



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE MEDICINA

**DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN
INSTITUTO DE SEGURIDAD SOCIAL DE LOS TRABAJADORES DEL
ESTADO
CENTRO MEDICO NACIONAL “20 DE NOVIEMBRE”
BIOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN HUMANA**

**“CARACTERÍSTICAS OVOCITARIAS Y
EMBRIONARIAS EN CICLOS DE
FERTILIZACIÓN IN VITRO CON DISPARO
CON AGONISTAS DE LA GnRH ”**

TESIS

**PARA OBTENER EL TITULO DE ESPECIALISTA EN
BIOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN HUMANA**

P R E S E N T A:

DRA. MARÍA FABIOLA SÁNCHEZ NAVA

ASESOR:

DR. JESUS DANIEL MORENO GARCIA



MEXICO, D.F. AGOSTO 2014.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



“CARACTERÍSTICAS OVOCITARIAS Y EMBRIONARIAS EN CICLOS DE FERTILIZACIÓN IN VITRO CON DISPARO CON AGONISTAS DE LA GnRH”

TESIS

PARA OBTENER EL TITULO DE ESPECIALISTA EN BIOLOGIA DE LA REPRODUCCION HUMANA

DRA. AURA ERAZO VALLE SOLIS.
Subdirector de Enseñanza Médica

DR. JESUS DANIEL MORENO GARCIA
Profesor Titular del Curso de Especialidad
Biología de la Reproducción Humana
Asesor de Tesis

DRA. MARÍA FABIOLA SÁNCHEZ NAVA
Autor de Tesis



AGRADECIMIENTOS

A Dios por darme vida para continuar mi camino y desarrollo profesional.

A mis padres y hermanos por su amor, paciencia y apoyo a lo largo de 2 años más de preparación profesional.

INDICE GENERAL

1. Marco Teórico
2. Justificación
3. Planteamiento del Problema
4. Objetivos
5. Material y Métodos
6. Diseño del estudio
7. Aspectos éticos
8. Resultados
9. Discusión
10. Conclusiones
11. Referencias bibliográficas

1. MARCO TEÓRICO

La gonadotropina coriónica humana (hCG) se utiliza por lo general para la maduración final del ovocito después de una estimulación ovárica controlada, sin embargo el uso de ésta puede precipitar el desarrollo de un síndrome de hiperestimulación ovárica en pacientes con riesgo de tenerlo. (5)

Varios estudios muestran que el uso de agonistas de la GnRH inducen un pico de LH endógena y la subsecuente madurez ovocitaria. Se ha propuesto que la vida media de la LH es más corta con la administración de agonistas de la GnRH en comparación a la hCG y la subsecuente supresión hipofisiaria resultando en una rápida, completa e irreversible luteólisis, condicionando a la fase lútea deficiente. Comparando la LH con la hCG ésta tiene una vida media mucho más larga y puede teóricamente causar sobre luteinización de los ovocitos capturados afectando la calidad de éstos y la calidad embrionaria. (2,3)

Otros estudios demuestran que la fase lútea deficiente dependerá de la concentración de esteroides séricos posterior al disparo con agonistas de la GnRH, provocando así una disminución en la tasa de implantación, es por eso que se han propuesto alternativas como la administración concomitante de hCG a las 35 horas antes de la aplicación del agonista para mejorar la fase lútea ya que las células de la granulosa y de la teca responden a la administración de hCG exógena y al igual que los agonistas tienen la capacidad de secretar esteroides sexuales así como mejorar receptividad endometrial; pero aún no hay evidencia que sustente que efectivamente esto suplantaré la deficiencia lútea por supresión hipofisiaria del uso de los agonistas. (2)

