

Manejo actual de los protocolos de hiperestimulación ovárica controlada en FIV

Sergio Oehninger

From The Jones Institute for Reproductive Medicine, Department of Obstetrics and Gynecology, Eastern Virginia Medical School, Norfolk, Virginia, USA.

Reproducción 2010;25:3-13

Resumen

El objetivo de este manuscrito es examinar críticamente los protocolos usados actualmente para la Hiperestimulación Ovárica Controlada (HOC) en FIV. A pesar de las continuas mejoras en los resultados del FIV, aún existen muchas controversias en relación a la selección de la preparación de gonadotrofinas, la elección de la terapia adyuvante con análogos de GnRH, el uso de píldoras anticonceptivas y la necesidad de suplementación con LH. Las pacientes identificadas como respondedoras intermedias tienen resultados excelentes con terapia adyuvante, ya sea con agonistas de GnRH (protocolo largo) o un antagonista de GnRH, pero para llegar a resultados óptimos debemos ajustar, cual traje, la dosis de gonadotrofinas. Las altas respondedoras responden favorablemente a una estimulación más suave que minimiza la ocurrencia del síndrome de hiperestimulación ovárica (SHEO). En el otro extremo, los resultados de las pobres respondedoras permanecen sub-óptimos, a pesar de la variedad de regímenes de estímulo usados. En conclusión, hay una variedad de regímenes de HOC eficaces, pero la individualización del manejo es esencial y depende de la correcta determinación de la reserva ovárica.

Introducción

Hace ya 30 años del nacimiento de Louise Brown en Oldham, Inglaterra, y 26 del nacimiento de Elizabeth Carr en Norfolk, USA; los dos primeros bebés nacidos en Europa y USA, respectivamente. Los cálculos actuales indican

que el nacimiento de más de dos millones de bebés es resultado del FIV en todo el mundo. Aunque el campo sigue evolucionando muy rápidamente, los endocrinólogos reproductivos aún enfrentan dos dilemas mayores: el primero es seguir aumentando las tasas de embarazo, dado que aproximadamente sólo una de cada tres transferencias embrionarias resulta en un nacimiento, y aproximadamente sólo el 20-30% de los embriones transferidos se implantan;¹ y el segundo, disminuir o eliminar los embarazos múltiples que resultan en severas complicaciones obstétricas y perinatales, y aumentan marcadamente la relación costo-eficiencia del tratamiento. La Hiperestimulación Ovárica Controlada (HOC) es el paso principal en el tratamiento de FIV. El objetivo de esta revisión fue evaluar críticamente los actuales protocolos de HOC usados en reproducción asistida.

Manejo global de la HOC para FIV

Cuatro conceptos son cruciales para un manejo clínico optimizado de la HOC para FIV.² Estos son: a) la identificación prospectiva de la respuesta ovárica; b) la individualización de la HOC de manera que esté individualizada para la recuperación de una cohorte sincrónica de ovocitos maduros; c) la prevención de complicaciones potenciales; y d) la optimización del potencial reproductivo total mediante el uso de la tecnología de criopreservación de embriones.

a) Identificación prospectiva de la respuesta ovárica: determinación de la reserva ovárica

Georgeanna Jones y col fueron pioneros en el uso de gonadotrofinas para la HOC en trata-

Correspondencia: Sergio Oehninger
E-mail: OehninSC@EVMS.edu

mientos de FIV.³ Tempranamente se reconoció que las mujeres que ciclaban normalmente, ovuladoras, a quienes se sometía a estimulación gonadotrófica, caían dentro de una de las tres categorías de respuesta, verbigratia, alta, intermedia o baja respondedora, y, más aún, que la respuesta de cada individuo era similar en ciclos subsiguientes de estimulación. La categoría de respuesta se basaba en la valoración de la curva de estradiol (E2), (patrón de E2), y la respuesta folicular acompañante consecuentemente monitoreada con ultrasonografía. Más aún, la categoría de respuesta de la paciente y el patrón de E2 se correspondían con la capacidad de lograr embarazo luego de FIV y transferencia de embriones. Dos décadas después, y luego de la introducción de preparaciones de gonadotrofinas mejoradas (urinaria, altamente purificada y luego recombinante) y el uso de terapias adyuvantes (agonistas y antagonistas de GnRH), estos conceptos permanecen intactos y siguen guiando el manejo clínico.

Es esencial identificar prospectivamente la respuesta ovárica de una paciente para optimizar el protocolo de HOC y disminuir el riesgo de complicaciones como cancelación debida a respuesta inadecuada o contrariamente, y el desarrollo del potencialmente dramático síndrome de hiperestimulación ovárica (SHEO). La respuesta ovárica y el potencial de embarazo en un ciclo de FIV pueden determinarse con alta precisión calculando la reserva ovárica.

Muasher y col⁴ fueron los primeros en informar que la medición de los niveles séricos de FSH, LH y E2 basal en el día 3 del ciclo era predictor de la respuesta a la HOC y el resultado de la FIV. Estudios subsiguientes establecieron el significado clínico de umbrales definidos para estas hormonas combinadas con edad de la mujer, definiendo por lo tanto más específicamente el concepto de reserva ovárica.^{5,6} De allí en más, se introdujeron muchos otros *tests* como candidatos para la evaluación de la reserva ovárica (RO). Tales *test* incluyen: la prueba de desafío con citrato de clomifeno (CCCT), el *test* de GnRH, el de agonistas de GnRH, medición de inhibina B sérica y hormona anti-Mülleriana, y la evaluación ultrasonográfica del volumen ovárico en el ciclo basal, el conteo de folículos antrales (CFA) y el flujo sanguíneo ovárico. Los resultados de valor

predictivo de los *test* individuales o combinados, son, sin embargo, controvertidos.⁷

Estudios recientes concluyen que la hormona anti-Mülleriana (HAM) predice la respuesta ovárica a la HOC con alta sensibilidad y especificidad;⁸ sin embargo, se necesitan más estudios para determinar el valor pronóstico de esta medición para otros resultados clínicos. En nuestro programa, la determinación basal a día 3 de los niveles de FSH, LH y E2, junto a una cuidadosa valoración del CFA, constituye el *test* preferido de detección de la RO en todas las pacientes.

b) Individualización del tratamiento

Los conceptos de manejo general que se aplican en nuestro programa son: a) imitar la fisiología, de manera que una dosis mayor de FSH se administra en la fase folicular temprana (durante la fase de reclutamiento folicular); b) el monitoreo frecuente de los niveles séricos de E2 y el desarrollo folicular por ultrasonido y la continuación de la estimulación usando un régimen de gonadotrofinas "de descenso" (*step down*), basado en el hecho de que los folículos co-dominantes seleccionados logran un grado relativo de independencia gonadotrófica y que el crecimiento se mantiene en base a las acciones del E2 y otros factores locales ováricos; c) administración de la descarga ovulatoria de hCG cuando los folículos dominantes alcanzan ≥ 17 mm de diámetro; y d) realizar la captura ovocitaria guiada por ultrasonografía transvaginal 34-35hs luego de la administración de hCG.

