

Reproducción Asistida

Papel de la administración de LH en el curso de la fase folicular en mujeres con riesgo de pobre respuesta en ciclos de estimulación con FSH y cetorelix para FIV

Role of LH administration during the follicular phase in women with risk of low response in ovarian stimulation with FSH and cetorelix for IVF

M.J. Fernández Ramírez*, A. Monzó, T. García-Gimeno, J.M. Rubio, V. Montañana, C. Duque, G. Herrero, A. Romeu

Servicio de Ginecología (Reproducción Humana). Hospital Universitario La Fe, Valencia.

*Servicio de Obstetricia y Ginecología. Hospital Marina Baixa. Villajoyosa, Alicante

Resumen

Objetivo: Valorar el papel de la LH recombinante en la estimulación ovárica controlada con FSH recombinante y antagonistas de GnRH en pacientes con baja respuesta.

Material y métodos: Estudio prospectivo comparativo y randomizado de dos grupos de pacientes. En ambos grupos la estimulación ovárica se inició el día 2-3 del ciclo con FSH recombinante y se utilizó un antagonista de GnRH para el frenado hipofisario a partir de la observación ecográfica de al menos un folículo de diámetro igual o mayor a 14 mm. Tras la randomización, se añadió LH recombinante a partir de la administración del antagonista de GnRH, únicamente a las pacientes del Grupo 2.

Resultados: No se evidenciaron diferencias significativas en el número de folículos desarrollados, ovocitos recuperados, ovocitos en metafase II, calidad de los embriones ni en las tasas de fecundación tras FIV o ICSI. Los niveles de Progesterona el día de la punción para la captación de ovocitos, así como el día de la transferencia fueron mayores en el Grupo 1 (nivel de significación de $p=0,02$ para el día 0 y $p=0,032$ para el día +2). En el Grupo 2 los niveles séricos de LH el día siguiente de la administración de antagonista de GnRH, y por tanto de LH recombinante, así como tres días después, fueron significativamente mayores que en el Grupo 1. No hubo diferencias significativas en ninguna de las determinaciones de estradiol y FSH realizadas durante la estimulación.

Palabras clave: Baja respuesta. Antagonistas de GnRH. FSH recombinante. LH recombinante. Fecundación in vitro. ICSI.

Correspondencia: Dr. D. Alberto Romeu
Servicio de Ginecología (Reproducción Humana)
Hospital Universitario La Fe
Avda. Campanar, 21.
46009, Valencia
e-mail: romeu_alb@gva.es

Summary

Objective: *To evaluate the role of recombinant LH during controlled ovarian stimulation with recombinant FSH and GnRH antagonists in low-responder patients.*

Materials and methods: *Prospective, comparative and randomized study of two groups of patients. In both groups, the ovarian stimulation with recombinant FSH started the day 2-3 of the cycle, and a GnRH antagonist was used for pituitary suppression after observing at least a follicle with a diameter of 14 mm or more. After randomization, LH recombinant was added after the administration of the GnRH antagonist, but only in patients of Group 2.*

Results: *No significant differences were observed regarding the number of developed follicles, recovered oocytes, oocytes in metaphase II, embryo quality or fertilization rates after IVF or ICSI. The levels of progesterone on the day of the puncture to collect oocytes, as well as on the day of the transfer, were higher in Group 1 (level of significance of $p=0,02$ for day 0 and $p=0,032$ for day +2). In Group 2, LH serum levels the day after the administration of GnRH antagonists - and therefore of LH recombinant - and three days later, were significantly higher than those in Group 1. There were no significant differences in any of the estradiol and FSH determinations carried out during the stimulation.*

Key words: Low response. GnRH antagonists. Recombinant FSH. Recombinant LH. In vitro fertilization (IVF). ICSI.

INTRODUCCIÓN

Un requisito fundamental para obtener buenas tasas de gestación en pacientes sometidas a fecundación in vitro (FIV) es conseguir una respuesta ovárica adecuada a la estimulación con gonadotropinas, ya que es ésta la que proporcionará los ovocitos fecundables necesarios.

El concepto de baja respuesta (BR) nace al observar que determinadas mujeres desarrollan un número anormalmente bajo de folículos ováricos tras la estimulación ovárica con dosis adecuadas de gonadotropinas. En general, estas mujeres presentan niveles de estradiol bajos y las tasas de gestación son menores.

La baja respuesta es un motivo de preocupación para los equipos de trabajo que practican la fecundación in vitro porque es relativamente frecuente y, a menudo, es causa de frustración tanto para el clínico como para la paciente, ya que en muchas ocasiones obliga a la cancelación del tratamiento o a asumir la posibilidad, más que razonable, de obtener un mal resultado.

La definición de baja respuesta es retrospectiva en la mayor parte de estudios. Es decir, a partir de una serie de mujeres a las que se practica una fecundación in vitro, se identifican aquellas en las que el resultado de la estimulación fue poco satisfactorio y retrospectivamente se analiza el número de ovocitos obtenidos o de folículos desarrollados o el nivel de FSH basal, y en función de estos resultados, se define el grupo de

mujeres con baja respuesta. Su incidencia varía de un 9 a un 24 %. [1, 2].