Sin embargo en un estudio realizado in vitro en donde se asilaron células de la granulosa/teca de pacientes disparadas con agonistas de la GnRH se observó que éstas tienen la misma viabilidad y capacidad de secretar progesterona que la de las pacientes a las cuales se les administró hCG. Es por eso que la fase lútea deficiente no se debe considerar una alteración fundamental de las células de la

granulosa/teca pero si puede ser resultado de una exposición menor de los factores estimulantes de la esteroidogénesis por la vida media más corta de la LH al usarse agonistas de la GnRH. Al ser las células de la granulosa/teca susceptibles, viables y capaces de responder a la administración de hCG después del disparo con agonista para favorecer la esteroidogénesis se considera una alternativa un doble disparo para obtener una mejor fase lútea. (2)

Se han propuesto otros mecanismos potenciales sobre en endometrio con el uso de agonistas. El efecto directo en el endometrio es plausible, debido a que en éste se encuentran receptores de GnRH obteniendo buenas tasas de embarazo, en conjunto con un soporte lúteo agresivo para mantener la progesterona en niveles séricos >20 pg/ml y el uso de parches de estrógenos para mantener los niveles de estradiol >200 pg/ml, lográndose tasas de embarazo del 36% y de embarazo en curso del 53.3% similares a las del disparo con hCG. (1)

La fase lútea es necesaria para sustentar un embarazo en ciclos de estimulación ovárica controlada con una adecuada función del cuerpo lúteo. La tasa de embarazo disminuye y los abortos resultan cuando no se lleva a cabo bien esta fase, es por eso que con el uso de agonistas de la GnRH la fase lútea se soporta de manera más agresiva. (4)

Otros estudios han revelado una ligera reducción de la producción y madurez ovocitaria cuando se midieron los niveles séricos de LH a las 12 horas del disparo con agonista de la GnRH ya que la vida media de esta gonadotropina hipofisiaria es corta y estos fueron menores de 52 UI/L y se presentó una dramática reducción en producción y madurez ovocitaria cuando los niveles séricos fueron menores de 12 UI/L. Se han utilizado criterios para definir un pico bajo de LH, $<$ de 12UI/L, ofreciéndonos un 50% de sensibilidad y 97% de especificidad para predecir un desarrollo folicular pobre. Y una LH $<$ 50.5 UI/L alcanza una sensibilidad del 100% en cuanto al desarrollo folicular y madurez pero con especificidad 54%. Por lo que se determinó que con valores $<$ 33.6 UI/L de LH hubo el desarrollo folicular más

bajo e inmadurez, con valores de 33.6-52 UI/L y 52.1- 78.2 UI/L y más de 78 UI/L de LH, no hubo significancia estadística en cuanto a desarrollo y madurez ovocitaria llegando al punto de corte de 52 UI/L, pero si se observó que con valores <50.2 UI/L, si es un predictor de un bajo desarrollo folicular y madurez. (5) En los ciclos de estimulación en donde se presenten niveles séricos de LH <52UI/L serán ciclos subóptimos e incrementan el riesgo de presentar una madurez insuficiente y menos recuperación de ovocitos al momento de la captura, mientras que con niveles <12UI/L que claramente son inadecuados se asociación a una dramática baja de ambos aspectos. (5)

Finalmente los meta-análisis de la Cochrane no recomiendan el uso de disparo con agonistas de la GnRH en ciclos de FIV en fresco para la maduración final ovocitaria debido a que tiene asociación a una disminución de la tasa de nacidos vivos, embarazos en curso (> 12SDG) y abortos tempranos (<12 SDG). No se ha identificado la dosis adecuada para un soporte de fase lútea para evitar estos riesgos. Y recomiendan que la indicación del uso de agonistas de la GnRH sea en ciclos con riesgo de presentar síndrome de hiperestimulación ovárica o en ciclos de descongelados y preparación endometrial ya que de estos se presentó una mayor tasa de embarazos. (6)

2. JUSTIFICACIÓN

La madurez ovocitaria es primordial para obtener resultados favorables en pacientes sometidas a técnicas de reproducción asistida, dado que de ésta se desprenden una mejor tasa de fertilización y por consiguiente la tasa de embarazo; es por eso que se han buscado diferentes fármacos que ayuden a esta madurez final de los gametos femeninos, de tal manera que el uso del disparo con agonistas de la GnRH se ha propuesto como alternativa al uso de gonadotropina coriónica, pero se desconocen cómo se comportan los ovocitos y los embriones al emplearlos.

