Artículo original
Ginecol Obstet Mex. 2020 mayo;88(5):306-311.

Evaluación de la tasa de blastocistos euploides en fase folicular y lútea (DuoStim) en mujeres con pobre respuesta ovárica: estudio preliminar en México

Euploid blastocyst rate in follicular vs luteal phase (DuoStim) in women with poor ovarian response: Preliminary study in Mexico.

Gerardo Barroso-Villa,[1,2] Carlos Valdespin-Fierro,[2,3] Lucía García-Montes,[3] Ariane Weiser-Smeke,[3] Ana Machargo-Gordillo,[3] Rosaura Ávila-Lombardo[4]

Resumen

OBJETIVO: Comparar la tasa de blastocistos euploides obtenida después de la estimulación ovárica en fase folicular con la fase lútea en un mismo ciclo menstrual en pacientes con deficiente respuesta ovárica.

MATERIALES Y MÉTODOS: Estudio clínico, prospectivo y comparativo llevado a cabo en el Centro de Reproducción Arcos, Nascere, entre los meses de enero a julio de 2019. Se incluyeron pacientes con pobre respuesta ovárica según los criterios de Bologna y con indicación de PGT-A. Las estimulaciones en fase folicular y lútea se efectuaron con antagonista de la GnRH y FSHr/LHr (2:1) a partir del día 3 del ciclo y 5 días después de la primera recuperación de los ovocitos. Para completar el proceso de maduración ovocitaria se utilizaron análogos de GnRH, se tomó una biopsia de trofoectodermo en día 5-7.

RESULTADOS: Se estudiaron 20 pacientes. Al comparar la fase folicular con la lútea la tasa de fertilización fue de 79% (IC95%: 29-46) *vs* 55% (IC95%: 34-53), la tasa de blastocistos 42% (IC95%: 19-44) *vs* 45% (IC95%: 24-55) y la tasa de blastocistos euploides 100% (IC95%: 44-53) *vs* 70% (IC95%: 38-46), respectivamente. Solo la tasa de recuperación de ovocitos en metafase II mostró diferencias significativas entre ambas fases 40% (IC95%: 18-37) *vs* 59% (IC95%: 31-59), p = 0.0333 en la fase folicular y lútea, respectivamente.

CONCLUSIONES: La estimulación ovárica bifásica (folicular-lútea), en el mismo ciclo menstrual (DuoStim), resultó en mayor tasa de recuperación de ovocitos en metafase II durante la fase lútea. Sin embargo, las tasas de desarrollo embrionario a día 5-6 (blastocistos) y de embriones euploides fueron similares entre ambas fases.

PALABRAS CLAVE: Blastocisto; estimulación ovárica; fase lútea; ciclo menstrual; fase folicular; recuperación de ovocitos; metafase; inducción de la ovulación.

Abstract

OBJECTIVE: Euploid blastocyst rate comparison between ovarian stimulation in follicular vs luteal phase performed in the same menstrual cycle in patients with poor ovarian response.

MATERIALS AND METHODS: Clinical, prospective and comparative study conducted at Centro de Reproducción Arcos S.C., "*Nascere*", during january-july, 2019. Patients with PGT-A indication and poor ovarian response according to *Bologna* criteria were included. Under a short GnRH-antagonist protocol, stimulations, both in follicular and luteal phase were performed using rFSH/rLH (2:1) from day 3 of the cycle and 5 days after the first oocyte retrieval. In addition, ovulation trigger with an GnRH agonist was used, finally, on day 5-6 of embryo development, trophoctoctoderm biopsy was performed.

[1] Director científico.
[2] Adscrito al departamento de Ginecología y Obstetricia, Centro Médico ABC, Ciudad de México.
[3] Adscrito a la División de Salud Reproductiva.
[4] Directora del Laboratorio de Fertilización in vitro
Centro de Reproducción Arcos, NASCERE, Ciudad de México.