Actualmente no existe una definición consensuada de baja respuesta. Cada autor basa su diagnóstico en distintos criterios que implican parámetros analíticos y ecográficos, teniendo en cuenta la correlación entre el número y la calidad biológica de los folículos en desarrollo y el nivel de estradiol en sangre. Así pues, se habla de baja respuesta cuando los niveles de estradiol en sangre no superan cifras de entre 300 y 1000 pg/ml y el número de folículos maduros desarrollados con la estimulación ovárica con gonadotropinas es inferior a 3 o 4 según diferentes estudios. [3-6]

Teniendo en cuenta que estos criterios únicamente permiten obtener un diagnóstico retrospectivo de baja respuesta, se ha establecido una serie de parámetros predictores de desarrollarla. La medición ecográfica de los folículos antrales antes de iniciar la estimulación parece proporcionar un buen pronóstico de baja respuesta [7]. La edad superior o igual a 38 o 40 años puede caracterizar a la paciente como baja respondedora, aunque no debería considerarse como indicador único, prestando atención a otros marcadores de reserva folicular. En este sentido, el nivel de FSH el día 3 del ciclo igual o superior a 8,5 UI/l fue considerado predictor de baja respuesta tras un estudio con mujeres con función ovárica normal, en las que se observó tasas de cancelación significativamente mayores y tasas de embarazo llamativamente inferiores [44]. Se admiten, asimismo, otros parámetros predictores: de-

terminaciones de FSH tras estimulación con citrato de clomifeno, niveles de estradiol el día 3 del ciclo [8] y, más recientemente los niveles de inhibina B [9,10]. A todo esto cabe añadir el criterio lógico del antecedente de baja respuesta a la estimulación.

Se ha propuesto diferentes mecanismos etiopatogénicos para la baja respuesta a la estimulación gonadotropa pero ninguno de ellos ha sido demostrado totalmente [11-15].

De todas las posibles etiopatogenias referidas, la más frecuente, importante y previsible es el síndrome de fallo ovárico oculto (FOO), descrito por Cameron y cols en 1988 [16], y que caracterizaron como una situación de ciclo menstrual regular, infertilidad y elevación del nivel circulante de FSH. Es una patología particularmente interesante porque permite encontrar una explicación fisiológica racional a la BR y relacionar la escasa reserva funcional del ovario con los cambios ováricos asociados a la edad. Probablemente, por esta razón, Cameron y cols interpretaron la situación de FOO como una posible situación climatérica o preclimatérica. En efecto, la dotación folicular de los ovarios de cualquier mujer es máxima al nacimiento y, a partir de este momento, disminuye constantemente, cualquiera que sea la situación de la mujer. La disminución del aparato folicular se acompaña de una disminución de la secreción de inhibina, lo que conlleva un aumento de los niveles circulantes de FSH; este aumento contribuye al mantenimiento de los niveles de estradiol y a la capacidad de desarrollar uno o más folículos preovulatorios.

Han sido descritos numerosos protocolos de estimulación ovárica con el fin de mejorar los resultados de la FIV en pacientes con riesgo de baja respuesta, aunque ninguno de ellos ha demostrado ser lo suficientemente eficaz hasta la fecha.

Existen razones para defender la hipótesis de que alcanzar el bloqueo gonadotropo hipofisario mediante la administración de antagonistas de GnRH (GnRH-an) podría permitir, al evitar la acción "antigonadotropo" de los agonistas (aGnRH), obtener mejores respuestas a la estimulación. Por otra parte, los antagonistas requieren menor tiempo de administración y permiten que la estimulación necesaria se obtenga en el menor tiempo y con el menor consumo de gonadotrofinas. Sin embargo, han sido descritas alteraciones de la síntesis de estradiol con el uso de los antagonistas y se ha aducido que, quizás, una brusca y excesiva supresión de la secreción de LH podría estar implicada en este efecto y en la observación de tasas de gestación ligeramente inferiores al comparar el uso de antagonistas y el uso de agonistas para la fecundación

in vitro. Con el fin de comprobar dichas hipótesis se ha diseñado el presente estudio.

MATERIAL Y MÉTODOS

Han sido estudiados de forma prospectiva y comparativa 34 ciclos de estimulación ovárica controlada en pacientes tratadas mediante FIV en el Servicio de Reproducción Humana del Hospital Universitario La Fe de Valencia FIV entre enero y junio de 2006.

Todas las pacientes y sus parejas eran mayores de edad y firmaron un consentimiento informado para la realización de un tratamiento de reproducción asistida (FIV o ICSI), así como para la inclusión en un ensayo clínico destinado a tratar pacientes con riesgo de baja respuesta. En ningún caso hubo contraindicación médica o de otra índole para la realización de dicho tratamiento. El protocolo de estudio fue aprobado por el Comité de Ética del centro.

Todas las pacientes cumplieron los siguientes criterios de inclusión, que fueron valorados dentro de los 6 meses previos al comienzo de la estimulación:

1. Edad no superior a los 37 años.
2. Esterilidad subsidiaria de ser tratada mediante FIV.
3. Riesgo de pobre respuesta por al menos uno de los siguientes criterios:
 - * Pobre respuesta en el ciclo previo definida por al menos uno de los siguientes criterios:
 - ≤ 3 Folículos preovulatorios el día de hCG o cancelación del ciclo.
 - ≤ 2 Ovocitos metafase II.
 - E2 ≤ 600 pg/ml el día de hCG o cancelación del ciclo.
 - * Cancelación de un ciclo previo por respuesta inadecuada a gonadotropinas.
 - * FSH basal ≥ 8.5 mUI/ml (día 2-5 de la fase folicular).
4. Niveles séricos basales (día 2-5 de la fase folicular) de LH y E2 dentro del intervalo de normalidad del centro.
5. Ciclos menstruales regulares de entre 25 y 35 días.
6. Presencia de ambos ovarios y útero capaz de soportar el embarazo.
7. Citología cervical normal (máximo 3 años previos a la inclusión).
8. Índice de masa corporal (IMC) ≤ 30 a la inclusión.
9. Embarazo descartado al menos en la ecografía del día 2-3 del ciclo a estimular.

10. Disposición y capacidad par ajustarse al protocolo durante todo el estudio.

11. Haber firmado el consentimiento informado.

Fueron excluidas del estudio todas aquellas pacientes que presentaron al menos uno de estos criterios:

1. Seropositividad conocida para VIH, VHB o VHC.

2. Nivel sérico de prolactina > 25 ng/ml

3. Sufrir cualquier enfermedad sistémica clínicamente importante, tumor hipotalámico o hipofisario, cáncer de ovario, útero o mama, endocrinopatía y/o alteraciones médicas, bioquímicas o hematológicas que, a juicio del investigador, pudieran interferir en el tratamiento con gonadotropinas.