En este estudio se revisarán los expedientes de las pacientes en las que se haya utilizado el disparo con agonista de GnRH, para conocer las características a nivel ovocitario y embrionario.

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La madurez ovocitaria final depende de varios factores tales como el ciclo de estimulación y el pico de hormona luteinizante (LH), se han usado varios fármacos para inducir dicho fenómeno como el uso de coriogonadotropina humana y el uso de agonistas de la GnRH. El uso de agonistas de la GnRH no está ampliamente recomendado y se utiliza principalmente en casos de pacientes con riesgo de hiperestimulación. Sin embargo se desconocen las características de los ciclos en los que se usa análogo de GnRH.

En este estudio nos proponemos describir las características ovocitarias y embrionarias de los ciclos de fertilización in vitro (FIV) que se han llevado a cabo con agonistas de la GnRH en el Servicio de Reproducción Humana del CMN "20 de Noviembre", ISSSTE.

4. OBJETIVO GENERAL

Describir las características ovocitarias y embrionarias de las pacientes sometidas a ciclos de FIV en los que se utilizó un agonista de la GnRH para el disparo.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Obtener las características por factores de las pacientes estudiadas.
- Obtener las características del tipo de estimulación y la respuesta a ésta de las pacientes estudiadas.
- Obtener las características ovocitarias posterior al disparo con agonistas de la GnRH.
- Obtener la información embrionaria en relación a tasa de fertilización, número de embriones y calidad embrionaria.

- Obtener información con respecto a tasas de embarazo en ciclos que se realizó transferencia

5. MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizara un muestreo por conveniencia de los ciclos de fertilización in vitro en las que se uso de antagonistas de la GnRH al momento del disparo en el período comprendido del 2012 al 2014 en el Servicio de Reproducción Humana del Centro Médico Nacional 20 Noviembre.

Se realizó la base de datos en una hoja de Excel, en donde se revisó el ciclo de estimulación, el disparo con agonistas de la GnRH y la captura ovular, se hizo la separación de los ovocitos obtenidos en metafase I y metafase II, folículos vistos por ultrasonografía mayores de 14mm, ovocitos capturados, ovocitos fertilizados y embriones en día 3. Los resultados se procesaron con medidas de tendencia central y sus promedios para los casos estudiados, utilizando Excel 2010 y Prisma 5.

6. DISEÑO DEL ESTUDIO

- Transversa, retrospectivo y descriptivo.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN:

- Pacientes sometidas a ciclos de fertilización in vitro en las que se utilizó un agonista de la GnRH para el disparo.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN:

- No aplica

CRITERIOS DE ELIMINACIÓN:

- Pacientes que no cuenten con la información requerida en el expediente clínico.

VARIABLES ESTUDIADAS:

Variable	Categoría	Unidad de medida
Ovocito	Cualitativa, nominal.	Metafase I Metafase II Vesícula germinal
Embrión	Cualitativa, nominal	Calidad embrionaria con escala del 1 al 4.
Tasa de fertilización	Cuantitativa	Porcentaje
Número de folículos	Cuantitativa	Promedio
Número de ovocitos	Cuantitativa	Promedio
Tasa de embarazo	Cuantitativa	Porcentaje
Ciclo de estimulación	Cualitativa, nominal	Largo convencional, mínima estimulación y convencional
Transferencia embrionaria	Cualitativa, nominal	Tipo 1 Tipo 4

7. ASPECTOS ETICOS

En relación a las implicaciones de éticas, este es un estudio retrospectivo que evalúa uno de los procedimientos que se utiliza como práctica clínica en el Servicio de Reproducción Humana.