Hay sin embargo, excepciones al uso del protocolo *step down* de gonadotrofinas en FIV. Éstas incluyen: 1) casos atípicos que de manera inesperada no responden adecuadamente a las dosis de gonadotrofinas inicialmente elegidas durante la fase folicular temprana, pero que progresan adecuadamente luego de un aumento en la dosis de las mismas. Hemos observado casos como éstos asociados a un grado inesperadamente elevado de supresión en ciclos con agonistas de GnRH o que reciben anti-conceptivos orales (ACO); y 2) casos en los que se usa un antagonista de GnRH y que necesitan apoyo gonadotrófico mantenido al inicio de la administración del mismo.

c) Prevención de complicaciones potenciales

El síndrome de hiperestimulación ovárica

(SHEO) es una condición iatrogénica potencialmente letal caracterizada por una permeabilidad capilar aumentada y el paso del fluido intravascular a los espacios extravasculares que puede llevar a hemoconcentración, desórdenes de coagulación y embolismo pulmonar. Su incidencia se ha calculado entre 0.6 a 14% en ciclos de Técnicas de Reproducción Asistida TRA.⁹ La posible identificación de las pacientes en riesgo es esencial para prevenir o minimizar el desarrollo del síndrome completo.

Los niveles elevados de E2 al momento de la administración de GnRH y la liberación de ciertas citoquinas probablemente estén involucrados en la patogénesis del SHEO.⁹ Las características comunes a los casos con propensión a desarrollar SHEO incluyen mujeres jóvenes (<35 años), masa corporal magra y/o la presencia de SOP u ovarios de tipo SOP. Calcular cuidadosamente la dosis inicial de gonadotrofinas es crucial para prevenir el SHEO, pero intentando recuperar una cohorte aceptable de ovocitos maduros. Los niveles críticos de E2 que disparan el síndrome aún son debatidos y difieren entre TRA (>4000pg/ml) y métodos convencionales de inducción de la ovulación (>1700pg/ml), posiblemente como reflejo de los antecedentes fisiológicos de la paciente y el tratamiento previo de supresión ovárica.

Dado que la hCG es el único factor conocido de disparo para el SHEO, retirar las gonadotrofinas y posponer la aplicación de hCG (*coasting*) ha sido el método de elección para reducir el riesgo en aquellas pacientes con valores de E2 por arriba de ciertos valores críticos. El concepto de detener las gonadotrofinas antes de la aplicación de hCG fue presentado inicialmente por Jones y col³ en un esfuerzo por investigar el efecto del intervalo FSH/hMG/hCG en los resultados de embarazo. Un informe reciente de la biblioteca Cochrane indicó que aún no hay evidencia suficiente para determinar si el *coasting* era una estrategia efectiva para evitar el SHEO.¹⁰ Sin embargo, se ha sugerido que cuando se lo usa para prevención del SHEO, el período de *coasting* tendría que tener una duración de <4 días para lograr resultados óptimos de embarazo. Otra alternativa es la sustitución de la hCG por compuestos de acción más corta como los agonistas de GnRH (revisto en 2). También se ha propuesto como opción la

criopreservación de todos los embriones, aunque se han publicado resultados controvertidos acerca de sus resultados y su relación costo-efectividad.

Los embarazos múltiples (EM) tienen mortalidad y morbilidad perinatal significativamente más alta que los nacimientos únicos; consecuentemente los embarazos múltiples deberían ser vistos como la otra complicación mayor de la HOC y las TRA. También se agrega un impacto económico significativo asociado a estos embarazos. Aunque se han hecho esfuerzos para reducir los EM en el entorno clínico del FIV, su ocurrencia sigue siendo elevada. La incidencia de EM puede reducirse o eliminarse a través de dos estrategias. En primer lugar, disminuyendo el número de embriones transferidos. Esto requiere un exhaustivo trabajo para mejorar las condiciones de cultivo y el desarrollo de métodos no invasivos para optimizar la selección de los embriones más viables con mayor potencial de implantación. La transferencia de un solo embrión en poblaciones seleccionadas resultó en tasas aceptables de embarazo y se está popularizando especialmente en Europa, pero su frecuencia también está aumentando en EE.UU.¹ En segundo lugar, aumentando la eficacia de la implantación. Esto debería originarse en la identificación de los factores embrionarios y endometriales que establecen y regulan la ventana de implantación.¹²

d) Optimización del potencial reproductivo total a través del uso de la técnica de criopreservación embrionaria

La criopreservación embrionaria representa otro logro notable en las TRA. Ofrece múltiples ventajas, que incluyen: 1) la posibilidad de inseminar todos los ovocitos maduros recuperados sin necesidad de descartar embrión alguno; 2) limita el número de embriones transferidos para reducir la incidencia de EM; 3) aumenta las posibilidades de una pareja de lograr embarazo al permitir múltiples transferencias que se originan de un solo ciclo de estimulación (optimizando, por lo tanto, su potencial reproductivo total); 4) ayuda en el manejo clínico del SHEO; y 5) provee de medios éticamente válidos para la evaluación de protocolos alternativos de investigación.