Recibido: febrero 2020

Aceptado: marzo 2020

Correspondencia
Gerardo Barroso Villa
barrosog@me.com

Este artículo debe citarse como
Barroso-Villa G, Valdespin-Fierro C, García-Montes L, Weiser-Smeke A, Machargo-Gordillo A, Ávila-Lombardo R. Evaluación de la tasa de blastocistos euploides en fase folicular y lútea (DuoStim) en mujeres con pobre respuesta ovárica: estudio preliminar en México. Ginecol Obstet Mex. 2020 mayo;88(5):306-311.
https://doi.org/10.24245/gom.v88i5.3935

RESULTS: In this study, 20 patients were included; when comparing follicular phase vs luteal phase, we found that fertilization rate was 79% (95%CI 29-46) vs 55% (95%CI 34-53), blastocysts rate was 42% (95%CI 19-44) vs 45% (95%CI 24-55) and euploid embryo rate was 100% (95%CI 44-53) vs 70% (95%CI 38-46). Only the oocyte recovery rate in metaphase II showed significant differences between both phases 40% (IC 95% 18-37) vs 59% (IC 95% 31-59), p=0.0333.

CONCLUSION: Biphasic ovarian stimulation (follicular/ luteal) in the same menstrual cycle (DuoStim) resulted in a higher metaphase II ooctye recovery rate during the luteal phase in comparison with the follicular phase. However, the rates of blastocysts and euploid blastocysts were similar between both phases.

KEYWORDS: Blastocyst; Ovarian stimulation; Luteal phase; Menstrual cycle; Follicular phase; Oocyte retrieval; Metaphase; Ovulation induction.

ANTECEDENTES

Durante la última década ha cambiado el concepto clásico del desarrollo folicular. En la actualidad existe un desempeño múltiple de la FSH a lo largo del ciclo menstrual en su fase folicular y lútea, lo que lleva a encontrar folículos preantrales en diferentes fases del ciclo ovárico.[1-4] Esto ha permitido el desarrollo de nuevas estrategias para mayor obtención de óvulos maduros por ciclo de estimulación y mejor aprovechamiento de la reserva ovárica en menor tiempo.

En evaluaciones previas se ha descrito el desarrollo embrionario a partir de folículos preantrales obtenidos durante la fase lútea, consiguiendo blastocistos euploides con un desarrollo infantil adecuado tres años posteriores al nacimiento.[5] Lo anterior abre una posibilidad de éxito para la estimulación en fase lútea del ciclo menstrual, sobre todo en pacientes con baja respuesta ovárica durante la fase folicular o en casos que requieren preservación inmediata de la fertilidad.[6]

Martínez y su grupo demostraron que no existieron diferencias en cuanto a las tasas de fertilización, implantación y embarazo cuando se practicó la doble estimulación ovárica en pacientes de ovodonación.[7] En 2015, Ubaldi y sus coautores compararon la estimulación ovárica en la fase lútea *versus* la fase folicular en el mismo ciclo menstrual (DuoStim) en pacientes con reserva ovárica reducida y obtuvieron un número similar de blastocistos euploides por ovocito inyectado. La adición de estimulación en la fase lútea aumentó, significativamente, el rendimiento neto de blastocistos transferibles en comparación con la estimulación única en fase folicular.[8] Esta nueva estrategia puede aumentar la cantidad de blastocistos euploides disponibles en un solo ciclo menstrual y, a su vez, los resultados clínicos finales.[9]

Lo mencionado representa una oportunidad para la obtención de ovocitos en pacientes con pobre respuesta ovárica. El objetivo de este estudio fue: comparar la tasa de blastocistos euploides obtenida después de la estimulación ovárica en fase folicular con la fase lútea en un mismo ciclo menstrual en pacientes con pobre respuesta ovárica.

MATERIALES Y MÉTODOS

Estudio clínico, prospectivo y comparativo llevado a cabo en el Centro de Reproducción Arcos,

Nascere, entre los meses de enero a julio de 2019. Se incluyeron pacientes con diagnóstico de pobre respuesta ovárica conforme a los criterios de Bologna (edad materna avanzada más o menos mayor de 40 años, concentraciones de hormona antimülleriana menores de 1.1 ng/mL y conteo folicular antral menor de 5-7 folículos) e indicación de PGT-A.[10]

Para ambas estimulaciones (fase folicular y lútea) se utilizó FSHr/LHr en relación 2:1. Después de la valoración ultrasonográfica basal de los folículos se inició la estimulación en el día 3 del ciclo menstrual con la aplicación de dos ámpulas diarias de 150 UI de FSHr más 75 UI de LHr (Pergoveris®; Merck). A partir del séptimo día del ciclo se administró una dosis diaria de antagonista de la GnRH (Cetrotide®; Merck) de 0.25 mg, continuando con todos los medicamentos hasta el día de la inducción de la ovulación. Finalmente, cuando hubo más de 2-3 folículos que alcanzaron un diámetro más o menos mayor de 17 mm por ultrasonografía vaginal, se aplicó una dosis única de dos ámpulas de 95.6 mcg de agonista de GnRH (Gonapeptyl daily®; Ferring) para inducir la ovulación (36 horas antes de la recuperación de ovocitos) como se muestra en la **Figura 1**.