4. Haber seguido más de 3 ciclos previos de reproducción asistida.

5. Tener embriones criopreservados con la misma pareja.

6. Presencia de hemorragia vaginal de causa no aclarada.

7. Presencia de ovario poliquístico o quistes ováricos de etiología desconocida

8. Cualquier contraindicación para quedarse embarazada.

9. Alergia conocida a preparados de gonadotropinas.

10. Drogodependencia, abuso de medicamentos o alcoholismo en los últimos cinco años.

11. Participación anterior en este estudio o participación simultánea en otro estudio clínico con un fármaco en investigación.

12. Negativa o incapacidad de cumplir el protocolo del estudio.

Las 34 pacientes incluidas en el estudio fueron divididas en dos grupos de acuerdo con los criterios de randomización que se especifican más adelante:

- **Grupo 1** formado por 18 pacientes estimuladas con folitropina alfa recombinante humana (rFSH) y cetorelix (Gonal F y Cetrotide, respectivamente, Laboratorios Serono, Madrid).

- **Grupo 2**, formado por 16 pacientes a las que además se añadió lutropina alfa recombinante humana (rLH) (Luveris, Laboratorios Serono, Madrid).

En todas ellas se valoró todos los datos relativos al diagnóstico de esterilidad, a la técnica de reproducción, a las características de la estimulación (determinaciones hormonales, parámetros ecográficos, etc) y variables derivadas de la obtención de gametos y embriones en el laboratorio. No se observó diferencias estadísticamente significativas en cuanto a características generales entre los dos grupos (edad, IMC, años de esterilidad, causa de esterilidad).

Protocolo de tratamiento

En ambos grupos la estimulación ovárica controlada se inició el día 2-3 del ciclo con una dosis diaria de 300-450 UI de rFSH, ajustando posteriormente la dosis en función de la respuesta ovárica objetivada mediante ecografía y/o nivel sérico de estradiol en sangre (E2).

Cuando durante el control ecográfico se detectó un folículo preovulatorio de (14 mm de diámetro mayor, se instauró tratamiento de frenado hipofisario con un GnRH-an (Cetrorelix) para prevenir una ovulación no controlada, a dosis de 0,25mg/día, y se mantuvo hasta el día de administración de la HCG. Ese mismo día las pacientes fueron randomizadas en los dos grupos de estudio.

La asignación aleatoria del grupo de tratamiento se realizó mediante el sistema de sobres cerrados, en cuyo interior figuraba un número aleatorio de randomización y el grupo de tratamiento asociado a dicho número.

Las pacientes a las que les correspondió tratamiento con rLH (Grupo 2), iniciaron su administración, por vía subcutánea, el mismo día que el GnRH-an, a una dosis de 150 UI/día, (75 UI cada 12 horas). GnRH-an, rLH y rFSH se mantuvieron hasta alcanzar criterios administración de HCG. Las pacientes a las que no les correspondió tratamiento con rLH (Grupo 1), continuaron con la administración de rFSH hasta completar la estimulación ovárica.

El criterio para la administración de HCG fue la presencia de al menos 1 folículo de (18 mm de diámetro medio y 2 folículos adicionales (16 mm, estando los niveles de E2 dentro de un intervalo aceptable en relación al número de folículos presentes. La HCG se administró en una dosis única de 250 mcg mediante inyección por vía subcutánea, dentro de las 36 horas siguientes a la última dosis de gonadotropinas y GnRH-an.

La recuperación de los ovocitos se llevó a cabo por punción y aspiración folicular a las 36 horas de la administración de hCG.

La punción y aspiración de los folículos se realizó, bajo anestesia general, por vía transvaginal y guiada por ecografía. Fueron sistemáticamente puncionados y aspirados todos los folículos visibles de 14 o más milímetros de diámetro.

El aspirado folicular fue trasladado al laboratorio de embriología, adyacente al quirófano, donde se procedió al aislamiento y catalogación del ovocito en función de su estadio madurativo nuclear o del aspecto del complejo corona-cúmulo.

Una vez los ovocitos fueron clasificados, se man-

tuvieron en cultivo en estufa de CO₂ y a 37°C durante dos horas hasta su inseminación o microinyección.

La clasificación embrionaria se hizo, según la clasificación morfológica de Veeck, considerando embriones de buena calidad aquellos que presentaron un número de células igual o mayor de 4 y fragmentación menor de 20%. La transferencia se realizó dos días después de la obtención de los ovocitos, siendo transferido un máximo de dos embriones intraútero en todos los casos, excepto en uno del Grupo 2 en el que se transfirió tres embriones a petición de la paciente. Todas las transferencias se realizaron bajo control ecográfico.

El apoyo de la fase lútea se realizó con 400 mg/día de progesterona natural micronizada vía vaginal a partir de la transferencia embrionaria, manteniéndose hasta que se produjo la menstruación. Dos semanas después de la punción ovárica se realizó una determinación de (-hCG plasmática. Se consideró diagnóstico bioquímico de embarazo valores de (βhCG superiores a 20 UI/ML. El diagnóstico ecográfico de embarazo se realizó dos semanas después de haber obtenido βhCG positiva y en estos casos la administración de progesterona se mantuvo hasta la semana 10 de embarazo. Se consideró la existencia de un embarazo cuando fue visible un embrión con latido cardíaco.

Estudio estadístico

La valoración de los datos obtenidos se realizó mediante el paquete estadístico SPSS versión 11.5.1. Se comprobó que todas las variables se ajustaban a una distribución normal mediante la realización de un test de Kolmogorov-Smirnov. Se utilizó el test t de Student para la comparación de variables cuantitativas y el de chi-cuadrado para la comparación de proporciones. Con el fin de analizar posibles correlaciones entre variables, se realizó un análisis de regresión simple y de correlación bivariada. Se ha considerado la existencia de significación estadística valores de $p < 0,05$.