En nuestra institución realizamos criopreservación de embriones en diferentes etapas de su de-

sarrollo, que incluyen el estadio de ovocito pronucleado, clivado y blastocisto. Las técnicas de congelamiento-descongelamiento, el monitoreo del ciclo y los protocolos programados (suplementación con estrógenos/progesterona) se han publicado anteriormente con resultados clínicos aceptables. Cuando los embriones se congelaron en ciclos estimulados con gonadotropinas en combinación con agonistas o antagonistas de GnRH se obtuvieron resultados semejantes y no observamos impacto ni de las técnicas de micro-manipulación de ovocitos/embriones ni de los protocolos de transferencia en los resultados obtenidos.

El potencial reproductivo total es la verdadera expresión del potencial de embarazo luego de un único ciclo de estimulación.¹⁴ Se puede calcular utilizando un modelo que incluye el número de embarazos que surgen de la transferencia sólo de embriones frescos y el número de embarazos que se originan de la/s transferencia/s subsecuente/s de embriones criopreservados-descongelados. Esa es una tasa de embarazo verdaderamente paciente-específica que demuestra el rol del "crioaumento" en el potencial de embarazo global luego de un ciclo de FIV.

Preparaciones hormonales y regímenes alternativos

La manera ideal de comparar los resultados clínicos luego del uso de preparaciones de FSH recombinante (FSHr) es realizar ensayos prospectivos, randomizados, multicéntricos en grupos homogéneos de pacientes. Hay varios estudios en la literatura que satisfacen estos criterios (revisados en 2). No se ha demostrado de forma completa una diferencia entre la FSHr y la urinaria en lo que respecta a las tasas de embarazos evolutivos. Estos resultados conflictivos probablemente se deban a los principales defectos de las técnicas de metanálisis.

Los metanálisis más tempranos mostraron tasas de embarazo ligeramente mayores con FSHr en ciclos del FIV al compararlos con productos urinarios (reseñado en 2). Por el contrario, Agarwal y col no pudieron encontrar diferencias en su metanálisis.¹⁵ Más recientemente, van Wely y col informaron tasas de embarazo clínico mayores

con el uso de hMG comparado con FSHr;¹⁶ y Coomarasamy y col llevaron a cabo una revisión sistemática y un metanálisis de ensayos clínicos randomizados en los que se comparaba la efectividad de la hMG versus la FSHr luego de protocolo largo de *down-regulation* en ciclos de FIV-ICS, considerando el resultado primario el recién nacido vivo por mujer randomizada. Encontraron que la hMG se había asociado con un aumento agrupado del 4% en la tasa de nacidos vivos al compararla con FSHr.¹⁷

Luego de la identificación de los efectos de la LH durante la fase folicular de los ciclos estimulados¹⁸ y la presentación de la "hipótesis del efecto techo de la LH" por Hiller¹⁹ emergieron nuevos estudios clínicos re-evaluando el efecto de la LH en los protocolos de estimulación de la ovulación tanto en mujeres ovuladoras como anovuladoras. Se ha propuesto un "umbral" y un "techo" del valor de LH (ventana terapéutica) debajo del cual la producción de E2 no es adecuada y por arriba del cual la LH puede ser perjudicial para el desarrollo folicular. El rol de la LH exógena durante la estimulación ovárica en mujeres normogonadotróficas con o sin tratamiento con agonistas de GnRH ha sido tema de considerable debate. Hay controversia sobre la adición de LH a la FSHr para optimizar los resultados de la HOC.^{20,21}

Laml y col informaron el efecto beneficioso de la administración de LH recombinante (LHr) en mujeres con baja concentración de LH luego de la *down-regulation* en el ciclo cancelado y baja respuesta a los protocolos largos de agonistas de GnRH con FSH;²² estos resultados fueron apoyados por el estudio de De Placido y col.²³ Por el contrario, otros trabajos informaron efectos perjudiciales con la adición de LHr sobre el número de ovocitos metafase II recuperados (revisado en 2). Se necesitan aún más estudios para investigar el valor de la administración de LHr durante los estadios tardíos de la maduración folicular.

La relativamente reciente incorporación de los antagonistas de GnRH como adyuvantes de la HOC ha resultado ser una alternativa eficiente para el manejo de la HOC. Los antagonistas de GnRH causan una rápida disminución de la secreción de gonadotropinas y se usan ahora ampliamente para prevenir el aumento prematuro

de LH. Los antagonistas pueden ser usados tanto en una sola dosis alta (régimen fijo) o en regímenes de múltiples dosis bajas. Estos compuestos se inician típicamente al día 6 de la estimulación gonadotrófica (régimen fijo) o en el día en el que el folículo dominante alcanza un determinado tamaño (típicamente $\geq 14\text{mm}$), (régimen flexible).²⁴ Aunque Kolibianakis y col²⁵ informaron mayores tasas de implantación y embarazo con el régimen fijo, dos ensayos prospectivos randomizados recientemente publicados han hallado resultados similares al comparar ambos protocolos en lo que hace a ovocitos recuperados y tasas de embarazo clínico.^{26,27} El uso de la dosis diaria baja actualmente se prefiere al régimen de una única dosis alta.

En conjunto, los beneficios de los antagonistas de GnRH parecen incluir la simplificación del protocolo y el menor uso de ampollas de gonadotrofinas. Estudios multicéntricos, randomizados y prospectivos que comparan los tratamientos con agonistas y antagonistas encuentran que la duración de la estimulación y el número de ampollas de gonadotrofinas administradas fueron menores en el grupo de los antagonistas. Aunque las pacientes que recibieron antagonistas de GnRH tuvieron menor número de ovocitos y embriones, el porcentaje de ovocitos maduros y las tasas de fertilización fueron similares en ambos grupos. Sin embargo, en un metanálisis compuesto de cinco estudios controlados randomizados que compararon protocolos de agonistas de GnRH con antagonistas de GnRH en régimen fijo, Al-Inanay y Aboulgar informaron tasas de embarazo significativamente menores en el grupo de antagonistas de GnRH, a pesar de la transferencia de un número equivalente de embriones de buena calidad en ambos grupos.²⁴ La recuperación de un menor número de ovocitos con el uso de antagonistas podría comprometer el potencial reproductivo total, dado que habría menos embriones disponibles para criopreservación.