A pesar de que no existen pautas establecidas para iniciar la estimulación ovárica en fase lútea, en este estudio se tomaron en cuenta los siguientes criterios internos:

i) Descartar el riesgo de síndrome de hiperestimulación ovárica; *ii)* disparo durante la fase folicular con análogos de GnRH; *iii)* visualización adecuada del ovario y de la carga antral en fase lútea (más de 3 folículos antrales).

Para comparar el desarrollo de los ovocitos recuperados después de la estimulación en fase folicular y lútea, se consideró la tasa de blastocistos euploides como la variable de respuesta primaria. Las variables de respuesta secundaria fueron: cantidad de ovocitos capturados en metafase II y de blastocistos obtenidos.

Una vez capturados los datos se analizó la información en el programa GraphPad Prism versión 7 (GraphPad Software, Inc. San Diego, CA, USA). La normalidad de los datos se analizó con la prueba de Kolmogorov-Smirnov; las variables cualitativas se expresaron en proporciones, medidas de frecuencia absoluta y relativa; para las cuantitativas: medidas de tendencia central

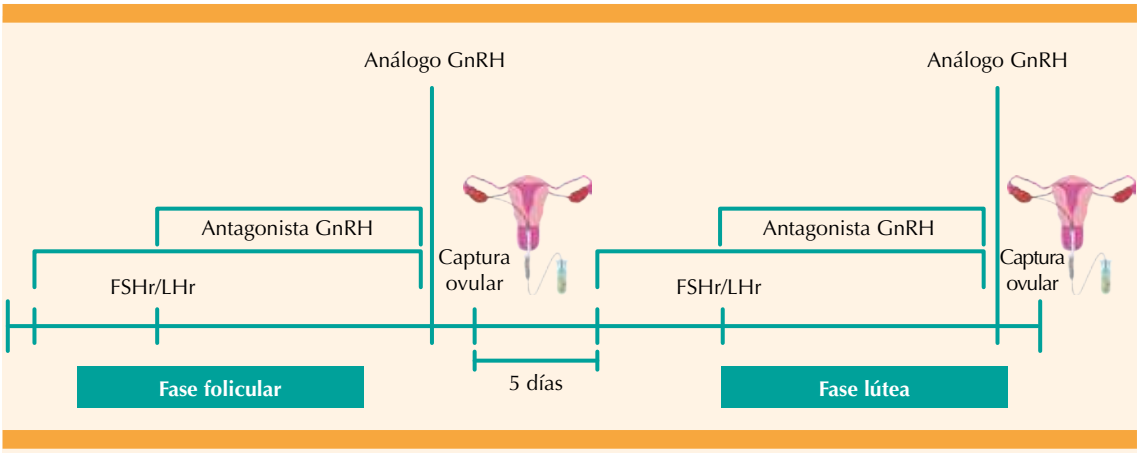


Figura 1. Protocolo de doble estimulación ovárica (DuoStim). La estimulación de la fase lútea se efectuó con un esquema idéntico al de la fase folicular (ambos están descritos en la sección de Materiales y Métodos).

https://doi.org/10.24245/gom.v88i5.3935

y dispersión de datos, expresados como mediana y rangos intercuartiles. Como pruebas de hipótesis se utilizaron: para las variables cuantitativas prueba U de Mann Whitney y para las cualitativas prueba exacta de Fisher. Se calculó el riesgo relativo para los resultados binomiales con IC95%. El error alfa ajustado menor de 5% (p = < 0.05) a dos colas se consideró significativo.