RESULTADOS

Fue cancelado un total de 10 pacientes, lo cual supone el 29,4 % del total, 6 de ellas en el Grupo 1 y las 4 restantes en el Grupo 2, sin diferencias significativas entre los grupos. La causa de cancelación en todas ellas fue la falta de respuesta o la respuesta ovárica insuficiente.

De las 24 pacientes a las que se practicó la pun-

ción ovárica (12 en cada grupo) las características más relevantes de la estimulación ovárica se presentan en la Tabla 1.

Tabla 1
Estimulación ovárica

| | Grupo 1 | Grupo 2 | P |
|------------------------------|-------------|------------|-------|
| Días de estimulación | 11,3 ± 6,7 | 8,6 ± 1,7 | 0,184 |
| Total FSH (UI/mL) | 4500 ± 1222 | 4075 ± 940 | 0,350 |
| Total LH (UI/mL) | - | 641 ± 179 | |
| Nº Folículos ≥ 16mm | 4,5 ± 1,4 | 4,3 ± 2,3 | 0,791 |
| Diámetro folículo mayor (mm) | 20,2 ± 1,5 | 20,7 ± 2,3 | 0,568 |
| Endometrio (mm) | 10,7 ± 2,2 | 11,4 ± 1,9 | 0,378 |
| Estradiol día HCG (pg/mL) | 1030 ± 348 | 1161 ± 579 | 0,537 |

Al analizar las características generales de la muestra, se observó que 23,5 % de las pacientes presentaron al inicio de la estimulación niveles de FSH inferiores a 8,5 mUI/ml. Esto puede reflejar la variabilidad entre ciclos de los niveles de FSH. Comparadas las características de los ciclos en estas pacientes con las observadas en pacientes con FSH ≥ 8,5 mUI/ml, únicamente se advirtió diferencias significativas en los niveles de LH que presentaban al inicio del tratamiento, con un nivel de significación de $p = 0,03$, siendo de $3,5 \pm 1,5$ mUI/ml y $6 \pm 2,9$ mUI/ml respectivamente. El resto de variables analizadas fue similar en ambos grupos: número de folículos, estradiol el día de hCG, dosis total de FSH y LH administradas, días de estimulación, niveles de estradiol y progesterona los días de punción y transferencia, número de folículos puncionados, número de ovocitos totales y metafases II obtenidos, tasas de fecundación en FIV ni en ICSI.

Los resultados de las determinaciones hormonales medidas el día de la administración de hCG (día -2) se presentan en la tabla 2. Como puede observarse, no se comprobó la existencia de diferencias significativas entre los dos grupos estudiados.

Los niveles de estradiol en los diferentes momentos de la estimulación ovárica (basal, día 4, previo a la administración de Cetorelix y en los días sucesivos hasta la administración de hCG), no mostraron diferencias significativas entre los Grupos 1 y 2.

No hubo diferencias significativas entre los

Tabla 2
Determinaciones hormonales el día de administración de HCG

| | Grupo 1 | Grupo 2 | P |
|-------------------|----------------|----------------|-------|
| Estradiol (pg/mL) | 1029,7 ± 348,5 | 1161,3 ± 579,2 | 0,537 |
| FSH (UI/mL) | 24,14 ± 7,53 | 27,14 ± 8,42 | 0,155 |
| LH (UI/mL) | 1,64 ± 1,67 | 3,13 ± 1,89 | 0,067 |

Grupos 1 y 2 en ninguna de las determinaciones realizadas de FSH.

Los niveles de LH se muestran en la Figura 1. En el grupo 2 los niveles de LH séricos el día siguiente a la administración de antagonista, y por tanto de LH, fueron significativamente mayores que en el Grupo 1, tratado sólo con rFSH ($p=0,002$). Tres días después de la administración de antagonista, los niveles de LH también fueron significativamente superiores en el Grupo 2 ($p=0,003$). En el resto de valoraciones, aunque los niveles de LH medidos fueron mayores en el Grupo 2, esta diferencia no alcanzó significación estadística.

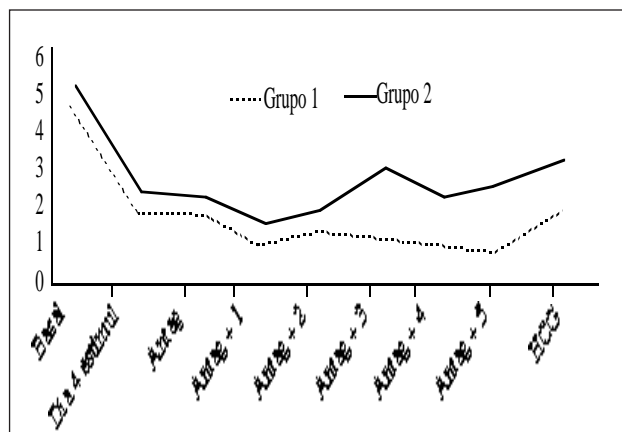


Figura 1
Niveles de LH (* $p<0,005$)

Los niveles de progesterona el día de la punción para la captación ovocitaria, así como el día de la transferencia fueron significativamente mayores en el Grupo 1. Sus valores se muestran en la Tabla 3, con un nivel de significación de $p=0,02$ para el día 0 y $p=0,032$ para el día +2.

Fueron analizadas otras variables provenientes de los ciclos de estimulación tales como número de folículos puncionados, número de ovocitos totales y metafase II obtenidos, REM y tasa de fecundación tras FIV o ICSI, que quedan expresados en la Tabla 4. Ninguno de estos parámetros presentaba diferencias significativas desde el punto de vista estadístico entre ambos grupos.