Se sabe que la estimulación ovárica para FIV afecta la función de la fase lútea. Han surgido dudas acerca del uso de análogos de GnRH, particularmente los antagonistas. Una reciente revisión de Cochrane²⁸ describió menores tasas de embarazo en mujeres tratadas con antagonistas de GnRH en comparación con las que usaron ago-

nistas, a pesar del hecho de que el antagonista sea un inhibidor más efectivo de la LH. El endometrio en ciclos de FIV está sujeto a un ambiente endocrinológicamente alterado (particularmente hiperestrogenismo secundario a la estimulación gonadotrófica, pero también a altos niveles de progesterona secundaria a la presencia de múltiples cuerpos lúteos funcionales y/o suplementación exógena). Además, hay un posible efecto directo de los análogos de GnRH sobre el endometrio. La pregunta que persiste es si las diferencias en la expresión de genes endometriales en ciclos de HOC con análogos de GnRH y gonadotrofinas previamente informadas, resultan en cambios endometriales que tengan un impacto funcional importante en la implantación embrionaria.^{12,29}

Estudios previos plantearon dudas sobre un efecto perjudicial de los agonistas de GnRH en el endometrio (efecto implantatorio negativo - anti-implantatorio). En ese aspecto, Klemmt y col³⁰ recientemente analizaron los efectos *in vitro* de los análogos de GnRH sobre el endometrio en decidualización (células estromales de tejido endometrial obtenido de mujeres fértiles durante la ventana de implantación) y la invasión del blastocisto. Las concentraciones de análogos usadas se basaban en las concentraciones séricas fisiológicas luego de la administración sistémica (de los análogos), mientras que el tiempo de incubación de 72hs se eligió para permitir la decidualización *in vitro*. Los autores demostraron que los análogos de GnRH no influenciaban la extensión de la decidualización de las células estromales *in vitro*. Además, no se observó efecto adverso de los análogos en la invasión del blastocisto. Concluyeron que los análogos de GnRH no afectan ni la capacidad del endometrio de aceptar la invasión ni el potencial invasivo del blastocisto en los estadios tempranos de la implantación. Estos resultados parecen concordar con las conclusiones de un muy reciente informe clínico que no mostró impacto sobre los embarazos luego del uso de antagonistas de GnRH durante la fase estrogénica en recipientes de huevos donados.³¹ Se necesitan más ensayos para clarificar este punto.

Recientemente, Sunkara y col llevaron a cabo una revisión sistemática de ensayos sobre esquema largo de agonistas, esquema corto de agonistas, regímenes de antagonistas, así como otros es-

quemadas de supresión hipofisaria en bajas respondedoras que iban a recibir tratamientos de FIV/ICSI (inyección intracitoplasmática de espermatozoides).³² El metanálisis de los resultados de los ensayos no mostró el beneficio sistemático de ninguno de los regímenes de supresión pituitaria sobre los demás en mejorar los resultados. La evidencia disponible actualmente no favorece ningún régimen de supresión pituitaria para mujeres con pobre respuesta ovárica que se van a someter a un tratamiento de FIV/ICSI.

También se ha demostrado que el uso de anti-conceptivos orales (ACO) en el ciclo previo podría aumentar las tasas de embarazo en FIV.³³ Dado que los ACO tienen un rol putativo en el aumento de la sensibilización de los receptores de estrógenos por su contenido estrogénico, además de ejercer supresión pituitaria, se han usado en combinación con agonistas de GnRH. También se utilizan en protocolos *micro-flare*, así como en ciclos con antagonistas. Sin embargo, se necesitan más ensayos prospectivos y randomizados para determinar qué paciente se beneficiará con el uso de qué protocolo.

Manejo de los protocolos de HOC de acuerdo a la respuesta ovárica individual predicha

Presentamos en esta sección los resultados de pacientes de FIV de nuestro centro, estimuladas con distintos protocolos de HOC en el período 2003-2008 (Tablas I y II). La distribución de las pacientes en los distintos grupos se realizó en forma no randomizada en función de la reserva ovárica. En este período se utilizaron el acetato de leuprolide y el Ganirelix como agonista y antagonista respectivamente. La gonadotropina de elección fue FSHr. Sin embargo, y de acuerdo a la historia de la paciente y la reserva ovárica, así como al resultado del monitoreo ovárico, en algunos protocolos se recurrió a hMG (urinaria altamente purificada) o a LHR. Para desencadenar la ovulación se utilizaron 10.000 UI de hCG o HCGr (0,250mg SC) y la fase lútea se suplementó con 600 mg diarios de progesterona micronizada por vía vaginal.

Las transferencias embrionarias se realizaron al 3^{er} día controladas por ecografía transabdominal, siendo la política de nuestro programa transferir 2 embriones a las mujeres de menos de 38

años y 3 sólo en aquellos casos de pacientes mayores o con ciclos fallidos previos. Esta conducta se basó en estudios nuestros previos que demostraron tanto en FIV y como en ovodonación, resultados similares en tasa de embarazo al transferir electivamente 2 embriones versus 3 y una reducción significativa de la multigemelaridad.³⁵

Tabla 1. Resultados de la estimulación de acuerdo al protocolo de HOC en respondedoras altas, intermedias y bajas. ACO/LL: superposición de ACO y agonistas protocolo largo (Lupron largo-fase lútea); LL: Lupron largo; SL: detención del Lupron; M-Flare: micro-flare Leuprolide; ANT: antagonista GnRH. Las pacientes fueron adjudicadas a los protocolos de forma no randomizada. N: número de pacientes; FSH (mUI/mL), LH (mUI/ml) y E2 (pg/ml) en día 3 del ciclo basal. N° de ovocitos maduros recuperados y número de embriones transferidos por transferencia.

	ALTAS	INTERMEDIAS	BAJAS		
	ACO/LL	LL	SL	M-FLARE	ANT
N (pacientes)	98	618	149	60	311
edad	32	32.6	36.6	40.2	36.4
FSH	5.1	5.4	6.7	8.9	7.5
LH	6.0	5.2	4.8	4.7	4.8
E2	44	43	47	48	45
N° ovo maduros	29.3	12.3	9.3	5.9	8.7
N° embr transf	2.3	2.3	2.6	2.5	2.5

Tabla 2. Resultados de fertilización y embarazo de acuerdo al protocolo de HOC en respondedoras altas, intermedias y bajas. Tasa de fertilización normal (diploide), tasa de embarazo clínico por transferencia (sacos gestacionales), tasa de implantación (número de embriones implantados/número de embriones transferidos), tasa de aborto, tasa de EM, y porcentaje de ciclos con criopreservación de embriones.