RESULTADOS

Se estudiaron 20 pacientes con edad promedio de 36 ± 3.59 años (**Cuadro 1**). Las concentraciones de estradiol en el día 3 *vs* el inicio de la fase lútea fueron significativamente menores en la fase folicular que en la lútea (35 pg/mL [IC95%: 26-44] *vs* 141 pg/mL [IC95%: 20-451], p=0.01); del mismo modo, la progesterona en día 3 del ciclo fue menor en la fase folicular que en fase lútea [0.7 ng/mL (0.4-1.04) vs 0.9 ng/mL (IC95%: 0.3-3.1), NS]; el día del disparo en la fase folicular fue antes en comparación con la fase lútea [día 10 (10-12) *vs* día 13 (12-14), p = 0.004]; la tasa de óvulos en metafase II fue significativamente menor en la fase folicular que en la fase lútea [40% (IC95%: 18-37) *vs* 59% (IC95%: 31-59), con una p = 0.0333]; las tasas de fertilización en fase folicular *vs* fase lútea fueron similares, sin diferencias estadísticamente significativas entre ambas [79% (IC 95% 29-46) *vs* 55% (IC95%: 34-53), NS]. La tasa de desarrollo embrionario a día 5 (tasa de blastocisto) fue de 42% (IC95%: 19-44) para la fase folicular y 45% para fase lútea (IC95%: 24-55), sin diferencia estadísticamente significativa.

Por último, la tasa de blastocistos euploides en fase folicular *vs* fase lútea tampoco demostró diferencias significativas en 100% (IC95%: 44-53) *vs* 70% (IC95%: 38-46), respectivamente. **Cuadro 2**

Cuadro 1. Características demográficas de las pacientes

Variables	Media ± DE
Edad	36 ± 3.59
Peso	57.63 ± 9.16
Talla	1.65 ± 0.06
IMC	21.16 ± 3.23

Las características demográficas de las pacientes se presentan en forma de media ± desviación estándar (DE).

DISCUSIÓN

El mejor entendimiento de la fisiología folicular de los ciclos naturales y con estimulación ovárica controlada ha permitido desarrollar protocolos de estimulación ovárica más eficientes para lograr mayor recuperación de ovocitos maduros en un lapso más corto en pacientes que reciben técnicas de reproducción asistida.

Los tratamientos de infertilidad tienen como objetivo final lograr un embarazo de evolución normal y un recién nacido sano en casa. Existen casos en donde el tiempo es un factor limitante para la obtención de una cantidad y calidad adecuada de ovocitos; por ejemplo, pacientes con deficiente respuesta ovárica,[11] edad materna avanzada, pacientes oncológicas y, finalmente, pacientes con baja reserva ovárica.[12] Por lo tanto, cualquier esfuerzo que implique un incremento en la cantidad de ovocitos maduros obtenidos en un tiempo más corto (un mismo ciclo menstrual) representa una estrategia prometedora para esta cohorte de pacientes.

La correlación entre la cantidad de ovocitos en metafase II y la de blastocistos que se desarrollan a partir de ellos puede no ser lineal, y pueden ocurrir considerables variaciones individuales. Con los tratamientos de estimulación actuales, más ovocitos significan mejor oportunidad de obtener blastocistos euploides que representan mayor tasa de embarazo por embrión transferido.[13]

Según la teoría de múltiples oleadas foliculares en un mismo ciclo menstrual, los folículos tienen

Cuadro 2. Resultados de la estimulación ovárica en fase folicular o lútea

Variables	Fase folicular	Fase lútea	p
*Estradiol en día 3 (pg/mL)	35 (26-44)	141 (20-451)	0.0197
*Progesterona en día 3 (ng/mL)	0.7 (0.4-1.04)	0.9 (0.3-3.1)	NS
*Día del disparo	10 (10-12)	13 (12-14)	0.0044
*Folículos ≥17 mm	2 (1-4)	3 (2-5)	NS
*Estradiol el día del disparo (pg/mL)	1009 (476-1277)	1058 (343-2138)	NS
*Progesterona el día del disparo (ng/mL)	1.3 (1.1-1.9)	1.6 (0.9-2.1)	NS
**Tasa de ovocitos en MII (%)	26 (40%)	38 (59%)	0.03
**Tasa de fertilización (%)	34 (79%)	24 (55%)	NS
**Tasa de blastocistos (%)	14 (42%)	15 (45%)	NS
**Tasa de blastocistos euploides (%)	24 (100%)	17 (70%)	NS