En cinco casos no se realizó transferencia embrionaria, tres en el Grupo 1 y dos en el Grupo 2. En dos casos, uno en cada grupo, la razón fue la detención del desarrollo embrionario después de observar dos pronúcleos en los dos cigotos obtenidos. En los tres casos restantes, dos en el Grupo 1 y uno en el Grupo 2, la causa fue el fallo de fecundación tras microinyección de un solo ovocito en metafase II.

Tabla 3

Determinaciones de Progesterona (pg/mL)

| | Grupo 1 | Grupo 2 | p |
|-----------------|-----------|---------|-------|
| Progesterona 0 | 8,4±3,8 | 4,2±2,2 | 0,020 |
| Progesterona +2 | 31,9±12,9 | 20±9,3 | 0,032 |

Tabla 4

Parámetros de laboratorio

| | Grupo 1 | Grupo 2 | p |
|---------------------------|------------|-----------|-------|
| Folículos puncionados | 8,3± 4,4 | 6,6± 2,2 | 0,260 |
| Nº Ovocitos | 5,8± 2,1 | 4,5±2,6 | 0,190 |
| Nº Metafases II | 3,3± 1,7 | 3,1± 2 | 0,319 |
| REM | 19,1± 21,3 | 25,7±30,4 | 0,486 |
| Tasa fecundación FIV (%) | 53,3 | 51,2 | 0,910 |
| Tasa fecundación ICSI (%) | 92 | 93 | 0,882 |

En los 19 casos restantes, fue transferido un embrión en 3 casos (14,3%), en 14 casos (66,7%) fueron transferidos dos embriones y tres embriones en 1 caso (4,8%). No hubo diferencias entre los dos grupos en el número de embriones transferidos ($p=0,591$).

En 8 casos (44%) todos los embriones transferidos fueron de calidad regular (menos de 4 células o más de 20% de fragmentación). En 6 casos (33%) al menos uno de los embriones transferidos era de buena calidad. En los 4 casos restantes (22,2%) los dos embriones eran de buena calidad (cuatro o más células con menos de 20% de fragmentación). No se observó diferencias significativas de la calidad de los embriones transferidos en función del grupo de tratamiento asignado.

Se produjo una gestación en cinco pacientes, tres en el Grupo 1 y dos en el Grupo 2, lo que supone una tasa de gestación por ciclo iniciado de 14,7%, una tasa de 20,8% por punción y una tasa de 26,3 % por transferencia, sin que se observaran diferencias significativas entre los grupos.

Las tres gestaciones del Grupo 1 se produjeron en pacientes a las que se les había transferido dos embriones, siendo al menos uno de ellos de buena calidad. De las dos pacientes que gestaron en el Grupo 2, en una de ellas se transfirió un solo embrión de buena calidad y en la otra fueron transferidos dos embriones, ambos de buena calidad.

El número de embriones de buena calidad transferidos guardó una correlación positiva y significativa con la consecución de embarazo (coeficiente de correlación 0,584, $p=0,017$). No se observaron otras correlaciones significativas.

Los rangos de Estradiol (E2) el día de la administración de hCG de las pacientes que gestaron variaron

entre 470 pg/ml y 2359 pg/ml. La edad de las pacientes que gestaron varió entre 31 y 37 años.

DISCUSIÓN

El objetivo fundamental cuando se plantea un tratamiento de reproducción asistida a una pareja con problemas de esterilidad, es conseguir el nacimiento de un niño sano con la máxima eficiencia y los mínimos riesgos y efectos secundarios. Este objetivo lleva implícito, entre otros aspectos, conseguir un adecuado desarrollo folicular.

En la práctica clínica, parece poder afirmarse que el éxito de los tratamientos mediante fecundación in vitro (FIV), depende del adecuado control de la estimulación ovárica y del exquisito manejo de gametos y embriones, no habiendo sido posible demostrar la superioridad de un tipo de estimulación sobre otro [17] ni de un tipo u otro de bloqueo medicamentoso de la liberación de gonadotropinas [18]. En efecto, aunque ha sido señalada alguna ventaja con el uso de antagonistas (menos necesidades de FSH, mayor tasa de ovocitos maduros o de implantación [19]), no se ha obtenido una mejoría evidente en las tasas de gestación. En particular, esto mismo puede afirmarse respecto de las mujeres que muestran baja respuesta a las gonadotropinas [20].

A la hora de plantear un tratamiento en la baja respuesta lo importante es el establecimiento de un adecuado pronóstico, con el fin de modificar el manejo del ovario, intentando mejorar la respuesta a la estimulación.

Considerando que LH es imprescindible para la síntesis de andrógenos en la teca, que estos andrógenos potencian la acción de FSH sobre las células granulosas [21] y conocida la acción de los antagonistas de GnRH sobre la síntesis y liberación de LH, se estableció la hipótesis del presente estudio: la adición de LHr durante la fase folicular avanzada, en mujeres seleccionadas previamente por riesgo de presentar pobre respuesta, en ciclos de estimulación ovárica con rFSH y Cetorelix para FIV, podría permitir obtener mayor eficiencia de los tratamientos y mejores resultados en términos de tasas de gestación.

La hipótesis planteada no ha podido ser demostrada en el presente estudio. Las razones para ello pueden deberse a que dicha hipótesis no sea correcta o bien a que los resultados obtenidos se deban a limitaciones y deficiencias inherentes al estudio, fundamentalmente debidas al escaso tamaño muestral.

Resulta difícil admitir que la hipótesis no es correcta porque hechos evidentes en la clínica parecen

apoyarla, como el reclutamiento multifolicular que se observa en mujeres hiperandrogénicas, cuando son estimuladas para FIV con bajas dosis de FSH.