En lo que respecta a la seguridad del empleo del acetato de leuprolide, el uso de análogos de GnRH se considera una práctica segura para la maduración final ovocitaria, ofreciendo un menor riesgo de presentar un síndrome de hiperestimulación ovárica cuando emplea en lugar de la gonadotropina coriónica humana. El Síndrome de Hiperestimulación ovárica puede ir desde un 3% a un 30% dependiendo el tipo de pacientes. Por lo que las pacientes en quienes se

empleó el leuprolide que su información será empleada para el presente estudio no estuvieron en ningún riesgo por el empleo de leuprolide para el disparo de la maduración ovocitaria. Por lo anterior comentado se pretende valorar introducirse al manual de procedimientos del servicio.

Los ovocitos no fertilizados siguen su proceso de degeneración natural y como todo material biológico son manejados de acuerdo a la NOM-087-ECOL-SSA1-2002.

Esta investigación cumple con los requisitos del apartado 7 para protocolos de investigación en el servicio de reproducción humana de acuerdo al manual de procedimientos.

8. RESULTADOS

Se revisaron 21 expedientes de las pacientes sometidas a ciclo de Fertilización in vitro durante el período de estudio. Se seleccionaron 19 pacientes que se sometieron a estimulación ovárica con esquema convencional y mínima.

Los resultados obtenidos en los ciclos de estimulación ovárica y disparo con agonistas de la GnRH para fertilización in vitro, demostraron que el promedio de folículos mayores de 14 mm durante el seguimiento folicular fue de 21.81, con una media de 11.94 folículos y una mediana de 7.5 folículos. El promedio de ovocitos capturados de 20.16, con una media de 11.44 y una mediana de 8.5. Respecto a los ovocitos en metafase 1, se observaron en promedio 7.27, con una media de 3.77 y una mediana de 2.5. El promedio de ovocitos metafase 2 fue de 13.52, con una media de 7.61 y una mediana de 6. Se evaluó el número de embriones en día 3, con un promedio de 13.05, una media de 6.72 y una mediana de 5.5. El promedio de ovocitos fertilizados fue de 13.08, con una media de 7.33 y una mediana de 5. La tasa de fertilización promedio fue de 58.44, con una media de 59.38 y una mediana de 65.71. La tasa de embarazo total fue de 38.8% (Tabla 1).

	PROMEDIO	DESVIACION ESTANDAR	MEDIA	MODA	MEDIANA	ERROR ESTANDAR
FOLICULOS	21.81	11.9	11.94	12	7.5	2.80
OVOCITOS CAPTURADOS	20.16	9.59	11.44	5	8.5	2.26
OVOCITOS METAFASE 1	7.27	3.65	3.77	1	2.5	0.86
OVOCITOS METAFSE 2	13.52	6.44	7.61	4	6	1.51
EMBRIONES DIA 3	13.05	6.13	6.72	5	5.5	1.44
OVOCITOS FERTILIZADOS	13.08	6.55	7.33	5	5.0	1.54
TASA DE FERTILIZACION	58.44	35.41	59.38	100	65.71	8.34
TASA DE EMBARAZO	38.8%					

Tabla 1. Resultados de promedio, desviación estándar, moda, media, mediana y tasas de fertilización y tasa de embarazo.

9. DISCUSIÓN

La madurez ovocitaria final depende de varios factores tales como el ciclo de estimulación ovárica y el pico de LH; el cual se observa al momento del disparo con agonistas de la GnRH. El esquema de estimulación ovárica con gonadotropinas y disparo con agonista de la GnRH, es adecuado porque el pico de LH que produce suele ser más parecido al fisiológico induciendo un efecto de flare-up posterior al tratamiento. A diferencia del disparo con hCG, que posee una vida media más larga que puede causar una sobre luteinización de los folículos reclutados y afectar la calidad ovocitaria y embrionaria.

Los parámetros a medir en este estudio incluyeron el número de folículos con un diámetro mayor a 14 mm, número de ovocitos capturados, número de ovocitos en metafase 1 y 2, número de embriones en día 3, ovocitos fertilizados, tasa de fertilización y tasa de embarazo.