* Las variables cuantitativas no paramétricas se representaron en mediana y rangos intercuartiles; ** Las variables cualitativas se representaron en medidas de frecuencia relativa (%). La tasa de ovocitos en metafase II se obtuvo mediante el coeficiente de ovocitos en metafase II/ ovocitos capturados; la tasa de fertilización se obtuvo mediante el coeficiente de ovocitos inyectados que desarrollaron dos pronúcleos dividida entre el total de ovocitos inyectados; la tasa de blastocistos se obtuvo mediante el coeficiente de blastocistos en día 5 o 6 dividido entre el total de blastocistos; y la tasa de blastocistos euploides mediante el coeficiente de blastocistos euploides dividida entre los blastocistos totales en día 5 o 6.

la posibilidad de desarrollarse después de una estimulación apropiada en distintos momentos del ciclo. Los protocolos convencionales generalmente comienzan durante el periodo folicular temprano y causan con facilidad el crecimiento asincrónico de los folículos.[3,4,14] Esto no sucede en la fase lútea, debido a que la progesterona e inhibina A secretadas por el cuerpo lúteo pueden inhibir el crecimiento de los folículos dominantes. Se ha reportado que la estimulación durante la fase lútea parece inducir mejor aprovechamiento de la reserva ovárica con casi un ovocito más en promedio con respecto a la fase folicular.[15,16] En el presente estudio observamos que la tasa de óvulos en metafase II fue significativamente mayor en la fase lútea que en la fase folicular. Esto es interesante porque respalda aún más el aprovechamiento de ondas anovulatorias en el reclutamiento de folículos para la obtención de ovocitos competentes.[8,15-19] A pesar de que esta estrategia es contraria al comportamiento fisiológico ovárico, es muy prometedora. No obstante, Cakmak y su grupo reportaron resultados diferentes, obteniendo una tasa de ovocitos capturados, maduros y fertilizados bastante similar entre ambas fases.[20]

De la misma manera, distintos estudios han descrito que no existen diferencias en cuanto a las tasas de fertilización, implantación y embarazo después de estimular pacientes en fase folicular contra fase lútea.[7,20]

En este estudio se observó un desarrollo in vitro similar entre los blastocistos de ambas fases, al establecer el diagnóstico genético preimplantacional para aneuploidías no se encontraron diferencias significativas en la proporción de blastocistos euploides, igual que lo encontrado por Ubaldi y colaboradores[21] quienes reportaron tasas de 46.9 *vs* 44.8% en fase folicular y lútea, respectivamente, en pacientes con baja reserva ovárica; esto confirma la factibilidad de utilizar la estimulación doble en pacientes con estas características.

Este modelo de doble estimulación es prometedor para las pacientes en quienes la preservación de la fertilidad es urgente y necesitan recolectar la mayor cantidad de ovocitos en el menor tiempo posible.[8,22] Los resultados obtenidos en este estudio representan una evidencia adicional para respaldar el uso de DuoStim con la finalidad de

https://doi.org/10.24245/gom.v88i5.3935

aumentar la cantidad de ovocitos con potencial de fertilización para que se obtenga, al menos, un blastocisto competente en un mismo ciclo menstrual, con la ventaja de disminuir los tiempos reproductivos o mejorar el rendimiento en mujeres con pobre respuesta ovárica.

CONCLUSIONES

La estimulación ovárica, con un protocolo idéntico en la fase folicular y lútea, en el mismo ciclo menstrual resultó en cantidad similar de blastocistos euploides en pacientes con pobre respuesta ovárica.