	ALTAS	INTERMEDIAS	BAJAS		
	ACO/LL	LL	SL	M-FLARE	ANT
T Fert (%)	72	71	69	63	70
Emb Clin (%)	46	42	28	11	22
T Implant (%)	26	25	14	4	11
T Aborto (%)	16	16	13	33	19
EM (%)	27	31	23	17	22
% ciclos crío	60	55	27	15	28

Manejo de las respondedoras intermedias

Este grupo (n=618) fue prospectivamente identificado por una relación FSH-LH normal, un volumen ovárico normal y un número adecuado de folículos antrales. En este grupo se eligió una combinación de agonista de GnRh (protocolo largo, LL o supresión lútea) y FSHr. El acetato de leuprolide subcutáneo se inició el día 21 del ciclo anterior a razón de 0.5 mg/día hasta la menstruación continuando con 0, 25 mg/día desde entonces. Al 3^{er} día del ciclo (luego de la inhibición con agonista de GnRH) se inició la FSHr a una dosis inicial de 225-300 UI/día. La dosis se ajustó en función de la respuesta individual con un protocolo *step-down* de acuerdo al crecimiento folicular por ecografía transvaginal y estradiol sérico.

Un pequeño grupo de respondedoras intermedias (45 ciclos) fue asignado a un protocolo diferente (no randomizado) de antagonistas de GnRH en régimen flexible. En estos casos las pacientes fueron pre-tratadas durante 3 semanas con anticonceptivos orales del día 1 a 21 del ciclo previo (etinil estradiol 0.30mg/desogestrel 0.15mg) seguido de menstruación e inicio del tratamiento con 225-300UI de FSHr al 3^{er} día. El antagonista (Ganirelix 0.250 mg /día) se aplicó cuando el folículo dominante llegó a 14 mm. La dosis de gonadotrofinas se mantuvo sin disminuirla durante los días en los que se administró GnRH. Los resultados de los grupos tratados con estos dos esquemas fue similar en respuesta, embarazo clínico (42%) y tasa de implantación (25%) y por esto se los evaluó en forma conjunta. El 55% de estos ciclos logró embriones extras que les permitió criopreservar.

Manejo de las alta respondedoras

Un grupo de altas respondedoras (n: 98) se identificó entre pacientes que presentaban SOP o un cuadro tipo SOP, por características como relación LH/FSH elevada o patrón ecográfico multifolicular. Fueron asignadas a un protocolo de ACO/agonistas de GnRH previo a la iniciación de las gonadotrofinas.³⁶ El ACO se administró desde el día 1 del ciclo precedente hasta el día 7 superpuesto al agonista GnRH por una semana (día 7 a 14) y luego se suspendió el ACO conti-

nuando con el agonista hasta confirmar supresión. Se inició acetato de leuprolide 0,5 mg/día y se disminuyó a 0,25 mg/día con la menstruación. Al 3^{er} día del período se inició la aplicación de 150UI de FSHr ajustándose la dosis de manera individualizada según esquema *step-down*. Como se desprende de las Tablas 1 y 2, las altas respondedoras asignadas al protocolo ACO/LL (superposición de ACO/Leuprolide lútea) lograron una tasa de embarazo clínico del 46% y de implantación del 26%. En el 60% de los ciclos se obtuvieron embriones extra para criopreservar. La tasa de aborto fue similar a la de las respondedoras intermedias.

Ha sido política de nuestro programa prevenir el potencialmente severo cuadro de SHEO identificando adecuadamente a las pacientes de riesgo y asignándolas a este régimen de estimulación más "suave". A pesar de esto, un subgrupo de pacientes puede de todas maneras desarrollar un número excesivo de folículos con niveles muy altos de E2. En esos casos se optó por: a) suspensión de la administración de gonadotrofinas (*coasting*), (cuando el E2 alcanzaba niveles cercanos a los 5000pg/ml); b) por disminuir a la mitad la dosis de hCG; o c) criopreservación de todos los embriones para evitar la transferencia en ese ciclo. En el período en estudio, la incidencia de SHEO en todos los ciclos fue 3% y en general casos leves o moderados de manejo ambulatorio, con recomendaciones de ingesta de fluidos y paracentesis temprana de ser necesario. En un solo caso severo se requirió internación, fluidos EV, paracentesis repetidas y aplicación de heparina por tromboembolismo pulmonar. La paciente se recuperó totalmente y dio a luz a mellizos sanos. En nuestra experiencia la criopreservación de todos los embriones en estadio pronucleado no elimina la posibilidad de SHEO, pero las posibilidades de embarazo son excelentes en transferencias subsiguientes de embriones congelados-descongelados.^{2,13}

Un ensayo randomizado controlado presentado recientemente sugiere que en las pacientes con SOP el uso de protocolos de estimulación con antagonistas en dosis flexibles logra similares tasas de embarazo, menor incidencia de SHEO grado II, menor requerimiento de gonadotrofinas y menor duración de la estimulación que los es-

quemadas de agonistas.³⁷ Además, se demostró la utilidad de los agonistas en desencadenar la maduración ovocitaria en pacientes con SOP o respuesta excesiva previa.³⁸ El uso de protocolos de inducción que combinan antagonistas y disparo de la ovulación con agonistas con un adecuado sostén de fase lútea y embarazo temprano con estrógenos y progesterona reduce el riesgo de SHEO en pacientes de alto riesgo sin afectar las tasas de implantación.³⁹

La gonadotropina coriónica humana (hCG) podría ser un sustituto eficaz de la FSH para completar la maduración folicular en casos de FIV. Podría también ser útil en la prevención de SHEO. La hiperestimulación ovárica fue menos significativa en el protocolo de antagonistas a baja dosis que con el protocolo de agonistas no complementado. Parece entonces que la suplementación con baja dosis de hCG podría aumentar la tasa de embarazo en los protocolos con antagonistas.⁴⁰

Manejo de las bajas respondedoras

Existen numerosas definiciones en la literatura: FSH elevada, edad de la mujer, cancelación de ciclos previos y/o pobre respuesta con menos de 4 ovocitos recuperados en tratamientos anteriores y/o pico de E2 menor de 500pg/ml.⁴¹ A pesar de la inconsistencia de la definición, este grupo heterogéneo de mujeres tiene el peor pronóstico en cuanto al resultado de la HOC y el logro de embarazo.