Está bien establecido que el número de folículos desarrollados depende del tipo de estimulación ovárica, la dosis utilizada, la reserva ovárica que está relacionada directamente con la edad de la paciente, el índice de masa corporal entre otros factores, y no necesariamente del fármaco utilizado durante el disparo. En este estudio el número de folículos observados por ultrasonografía con un diámetro mayor a 14 mm corresponde a lo previamente reportado.

Generalmente el número de ovocitos capturados tiene una relación con el tipo de disparo, ya que el estímulo hipofisiario desencadenado por el agonista contribuye a la maduración final del ovocito. Sin embargo, no todos los ovocitos capturados tendrán el mismo nivel de desarrollo, como se demostró al evaluar el número de ovocitos en metafase 1 y 2. Se observó que el promedio y la media de ovocitos en metafase 2 duplican a lo observado en metafase 1. Esto se debe a que el pico de LH registrado después del disparo activa la maduración final del ovocito y su división meiótica. La mayor recuperación de ovocitos en metafase 2, tiene un papel crucial en las tasas de fertilización y el subsecuente desarrollo embrionario en cualquier estadio.

En este estudio reportamos que la tasa de ovocitos fertilizados es similar al número de ovocitos en metafase 2, lo cual indica que todos ellos tienen una probabilidad muy elevada de llegar a un estadio de desarrollo embrionario más avanzado. Esto es importante porque un número elevado de embriones fertilizados y con un adecuado desarrollo permite criopreservarlos para futuros ciclos de preparación endometrial. Por otro lado, los valores estadísticos para los embriones obtenidos en día 3 demuestran que son similares a los descritos para

los ovocitos fertilizados, lo que sugiere que la fecundación de los gametos está a en relación directa con su madurez.

En el grupo tratado con agonistas de la GnRH la tasa de fertilización fue del 58.4 y la tasa de embarazo de fue del 38.8%. De acuerdo a los resultados, los valores de desviación y error estándar observados fueron elevados, lo cual sugiere que los datos presentan una distribución diversa y es necesario aumentar el tamaño de la muestra para una futura investigación, principalmente al realizar un estudio comparativo.

10. CONCLUSIONES

La administración de agonistas de la GnRH durante la estimulación ovárica para ciclos de fertilización in vitro es una alternativa que permite la maduración folicular en su etapa final. Las características ovocitarias y embrionarias son fundamentales para predecir el éxito reproductivo durante el tratamiento con técnicas de reproducción asistida. Sin embargo, los parámetros observados en este estudio sugieren la necesidad de realizar una comparación entre los diferentes esquemas de disparo con sus resultados y así ofrecer una estrategia integral que mejore las tasas de embarazo.

11. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Engmann L, Benadiva C. Agonist trigger: what is the best approach? Agonist trigger with aggressive luteal support. *Fertile Steril* 2011; 97:531-33.
2. Engmann L, Romak J, Nulsen J, Benadiva C. In vitro viability and secretory capacity of human luteinized granulosa cells after gonadotropin-releasing hormone agonist trigger of oocyte maturation. *Fertil Steril* 2011;96:198-202.
3. Erb TM, Vitek W, Wakim A. Gonadotropin-releasing hormone agonist or human chorionic gonadotropin for final oocyte maturation in an oocyte donor program. *Fertil Steril* 2010; 93: 374-78.
4. Shapiro BS, Daneshmand ST, Garner FC, Aguirre M, Hudson C. Comparison of triggers using leuprolide acetate alone or in combination with low-dose human chorionic gonadotropin. *Fertil Steril*, 2011;95: 2715-17.
5. Shapiro BS, Daneshmand ST, Restrepo H, Garner FC, Aguirre M. Efficacy of induced luteinizing hormone surge after “trigger” with gonadotropin-releasing hormone agonist. *Fertil Steril* 2011;95: 826-28.
6. Youseff M, Van der Venn F, Al-Inany HG, Griesinger G, Mochtar M, Aboufoutouch I, Khattab SM, Van Wely M. Gonadotropin-releasing hormone agonist versus hCG for oocyte triggering in antagonist assisted reproductive technologies cycles. *Cochrane Collaboration* 2014; 1-23.