REFERENCIAS

1. Baerwald AR, et al. A new model for ovarian follicular development during the human menstrual cycle. Fertil Steril. 2003; 80 (1): 116-22. doi: 10.1016/s0015-0282(03)00544-2
2. Baerwald AR, et al. Ovarian antral folliculogenesis during the human menstrual cycle: a review. Hum Reprod Update 2012;18(1):73-91. doi:10.1093/humupd/dmr039
3. De Mello Bianchi PH, et al. Review: follicular waves in the human ovary: a new physiological paradigm for novel ovarian stimulation protocols. Reprod Sci. 2010; 17 (12): 1067-76. doi:10.1177/1933719110366483
4. Baerwald AR, et al. Characterization of ovarian follicular wave dynamics in women. Biol Reprod. 2003; 69 (3): 1023-31. doi:10.1095/biolreprod.103.017772
5. Kuang Y, et al. Luteal-phase ovarian stimulation case report: three-year follow-up of a twin birth. J IVF Reprod Med Genet. 2013; 1: 106. doi: 10.4172/2375-4508.1000106
6. Bentov Y, et al. An ongoing pregnancy from two waves of follicles developing during a long follicular phase of the same cycle. Fertil Steril. 2010; 94 (1): 350.e8-11. doi:10.1016/j.fertnstert.2009.12.033
7. Martínez F, et al. Comparison of starting ovarian stimulation on day 2 versus day 15 of the menstrual cycle in the same oocyte donor and pregnancy rates among the corresponding recipients of vitrified oocytes. Fertil Steril. 2014; 102 (5): 1307-11. doi:10.1016/j.fertnstert.2014.07.741
8. Ubaldi FM, et al. Follicular versus luteal phase ovarian stimulation during the same menstrual cycle (DuoStim) in a reduced ovarian reserve population results in a similar euploid blastocyst formation rate: new insight in ovarian reserve exploitation. Fertil Steril. 2016; 105 (6): 1488-95. e1. doi:10.1016/j.fertnstert.2016.03.002
9. Kuwayama M, et al. Highly efficient vitrification method for cryopreservation of human oocytes. Reprod Biomed Online. 2005; 11 (3): 300-8. doi:10.1016/s1472-6483(10)60837-1
10. Ferraretti AP, et al. ESHRE consensus on the definition of poor response to ovarian stimulation for in vitro fertilization: The Bologna criteria. Huma Reprod. 2011; 26 (7): 1616-24. doi:10.1093/humrep/der092
11. Ubaldi F, et al. Management of poor responders in IVF: is there anything new? Biomed Res Int. 2014; 352098. doi:10.1155/2014/352098
12. Tsampras N, Gould D, Fitzgerald CT. Double ovarian stimulation (DuoStim) protocol for fertility preservation in female oncology patients. Hum Fertil (Camb). 2017;20(4):248-53. doi:10.1080/14647273.2017.1287433
13. La Marca A, Sunkara SK. Individualization of controlled ovarian stimulation in IVF using ovarian reserve markers: From theory to practice. Hum Reprod Update 2014; 20: 124-40. doi:10.1093/humupd/dmt037
14. L. Hu, et al. Comparison of different ovarian hyperstimulation protocols efficacy in poor ovarian responders according to the Bologna criteria. Int J Clin Exp Med. 2014; 7: 1128-34.
15. Lin LT, et al. Luteal Phase Ovarian Stimulation May Improve Oocyte Retrieval and Oocyte Quality in Poor Ovarian Responders Undergoing In Vitro Fertilization: Preliminary Results from a Single-Center Prospective Pilot Study. Adv Ther. 2018; 35 (6): 847-56. doi:10.1007/s12325-018-0713-1
16. Vaiarelli A, et al. Double Stimulation in the Same Ovarian Cycle (DuoStim) to Maximize the Number of Oocytes Retrieved from Poor Prognosis Patients: A Multicenter Experience and SWOT Analysis. Frontiers in Endocrinology. 2018; 14; 9: 317. doi: 10.3389/fendo.2018.00317
17. Wang N, et al. Luteal-phase ovarian stimulation vs conventional ovarian stimulation in patients with normal ovarian reserve treated for IVF: a large retrospective cohort study. Clin Endocrinol (Oxf) 2016; 84(5): 720-8. doi: 10.1111/cen.12983
18. Lin LT, et al. The use of luteal-phase ovarian stimulation for poor ovarian responders undergoing in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection-embryo transfer treatment. Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology 2016; 55 (3): 307-8. doi:10.1016/j.tjog.2016.04.002
19. Moffat R, et al. Dual ovarian stimulation is a new viable option for enhancing the oocyte yield when the time for assisted reproductive technology is limited. Reprod Biomed Online 2014; 29: 659-61. doi:10.1016/j.rbmo.2014.08.010
20. Cakmak H, et al. Effective method for emergency fertility preservation: random-start controlled ovarian stimulation. Fertil Steril. 2013; 100 (6): 1673-80. doi:10.1016/j.fertnstert.2013.07.1992
21. Kuang Y, et al. Double stimulations during the follicular and luteal phases of poor responders in IVF/ICSI programmes (Shanghai protocol). Reproductive biomedicine online. 2014; 29 (6): 684-91. doi:10.1016/j.rbmo.2014.08.009
22. Cimadomo D, et al. Luteal phase anovulatory follicles result in the production of competent oocytes: intra-patient paired case-control study comparing follicular versus luteal phase stimulations in the same ovarian cycle. Hum Repro 2018. doi:10.1093/humrep/dey217