Se han intentado múltiples estrategias como elevar la dosis de FSH, citrato de clomifeno (o letrozole) y hMG, uso de *microflare-flare o flare* con agonistas, así como el uso de antagonistas (revisto en 2, 42, 43). Esta variedad de protocolos refleja gran variabilidad intra-grupo, origen probablemente multifactorial y lo más importante, un resultado globalmente comprometido.

El uso empírico de otras terapias alternativas o adyuvantes, como hormona de crecimiento recombinante, andrógenos (DHEA-S y testosterona), y corticoides sigue siendo en nuestra opinión de eficacia no probada.^{46,47} Se ha propuesto una alternativa que parece interesante, la cual conlleva el uso de estrógenos y/o antagonistas de GnRH en la fase lútea del ciclo previo⁴⁸ para evi-

tar el ascenso precoz de la FSH como se observa en mujeres perimenopáusicas. Se necesitan más ensayos para establecer su eficacia.

En nuestro programa se reconoce como bajas respondedoras a quienes presentan una o más de las siguientes características: FSH basal ≥ 10 mUI/ml o más al 3^{er} día o estradiol basal ≥ 90 pg/ml, relación elevada FSH /LH, edad avanzada (≥ 37 a), bajo número de folículos antrales, un intento de FIV previo con pico de E2 < 900 pg/ml y/o con recuperación de ≤ 5 ovocitos maduros o cancelación previa debida a una folículo-logénesis inadecuada (< 4 folículos dominantes después de 6 días de estimulación). Como se ve con estos criterios, es un grupo de pacientes muy grande que, de hecho, abarcó el 40% de los ciclos realizados en los últimos 10 años. La causa de esa respuesta es atribuible a la edad, cirugías previas ováricas, endometriosis severa y/o adherencias pelvianas extensas o a fallas ováricas inmunológicas, no encontrándose explicación en muchas situaciones.

La edad materna avanzada se asocia claramente a aneuploidías ovocitarias. Hemos descrito anomalías en la zona pelúcida de ovocitos de bajas respondedoras.⁵⁰ Estas anomalías se caracterizaron, entre otras, por esqueleto proteico anormal medido con anticuerpos específicos ante-ZP3. Aunque la patogénesis real de las bajas respondedoras es generalmente desconocida, surgen como un grupo heterogéneo con defectos intrínsecos y/o derivados de la estimulación que lleva a este fenotipo de pobre respuesta.

Estimulamos a las bajas respondedoras (n:20) con uno de tres protocolos. La asignación a uno u otro ha sido en forma no aleatorizada y de acuerdo a la experiencia y preferencia del profesional por un determinado protocolo. Un régimen consistió en agonistas de GnRH en protocolo corto (LC- Lupron corto).⁴³ En este esquema el agonista fue iniciado en la FL (0,5mg/d), se suspendió al inicio de la menstruación y se iniciaba FSHr a una dosis más alta, de 450UI/d. Otras bajas respondedoras fueron estimuladas con alta dosis de FSHr, ya sea con agonistas con *micro-flare* o protocolo de antagonistas. En ambos casos se pretrató a las pacientes por tres semanas con ACO y las gonadotropinas se iniciaron luego de 4 días de la última pastilla activa. En el régimen

micro-flare el agonista se inició al día 2 a una dosis de 40mcg/d, 2 veces al día, y se continuó hasta la administración de hCG. La FSHr se inició al 5º día a 450UI/d. En el régimen flexible de antagonistas la FSHr (también 450UI/d) se inició al día 3 y el antagonista cuando el folículo dominante tenía 14mm de diámetro. En muchas de estas pacientes se agregó LH en forma de hMG (menotropina altamente purificada) o LHr. En algunos casos la dosis total de gonadotrofinas de 450UI fue dividida en 300UI de FSHr y 150 de hMG; en otras se agregó hMG (75-150UI) en el momento de la adición del antagonista. Las Tablas 1 y 2 presentan los resultados de los tres protocolos. Como se puede observar, todos tuvieron resultados sub-óptimos que reflejan la pobre respuesta ovárica.

Conclusiones

Revisamos aquí el estado actual de los protocolos de HOC, presentamos nuestra experiencia reciente y los resultados obtenidos durante los últimos años. Delineamos el manejo y los resultados de las pacientes de acuerdo a la RO identificada prospectivamente. Como consecuencia del diagnóstico de detección, se ubicó a cada paciente en un protocolo de HOC en forma predeterminada, pero el manejo fue individualizado. El uso de FSHr junto con agonistas (supresión lútea) o antagonistas resultó en una alta Tasa de Embarazo (TE) y una optimización del potencial reproductivo total en las respondedoras intermedias. Las altas respondedoras también tuvieron resultados favorables y similares usando el régimen de superposición de ACO/agonistas o el de agonistas con FSHr. El uso de antagonistas parece asociarse a menor incidencia de SHEO en pacientes de alto riesgo. Como contrapartida, las pobres respondedoras tuvieron TE mucho menores independientemente del régimen elegido. Mejorar los resultados clínicos en este variado grupo de pacientes constituye un desafío formidable para los clínicos.

De todas maneras, aún existe controversia en el encuadre clínico. Continúa el debate sobre el agregado de LH a los ciclos en los que se usan agonistas con FSHr y se puede considerar agregar LH a las bajas respondedoras y a las pacientes

pre-tratadas con ACO o con mayor supresión hipofisaria por agonistas. Sin embargo, se necesitan ensayos controlados para confirmar si la LH es necesaria en estos cuadros clínicos y qué preparados mejoran los resultados. También hay controversia sobre el uso de regímenes flexibles (individualizados) o fijos al usar antagonistas. Actualmente se están evaluando otras posibilidades como el uso de antagonistas en la fase lútea previa.