Con la incorporación de los antagonistas, que se han mostrado eficaces en el bloqueo gonadotropo y que permiten la hiperestimulación controlada del ovario con bajas dosis de gonadotropinas, parece razonable pensar que estos no ejercen el antes señalado efecto indeseable de los agonistas y que, en consecuencia, podrían encontrar una indicación específica en las mujeres con riesgo de desarrollar una baja respuesta. Por otra parte, los GnRH-an tienen la ventaja de permitir que la estimulación necesaria se obtenga en menor tiempo que el requerido con el uso de los aGnRH y con menor dosis de gonadotropinas.

Lo hasta aquí expuesto constituye la justificación del empleo de antagonistas en mujeres con riesgo de baja respuesta. Sin embargo, alteraciones de la síntesis de estradiol con el uso de los antagonistas, debido quizás a una brusca y excesiva supresión de la secreción de LH, podrían estar implicadas en la observación, según varios grupos de estudio, de tasas de gestación ligeramente inferiores al comparar el uso de antagonistas y el uso de agonistas para la fecundación in vitro. [23]. Dicha suposición, justificaría la introducción de rLH en los protocolos de tratamiento con GnRH-an.

Existen múltiples estudios que comparan la eficacia entre agonistas y antagonistas de GnRH en protocolos de HOC en pacientes subsidiarias de FIV. Sin embargo, existen pocos datos hasta la fecha sobre el uso de GnRH-an en mujeres bajas respondedoras [24].

Marín Palazón et al [25], compararon los resultados obtenidos utilizando un protocolo de supresión hipofisaria con GnRH-an en pacientes con baja respuesta con la administración de aGnRH en protocolo largo. Se analizaron de forma prospectiva 164 ciclos de estimulación ovárica controlada, estableciéndose dos grupos de tratamiento: En un primer grupo se realizó la supresión hipofisaria con un aGnRH (Decapeptyl®) en dosis de 0,1 mg/día desde el día 22 del ciclo previo a la estimulación, disminuyendo la misma a la mitad al comenzar la estimulación ovárica con rFSH. En el segundo grupo se utilizó un GnRH-an (cetorelix o ganirelix) a dosis de 0,25 mg/día a partir de la visualización ecográfica de un folículo de al menos 14 mm y hasta administrar hCG. En ambos grupos se llevó a cabo una estimulación ovárica controlada con rFSH desde el tercer día del ciclo, con dosis inicial de 450 UI/día. Al igual que en nuestro estudio, este grupo de trabajo consideró mujeres con riesgo de baja respuesta a aquellas con FSH en el día 3 del ciclo >8,5 UI/L y/o antecedente de ba-

ja respuesta en un ciclo anterior, con la diferencia de que todas las pacientes tenían 38 años o más. En el grupo en el que se realizó la supresión hipofisaria con GnRH-an, no se utilizó rLH. No observaron diferencias significativas en el número de folículos desarrollados, ovocitos recuperados o en metafase II, en los embriones de buena calidad obtenidos ni en la tasa de gestación por ciclo iniciado. El nivel de estradiol el día de administración de hCG, la duración del estímulo, la tasa de ciclos cancelados y la dosis total de gonadotropinas fueron significativamente menores en el grupo del GnRH-an aunque la concentración de estradiol por folículo fue similar en los dos grupos.

Datos recientes indican que la administración de GnRH-an da lugar a una disminución en los niveles de LH y estradiol, produciendo peor calidad de ovocitos y embriones [23].

Basándose en este hecho, De Placido et al [24] en un estudio realizado recientemente con 140 pacientes con riesgo de baja respuesta para ICSI, compararon el protocolo de tratamiento habitual con GnRH-a en protocolo corto, con otro protocolo parecido al planteado en el presente estudio, en el que administraron 0,125 mg/día de cetrorelix junto 150 UI diarias de LHr. La dosis diaria inicial de FSH fue de 300 UI, cantidad inferior a la utilizada en nuestro protocolo. De Plácido et al no observaron diferencias significativas en cuanto a los niveles de estradiol entre los dos grupos ni en las tasas de implantación y gestación, siendo estas últimas de 25,37 % en el grupo de GnRH-an y 21,21 % en el de GnRH-a. Sin embargo, se apreció un incremento en el número de ovocitos maduros en el grupo de GnRH-an, resultado que no hemos comprobado en nuestro trabajo.

Es bien conocido que la baja respuesta a la estimulación ovárica da lugar a pobres resultados y a altas tasas de cancelación, que varían con el tiempo y según diferentes grupos de estudio entre un 12 y un 30 % [4,16]

En un estudio llevado a cabo por el grupo de trabajo de Romeu et al [22] en que fueron incluidos la totalidad de ciclos estimulados para FIV entre Enero de 1996 y Dic 1998, se puso de manifiesto que el 14,6% de ciclos fue cancelado por baja respuesta considerando como tal, el desarrollo de menos de 4 folículos preovulatorios. Dicha tasa de cancelación fue concordante con la observada por otros autores en series de pacientes no seleccionadas [4, 16].

En el presente estudio, realizado sobre pacientes seleccionadas diagnosticadas de baja respuesta en un ciclo previo o con pronóstico de desarrollar la misma, se observó que la tasa de cancelación fue del 29,4 %, sin diferencias significativas entre los dos grupos de

estudio, estando dicha tasa por encima de la observada en el global de tratamientos de reproducción asistida. Este dato es lógico y esperable teniendo en cuenta la selección de las pacientes. En todos los casos, la causa de cancelación fue la baja respuesta ovárica.

La tasa de cancelación de las pacientes tratadas con GnRH-an y LHr para De Placido et al [24] en el trabajo expuesto anteriormente fue del 5,9%, siendo la causa de todas las cancelaciones la respuesta ovárica inadecuada. Para las pacientes tratadas con el protocolo habitual de GnRH-a, la tasa de cancelación fue del 7,5%. En este estudio no se especifican cuáles fueron los criterios concretos para la cancelación del ciclo. Estos resultados contrastan con los observados en el presente estudio, lo cual llama la atención, sobre todo porque en ambos trabajos se ha considerado únicamente la inclusión de pacientes con pronóstico de baja respuesta. Probablemente, la razón de esta discrepancia sea la existencia de un importante sesgo de selección, ya que el pronóstico de baja respuesta se estableció en base a uno de los siguientes criterios: edad de las pacientes (≥ 37 años) o niveles de FSH ≥ 9 UI.

