surrounding ovarian stimulation in the treatment of infertility. *Fertil Steril*. 2012;97(4):795–801.
45. Ludwig M. et al. Ovarian stimulation: from basic science to clinical application. *RBM*. 2002;5(1):73–86.
46. Melmed H. et al. The response of the hyposensitive ovary to massive stimulation with human gonadotrophins. *J Obstet Gynaecol Br Commonw*. 1969;76:437–43.
47. Ryan LK et al. Steroid biosynthesis by human ovarian granulosa and theca cells. *J Clin Endocrinol Metab*. 1966;26:46–51.
48. Porter RN. et al. Induction of ovulation for in-vitro fertilisation using buserelin and gonadotropins. *Lancet*. 1984;1284–5.
49. Messinis et al. Comparison between tamoxifen and clomiphene for induction of ovulation. *Acta Obs Gynecol Scand*. 1982;61:377–9.
50. Mitwally MF. et al. Pregnancy outcome after the use of an aromatase inhibitor for ovarian stimulation. *Am J Obs Gynecol*. 2005;192:381–6.
51. Franik S. et al. Aromatase inhibitors (letrozole) for subfertile women with polycystic ovary syndrome. *Cochrane Database Syst Rev*. 2018;5:CD010287.
52. CJ B. Chapter 30: Medical Approaches to Ovarian Stimulation for Infertility. *Yen Jaffe's Reprod Endocrinol 3th Ed*. 2019;743–78.
53. Macklon NS. et al. The science behind 25 years of ovarian stimulation for in vitro fertilization. *Endocr Rev*. 2006;27:170–207.
54. Verberg MG. et al. ART: iatrogenic multiple pregnancy? *Best Pr Res Clin Obs Gynaecol*. 2007;21:129–43.
55. Nygren KG. et al. International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technology (ICMART) world report: assisted reproductive technology. *Fertil Steril*. 2011;95:2209–22.
56. Hughes E. et al. The routine use of gonadotropin-releasing hormone agonists prior to in vitro fertilization and gamete intrafallopian transfer: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Fertil Steril*. 1992;58(5):888–96.
57. Copperman A. et al. Optimal usage of the GnRH antagonists: a review of the

- literature. *Reprod Biol Endocrinol*. 2013;11(20):1–13.
58. Delvigne A. et al. Epidemiology and prevention of ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS): a review. *Hum Reprod Updat*. 2002;8:559–77.
 59. Parella et al. High proportion of immature oocytes in a cohort reduces fertilization, embryo development, pregnancy and live birth rates following ICSI. *RBMO*. 2019;39(4).
 60. Van Hoof M. et al. Doubling the human menopausal gonadotrophin dose in the course of an in-vitro fertilization treatment cycle in low responders: a randomized study. *Hum Reprod*. 1993;8(3):369–73.
 61. Broekmans FJ. et al. Female reproductive ageing: current knowledge and future trends. *Trends Endocrinol Metab*. 2007;18(2):58–65.
 62. Broekmans FJ. et al. A systematic review of tests predicting ovarian reserve and IVF outcome. *Hum Reprod Update*. 2006;12(6):685–718.
 63. Esteves S. et al. The POSEIDON Criteria and Its Measure of Success Through the Eyes of Clinicians and Embryologists. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2019;10(814):1–8.
 64. Esteves S. et al. Estimation of age-dependent decrease in blastocyst euploidy by next generation sequencing: development of a novel prediction model. *Panminerva Med*. 2019;61(1):3–10.
 65. Esteves S. et al. A Novel Predictive Model to Estimate the Number of Mature Oocytes Required for Obtaining at Least One Euploid Blastocyst for Transfer in Couples Undergoing in vitro Fertilization/Intracytoplasmic Sperm Injection: The ART Calculator. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2019;10(99):1–14.
 66. Sunkara S. et al. Management Strategies for POSEIDON Group 2. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2020;11(105):1–5.
 67. Mayorga M. et al. Ovarian response to follicle-stimulating hormone (FSH) stimulation depends on the FSH receptor genotype. *J Clin Endocrinol Metab*. 2000;85(9):3365–9.
 68. Alviggi C. et al. A common polymorphic allele of the LH beta-subunit gene is associated with higher exogenous FSH consumption during controlled ovarian stimulation for assisted reproductive technology. *Reprod Biol Endocrinol*. 2013;1(11):51.
 69. Polyzos N. et al. Management Strategies for POSEIDON's Group 1. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2019;10(679):1–4.
 70. González-Comadran M. et al. Effects of transdermal testosterone in poor responders undergoing IVF: systematic review and meta-analysis. *Reprod Biomed Online*. 2012;25(5):450–9.
 71. Mn Duffy J. et al. Growth hormone for in vitro fertilization. *Cochrane Database Syst Rev*. 2010;1:CD000099.
 72. Alviggi C. et al. Clinical relevance of genetic variants of gonadotrophins and their receptors in controlled ovarian stimulation: a systematic review and meta-analysis.

Hum Reprod Updat. 2018;24(5):599–614.

73. Vaiarelli A. et al. Double Stimulation in the Same Ovarian Cycle (DuoStim) to Maximize the Number of Oocytes Retrieved From Poor Prognosis Patients: A Multicenter Experience and SWOT Analysis. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2018;9(317):1–8.
74. Haahr T. et al. Management Strategies for POSEIDON Groups 3 and 4. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2019;10(614):1–11.
75. Renzini M. et al. Retrospective analysis of treatments with recombinant FSH and recombinant LH versus human menopausal gonadotropin in women with reduced ovarian reserve. *J Assist Reprod Genet*. 2017;34(12):1645–51.
76. Xu Y. et al. Pretreatment with coenzyme Q10 improves ovarian response and embryo quality in low-prognosis young women with decreased ovarian reserve: a randomized controlled trial. *Reprod Biol Endocrinol*. 2018;16(1):29.
77. Ashley M. et al. A History of Developments to Improve in vitro Fertilization. *Mo Med*. 2017;114(3):156–9.
78. Valdovinos. et al. Punto de corte de la concentración basal de FSH como factor pronóstico para la obtención de ovocitos en ciclos de FIV con protocolo antagonista. *Ginecol Obs Mex*. 2019;89(9).
79. Allibara A. et al. FSH Requirements for Follicle Growth During Controlled Ovarian Stimulation. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2019;10(579).
80. A. Weghofer. et al. Age-specific FSH levels as a tool for appropriate patient counselling in assisted reproduction. *Hum reprod*. 2005;20(9):2448–52.
81. Daniele S. et al. Efficacy of Follicle-Stimulating Hormone (FSH) Alone, FSH + Luteinizing Hormone, Human Menopausal Gonadotropin or FSH + Human Chorionic Gonadotropin on Assisted Reproductive Technology Outcomes in the “Personalized” Medicine Era: A Meta-analysis. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2017;8(114).
82. Madelon V. et al. Recombinant versus urinary gonadotrophin for ovarian stimulation in assisted reproductive technology cycles. *Cochrane Database Syst Rev*. 2011;(2).
83. Mindy S. et al. Use of various gonadotropin and biosimilar formulations for in vitro fertilization cycles: results of a worldwide Web-based survey. *J Assist Reprod Genet*. 2017;34(8):1059–66.