Referencias

1. Centers for Disease Control and Prevention. 2005 Assisted Reproductive Technology and Success Rates. National Summary and Fertility Clinic Reports 2007.
2. Arslan M, Bocca S, Mirkin S, Barroso G, Stadtmayer L, Oehninger S. Controlled ovarian hyperstimulation protocols for in vitro fertilization: two decades of experience after the birth of Elizabeth Carr 2005;84:555-569.
3. Jones GS, Garcia JE, Rosenwaks Z. The role of pituitary gonadotropins in follicular stimulation and oocyte maturation in the human. J Clin Endocrinol Metab 1984;59:178-180.
4. Muasher SJ, Oehninger S, Simonetti S, Matta J, Ellis LM, Liu HC, et al. The value of basal and/or stimulated serum gonadotropin levels in prediction of stimulation response and in vitro fertilization outcome. Fertil Steril 1988;50:298-307.
5. Scott RT, Toner JP, Muasher SJ, Oehninger S, Robinson S, Rosenwaks Z. Follicle-stimulating hormone levels on cycle day 3 are predictive of in vitro fertilization outcome. Fertil Steril 1989;51:651-654.
6. Toner JP, Philput CB, Jones GS, Muasher SJ. Basal follicle-stimulating hormone level is a better predictor of in vitro fertilization performance than age. Fertil Steril 1991;55:784-791.
7. Verhagen TE, Hendriks DJ, Bancsi LF, Mol BW, Broekmans FJ. The accuracy of multivariate models predicting ovarian reserve and pregnancy after in vitro fertilization: a meta-analysis. Hum Reprod Update 2008;14:95-100.
8. Riggs RM, Duran EH, Baker MW, Kimble TD, Hobeika E, Yin L, Matos-Bodden L, Leader B, Stadtmayer L. Assessment of ovarian reserve with anti-Müllerian hormone: a comparison of the predictive value of anti-Müllerian hormone, follicle-stimulating hormone, inhibin B, and age. Am J Obstet Gynecol 2008;199:202.e1-8.
9. Enskog A, Henriksson M, Unander M, Nilsson L, Brannstrom M. Prospective study of the clinical and laboratory parameters of patients in whom ovarian hyperstimulation syndrome developed during controlled ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization. Fertil Steril 1999;71:808-814.

10. D'Angelo A, Amso N. "Coasting" (withholding gonadotrophins) for preventing ovarian hyperstimulation syndrome. *Cochrane Database Syst Rev* 2002; CD002811.
11. D'Angelo A, Amso N. Embryo freezing for preventing Ovarian Hyperstimulation Syndrome. *Cochrane Database Syst Rev* 2002; CD002806.
12. Oehninger S. Revealing the enigmas of implantation: what is the true impact of ovarian hyperstimulation? *Fertil Steril* 2008;89(1):27-30.
13. Oehninger S, Mayer J, Muasher S. Impact of different clinical variables on pregnancy outcome following embryo cryopreservation. *Mol Cell Endocrinol* 2000; 169:73-77.
14. Toner JP, Brzyski RG, Oehninger S, Veeck LL, Simonetti S, Muasher SJ. Combined impact of the number of pre-ovulatory oocytes and cryopreservation on IVF outcome. *Hum Reprod* 1991;6:284-289.
15. Agrawal R, Holmes J, Jacobs HS. Follicle-stimulating hormone or human menopausal gonadotropin for ovarian stimulation in in vitro fertilization cycles: a meta-analysis. *Fertil Steril* 2000;73:338-343.
16. van Wely M, Westergaard LG, Bossuyt PM, van d, V. Effectiveness of human menopausal gonadotropin versus recombinant follicle-stimulating hormone for controlled ovarian hyperstimulation in assisted reproductive cycles: a meta-analysis. *Fertil Steril* 2003;80:1086-1093.
17. Coomarasamy A, Afnan M, Cheema D, van der Veen F, Bossuyt PM, van Wely M. Urinary hMG versus recombinant FSH for controlled ovarian hyperstimulation following an agonist long down-regulation protocol in IVF or ICSI treatment: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod* 2008;23(2):310-315.
18. Zeleznik AJ. Follicle selection in primates: "many are called but few are chosen". *Biol Reprod* 2001;65:655-659.
19. Hillier SG. Current concepts of the roles of follicle stimulating hormone and luteinizing hormone in folliculogenesis. *Hum Reprod* 1994;9:188-191.
20. Filicori M, Cognigni GE, Taraborrelli S, Spettoli D, Ciampaglia W, de Fatis CT, et al. Luteinizing hormone activity supplementation enhances follicle-stimulating hormone efficacy and improves ovulation induction outcome. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:2659-2663.
21. Cabrera RA, Stadtmauer L, Mayer JF, Gibbons WE, Oehninger S. Follicular phase serum levels of LH do not influence delivery rates in IVF cycles down regulated with a GnRH agonist and stimulated with recombinant FSH. *Fertil Steril* 2005;83:42-48.
22. Laml T, Obruca A, Fischl F, Huber JC. Recombinant luteinizing hormone in ovarian hyperstimulation after stimulation failure in normogonadotropic women. *Gynecol Endocrinol* 1999;13:98-103.
23. De Placido G, Alviggi C, Mollo A, Strina I, Ranieri A, Alviggi E, et al. Effects of recombinant LH (rLH) supplementation during controlled ovarian hyperstimulation (COH) in normogonadotropic women with an initial inadequate response to recombinant FSH (rFSH) after pituitary downregulation. *Clin Endocrinol* 2004;60:637-643.
24. Al Inany H, Aboulghar M. GnRH antagonist in assisted reproduction: a Cochrane review. *Hum Reprod* 2002; 17:874-885.
25. Kolibianakis EM, Albano C, Kahn J, Camus M, Tournaye H, Van Steirteghem AC, et al. Exposure to high levels of luteinizing hormone and estradiol in the early follicular phase of gonadotropin-releasing hormone antagonist cycles is associated with a reduced chance of pregnancy. *Fertil Steril* 2003;79: 873-880.
26. Mansour RT, Aboulghar MA, Serour GI, Al Inany HG, Amin YM, Abou-Setta AM. The use of gonadotropin-releasing hormone antagonist in a flexible protocol: a pilot study. *Am J Obstet Gynecol* 2003;189: 444-446.
27. Mochtar MH. The effect of an individualized GnRH antagonist protocol on folliculogenesis in IVF/ICSI. *Hum Reprod* 2004;19:1713-1718.
28. Al-Inany HG, Abou-Setta AM, Aboulghar M. Gonadotrophin-releasing hormone antagonists for assisted conception: a Cochrane review. *Reprod Biomed Online* 2007;14:640-649.
29. Huang SJ. Tug of war between ovarian stimulation and endometrial receptivity. *Reprod Sci* 2008;15:335.
30. Klemmt PA, Liu F, Carver JG, Jones C, Brosi D, Adamson J, Mardon HJ, McVeigh E. Effects of gonadotrophin releasing hormone analogues on human endometrial stromal cells and embryo invasion in vitro. *Hum Reprod* 2009;24:2187-2192.
31. Prapas N, Tavaniotou A, Panagiotidis Y, Prapa S, Kasapi E, Goudakou M, Papatheodorou A, Prapas Y. GnRH antagonists and endometrial receptivity in oocyte recipients: a prospective randomized trial. *Reprod Biomed Online* 2009;8(2):276-281.
32. Sunkara SK, Tuthill J, Khairy M, El-Toukhy T, Coomarasamy A, Khalaf Y, Braude P. Pituitary suppression regimens in poor responders undergoing IVF treatment: a systematic review and meta-analysis. *Reprod Biomed Online* 2007;15:539-546.
33. Gonen Y, Jacobson W, Casper RF. Gonadotropin suppression with oral contraceptives before in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1990;53:282-287.
34. Mirkin S, Jones EL, Mayer JF, Stadtmauer L, Gibbons WE, Oehninger S. Impact of transabdominal ultrasound guidance on performance and outcome of transcervical uterine embryo transfer. *J Assist Reprod Genet* 2003;20:318-322.
35. Dowling-Lacey D, Jones E, Mayer J, Bocca S, Stadtmauer L, Oehninger S. Elective transfer of two embryos: Reduction of multiple gestations while maintaining high pregnancy rates. *J Assist Reprod Genet* 2007;24(1):11-15.
36. Damario MA, Barmat L, Liu HC, Davis OK, Rosenwaks Z. Dual suppression with oral contraceptives and gonadotrophin releasing-hormone agonists improves in-vitro fertilization outcome in high responder patients. *Hum Reprod* 1997;12: 2359-2365.