Acevedo et al [19] obtienen resultados similares a los observados por de De Placido, concluyendo que la administración de LHr en pacientes tratadas con GnRH-an y FSH aumenta el número total de ovocitos, el porcentaje de ovocitos maduros y da lugar a un incremento significativo de las tasas de implantación. Según este autor, estos resultados se deben a que en las pacientes tratadas con GnRH-an, la adición de LHr es crucial para sustituir la síntesis de E2 y de otros péptidos, fundamentales para la diferenciación ovocitaria.

Cedrin-Durnerin et al [26], en un estudio prospectivo randomizado, también evidenciaron una mejoría significativa en la respuesta ovárica en aquellas pacientes con riesgo de baja respuesta, a las que se les añadió LHr al protocolo con GnRH-an.

También Chung et al [27], recientemente, han evaluado la importancia de la adición de LH en pacientes tratadas con GnRH-an, analizando de forma retrospectiva el tratamiento de HOC de 240 pacientes con riesgo de baja respuesta, establecido éste por el desarrollo de menos de cuatro folículos en un ciclo previo de estimulación y FSH en un rango de 10,1-18. Se establecieron dos grupos de pacientes en función de la estimulación ovárica con FSH sola o en combinación con LH urinaria (hMG) con una relación 1:1 ó 1:2. En la metodología de este estudio los autores no especifican cuáles fueron las dosis utilizadas de cada uno de los fármacos. Al analizar los resultados obtenidos se aprecia

que, no existen diferencias significativas en cuanto a las dosis de tratamiento administradas ni a los días de tratamiento requeridos entre ambos grupos, sin embargo el número de ovocitos obtenidos en pacientes a las que se les administró LH fue significativamente menor. Cuando las pacientes se estratificaron por edad, se observó que no existían diferencias significativas entre el grupo no suplementado y el suplementado con LH para ninguno de los parámetros analizados en las pacientes de menos de 40 años. Sin embargo, en las pacientes de 40 años o más se apreció, que aunque no existían diferencias en cuanto a las dosis totales de tratamiento ni en los días requeridos del mismo, sí existía una marcada disminución en el número de ovocitos obtenidos en el grupo de pacientes que recibieron LH en su protocolo de tratamiento. Esta situación se podría explicar debido a que el mayor contenido estromal en los ovarios envejecidos, podría aumentar la sensibilidad a los efectos adversos potenciales de la LH. En este trabajo, la tasa de cancelación fue de 40%, sin observar diferencias entre las que recibieron o no LH. En todos los casos, la causa de cancelación fue la baja respuesta ovárica. Los criterios de cancelación fueron: niveles de estradiol inferiores a 200 pg/mL o la falta de desarrollo de cuatro o más folículos el décimo día de tratamiento. Aunque se trata de un estudio retrospectivo, los resultados en cuanto a tasa de cancelación son no sólo más verosímiles sino también más comparables a los obtenidos en nuestro estudio.

Al analizar los resultados obtenidos en el nuestro trabajo, no se advirtió una diferencia significativa en el número de folículos puncionados, en el número de ovocitos captados ni en las tasas de gestación. En cuanto a los niveles hormonales analizados tampoco existieron diferencias significativas entre los dos grupos, a excepción de los niveles de progesterona que, inesperadamente fueron significativamente mayores en el grupo al que no se administró rLH. No se ha conseguido encontrar una explicación a este hallazgo en la bibliografía consultada. Quizás podría justificarse desde la perspectiva de las acciones fisiológicas de las hormonas implicadas: la HCG favorece la síntesis de progesterona al actuar sobre folículos maduros. La administración diaria de rLH podría haber actuado como pulsos intempestivos de LH, induciendo la atresia de los folículos no maduros. El hallazgo de una disminución en los niveles de progesterona en los días de punción y de transferencia, en las pacientes a las que se les administró rLH podría deberse a que la administración de LH pudiera inducir la atresia de estos folículos no totalmente maduros, de manera que la acción de la HCG administrada haya sido menos intensa en este grupo de pacientes

Como puede observarse, al analizar los trabajos que intentan averiguar cuál es el tratamiento de elección en la población seleccionada por baja respuesta, y a su vez clarificar el posible beneficio de la adición de rLH en sus protocolos de tratamiento, se aprecia que aún hoy, no existe un tratamiento claramente ventajoso para las bajas respondedoras, y que aunque la mayoría de ellos obtienen algún beneficio en cuanto a los resultados de la HOC con rLH, no se obtienen claros incrementos en las tasas de gestación, que es el objetivo final de cualquier tratamiento de reproducción.

Por todo lo expuesto y, aunque aún en la actualidad existen controversias, la adición de rLH a los protocolos con GnRH-an, parece ser una opción alentadora en el diseño de estudios prospectivos randomizados, encaminados a evaluar la eficacia de esta estrategia sobre las tasas de gestación en pacientes sometidas a HOC con riesgo de baja respuesta.

AGRADECIMIENTOS

Este estudio forma parte del Ensayo Clínico de Laboratorios Serono, código: 26170.

BIBLIOGRAFÍA

1. **Scott RT Jr. MD.:** Evaluation and treatment of low responders. *Seminars in Reproductive Endocrinology*, 1996; 14, 317-337.
2. **Pellicer A, Ballester MJ, Serrano MD, et al.:** Aetiologic factors involved in the low response to gonadotropins in infertile women with normal basal serum follicle stimulating hormone. *Hum Reprod*, 1994; 9:806-11.
3. **Ben-Rafael, Z, et al.:** Limitations in the use of combined gonadotropin-releasing hormone analog and human menopausal gonadotropin for in vitro fertilization, in *Advances in assisted reproductive technologies*, S. Mashach, et al., Editors. 1990, Plenum Press: New York. P 17
4. **Scott, RJ.:** Evaluation and treatment of low responders. *Semin Reprod Endocrinol*, 1996. 14: 317-337.
5. **Faber B, et al.:** Cessation of gonadotropin-releasing hormone agonist therapy combined with high-dose gonadotropin stimulation yields favourable pregnancy results in low responders. *Fertil Steril*, 1998; 69 : 826-830.
6. **Barri, P, et al.:** Managing nonresponders, in *Fertility and Reproductive medicine*, R. Kempers, et al, Editors. 1998, Elsevier Science BV: Amsterdam. 127-137.

7. **Bancsi LF, BF, Bijkemans MJ, de Jong FH, Habbema JD, te Velde ER.:** Predictors of poor ovarian response in invitro fertilization: a prospective study comparing basal markers of ovarian reserve. *Fertil Steril* 2002; 77 : 328-36
8. **Evers J, Slaats P, Land JA, Dumoulin JC, Dunselman GA.:** Elevated levels of basal estradiol-17beta predict poor response in patients with normal basal levels of follicle-stimulating hormone undergoing in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1998; 69 (6): 1010-4.
9. **Seifer D, Lambert-Masserlian B, Hogan JW, Gariner AC, Blazar AS.:** Day 3 serum inhibin-B is predictive of assisted reproductive technologies outcome. *Fertil Steril* 1997; 67: 110-14.
10. **Fawzy M LA, Harrison RF, Knight PG, Groome N, Hennelly B, Robertson WR.:** Day 5 inhibin-B levels in a treatment cycle are predictive of IVF outcome. *Human Reprod* 2002; 17 (6): 1535-43.
11. **Wheatcroft NJ, Rogers CA, Metcalfe RA, et al.:** Is subclinical ovarian failure an autoimmune disease? *Human Reprod* 1997; 12:244-9.
12. **Matt DW, Kauma SW, Pincus SM, et al.:** Characteristics of luteinizing hormone secretion in younger versus older premenopausal women. *Am J Obstet Gynecol* 1998; 178: 504-510.
13. **Pellicer A, Marí M, De los Santos MJ, et al.:** Effects of aging on the human ovary: the secretion of immunoreactive alfa-inhibin and progesterone. *Fertil Steril* 1994; 61:663-8.
14. **Cano F, Simón C, Remohí J, et al.:** Effect of aging on the female reproductive system: evidence for the role of uterine senescent in the decline in female fecundity. *Fertil Steril*, 1995 ; 64 : 584-89.
15. **Remohí J, Gartner B, Gallardo E, et al.:** Pregnancy and birth rates after oocyte donation. *Fertil Steril* 1997 ; 67:717-723.
16. **Cameron, I, et al.:** Occult ovarian failure: a syndrome of infertility, regular menses and elevated follicle stimulating hormone concentrations. *J Clin Endocrinol Metab*, 1988 ; 67:1190-4.
17. **Van Wely M, Westergaard L, Bossuyt P, Van der Veen F.:** Human menopausal gonadotropin versus recombinant follicle stimulation hormone for ovarian stimulation in assisted reproductive cycles. 2003.
18. **Olivennes F, Mannaerts B, Struijs M, Bonduelle M, Devroey P.:** Perinatal outcome of pregnancy after GnRH antagonist (ganirelix) treatment during ovarian stimulation for conventional IVF or ICSI: a preliminary report. *Hum Reprod*. 2001 ; 16:1588 - 91.
19. **Acevedo B, Sánchez M, Gómez JL, Cuadros J, Ricciarelli E, Hernández ER.:** Luteinizing hormone supplementation increases pregnancy rates in gonadotropin-releasing hormone antagonist donor cycles. *Fertil Steril* 2004; 82:343-7.
20. **Surrey E, Schoolcraft B.:** Evaluating strategies for improving ovarian response of the poor responder undergoing assisted reproductive techniques. *Fertil Steril*. 2000;73:667-76.
21. **Weil S, Vendola K, Zhou J, Bondy CA.:** Androgen and follicle-stimulating hormone interactions in primate ovarian follicle development. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84 (8): 2951-6.
22. **Romeu, M.:** El fallo ovárico oculto y su importancia en reproducción asistida, *Pediatría, Obstetricia y Ginecología*. 2000: p 134.
23. **Engel JB, Griesinger G, Schultze-Mosgau A, Felberbaum R, Diedrich K.:** GnRH agonists as antagonists in assisted reproduction: pregnancy rate. *Reprod Biomed Online*. 2006 Jul;13(1): 84-7.
24. **De Placido et al.:** Gonadotropin-releasing hormone (GnRH) antagonist plus recombinant luteinizing hormone vs. a standard GnRH agonist short protocol in patients at risk for poor ovarian response. *Fertil Steril*. 2006; 85: 247-250.
25. **Marin M, Rubio JM, Sánchez M, Urgal A, Monzó A, Romeu A.:** Tratamiento de pacientes con pronóstico de baja respuesta: comparación de dos protocolos de supresión hipofisaria. *Revista Iberoamericana de fertilidad*. 2005; 22: 123-130.
26. **Cedrin-Durnerin I, Grange-Dujardin D, Laffy A, et al.:** Recombinant human LH supplementation during GnRH antagonist administration in IVF/ICSI cycles: a prospective randomized study. *Human Reprod*; 19:1979-84 [Epub 2004 Jun 10].
27. **Chung et al.:** Evaluating the role of exogenous luteinizing hormone in poor responders undergoing in vitro fertilization with gonadotropin-releasing hormone antagonists. *Fertil Steril* 2005; 84:313-8.