37. Lainas TG, Sfountouris IA, Zorzovilis IZ, Petsas GK, Lainas GT, Alexopoulou E, Kolibianakis EM. Flexible GnRH antagonist protocol versus GnRH agonist long protocol in patients with polycystic ovary syndrome treated for IVF: a prospective randomised controlled trial (RCT). *Hum Reprod* 2009. [Epub ahead of print].
38. Engmann L, Siano L, Schmidt D, Nulsen J, Maier D, Benadiva C. GnRH agonist to induce oocyte maturation during IVF in patients at high risk of OHSS. *Reprod Biomed Online* 2006;13(5):639-644.
39. Engmann L, DiLuigi A, Schmidt D, Nulsen J, Maier D, Benadiva C. The use of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) agonist to induce oocyte maturation after cotreatment with GnRH antagonist in high-risk patients undergoing in vitro fertilization prevents the risk of ovarian hyperstimulation syndrome: a prospective randomized controlled study. *Fertil Steril* 2008; 89(1):84-91.
40. Kosmas IP, Zikopoulos K, Georgiou I, Paraskevaidis E, Blockeel C, Tournaye H, Van Der Elst J, Devroey P. Low-dose HCG may improve pregnancy rates and lower OHSS in antagonist cycles: a meta-analysis. *Reprod Biomed Online* 2009;19(5):619-630.
41. Muasher SJ. Treatment of low responders. *J Assist Reprod Genet* 1993;10:112-114.
42. Scott RT, Navot D. Enhancement of ovarian responsiveness with microdoses of gonadotropin-releasing hormone agonist during ovulation induction for in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1994;61(5):880-885.
43. Faber BM, Mayer J, Cox B, Jones D, Toner JP, Oehninger S, et al. Cessation of gonadotropin-releasing hormone agonist therapy combined with high-dose gonadotropin stimulation yields favorable pregnancy results in low responders. *Fertil Steril* 1998;69:826-830.
44. Kolibianakis EM, Venetis CA, Diedrich K, Tarlatzis BC, Griesinger G. Addition of growth hormone to gonadotrophins in ovarian stimulation of poor responders treated by in-vitro fertilization: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update* 2009;15(6):613-622.
45. Feigenberg T, Simon A, Ben-Meir A, Gielchinsky Y, Laufer N. Role of androgens in the treatment of patients with low ovarian response. *Reprod Biomed Online* 2009;19(6):888-898.
46. Mamas L, Mamas E. Dehydroepiandrosterone supplementation in assisted reproduction: rationale and results. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2009;21(4):306-308.
47. Keay SD, Lenton EA, Cooke ID, Hull MG, Jenkins JM. Low-dose dexamethasone augments the ovarian response to exogenous gonadotrophins leading to a reduction in cycle cancellation rate in a standard IVF programme. *Hum Reprod* 2001;16(9):1861-1865.
48. Dragisic KG, Davis OK, Fasouliotis SJ, Rosenwaks Z. Use of a luteal estradiol patch and a gonadotropin-releasing hormone antagonist suppression protocol before gonadotropin stimulation for in vitro fertilization in poor responders. *Fertil Steril* 2005;84(4):1023-1026.
49. Barroso G, Oehninger S, Monzó A, Kolm P, Gibbons WE, Muasher SJ. High FSH:LH ratio and low LH levels in basal cycle day 3: impact on follicular development and IVF outcome. *J Assist Reprod Genet* 2001; 18(9):499-505.
50. Oehninger S, Hinsch E, Pfisterer S, Veeck LL, Kolm P, Schill WB, et al. Use of a specific zona pellucida (ZP) protein 3 antiserum as a clinical marker for human ZP integrity and function. *Fertil Steril* 1996;65:139-145.