

UNIVERSIDAD DE OVIEDO

MASTER UNIVERSITARIO EN BIOLOGÍA

Y

TECNOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN

Resultados de las Técnicas
de Reproducción Asistida en
mujeres bajas respondedoras
según la edad

TRABAJO FIN DE MÁSTER POR:

Lorena García Gaipo

TUTOR: Victoria Jiménez Moreno

COTUTOR: Celestino González González

JUNIO 2012



UNIVERSIDAD DE OVIEDO
Departamento
de Biología Funcional

D^a. M^a Victoria Jiménez Moreno del Hospital Universitario Marqués de Valdecilla y el Dr. D. Celestino González González, Profesor Titular de Fisiología del Departamento de Biología Funcional de la Universidad de Oviedo por la presente

INFORMAN:

Que la alumna D^a. Lorena García Gaipo ha realizado bajo su supervisión el trabajo fin de máster titulado “Resultados de las técnicas de reproducción asistida en mujeres bajas respondedoras según la edad”. Dicho trabajo cumple las directrices exigidas y por ello autorizan la presentación del mismo.

Firma tutora:

Fdo. Victoria Jiménez Moreno

Firma co-tutor:

Fdo. Celestino González González

Oviedo a 8 de Junio de 2012

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer a la Unidad de Reproducción Asistida del Hospital Universitario Marqués de Valdecilla y en especial a Victoria Jiménez Moreno por sus consejos para realizar el trabajo, por su paciencia corrigiéndome pero sobre todo por toda la ayuda que me ha ofrecido a la hora de realizarlo.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	3
2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	10
3. MATERIALES Y MÉTODOS	11
A. Estimulación ovárica:	11
B. Procedimientos de laboratorio:.....	13
a. Recuperación de los ovocitos:	13
b. Tratamiento de las muestras seminales:.....	13
c. Fertilización de los ovocitos:	13
d. Valoración de la fecundación:	14
e. Valoración de la calidad embrionaria y transferencia:	14
f. Valoración de la gestación:.....	14
C. Definición de las variables:	14
D. Definición de los grupos de estudio:	15
E. Estadística:.....	17
4. RESULTADOS.....	18
A. Estudio 1:.....	18
B. Estudio 2:.....	20
C. Estudio 3:.....	22
D. Estudio 4:.....	24
5. DISCUSIÓN.....	27
6. CONCLUSIONES	31
7. REFERENCIAS	32

1. INTRODUCCIÓN

La esterilidad ha sido declarada como enfermedad por la Organización Mundial de la Salud (1) y la Medicina de la Reproducción se ha desarrollado con la finalidad de ofrecer soluciones a los problemas de fertilidad (2), ya que estos afectan al 15 % de la población en edad reproductiva, es decir, una de cada siete parejas presentará dificultades para tener descendencia (3).

Se considera que una pareja tiene problemas de esterilidad cuando después de un año de mantener relaciones sexuales de forma frecuente no se consigue una gestación. Las causas de esterilidad son numerosas y diversas. La imposibilidad de tener hijos en un 30% de los casos es debida a factores femeninos, en otro 30 % a factores masculinos, un 20% de tipo mixto y un 20% a factores de origen desconocido. Entre las causas más frecuentes de esterilidad femenina se encuentran trastornos ovulatorios, alteraciones tubáricas, uterinas y cervicales, motivos genéticos y algunos fármacos o sustancias químicas (3). En cuanto a los varones, la presencia de varicocele, obstrucción de los órganos genitales, procesos infecciosos o inflamatorios de las vías seminales, endocrinopatías, lesiones o enfermedades neurológicas, sustancias tóxicas y factores genéticos pueden causar una reducción en la producción de espermatozoides o de su liberación en el tracto genital femenino (3).

Las Técnicas de Reproducción Asistida (TRA) se desarrollaron dentro de la medicina reproductiva como terapia para tratar esta enfermedad y poder, en algunos casos, solucionar los problemas de infertilidad y conseguir el nacimiento del hijo deseado. Con el paso del tiempo, la demanda de utilización de estas técnicas ha ido aumentando ya bien sea por los avances científicos en este campo, por razones socioculturales o porque cada vez son más accesibles a la población (menor coste económico, centros públicos, etc.).

Ante un caso de esterilidad el camino a seguir es realizar un estudio a ambos miembros de la pareja para determinar las causas, y en caso de que esté indicado se aplicarán las TRA. El propósito de estos tratamientos es llevarse “un niño sano a casa” siendo para ello necesario conseguir embriones de buena calidad capaces de desarrollarse e implantar, dando lugar a nacimientos viables (4). Para ello es necesario

llevar a cabo una estimulación ovárica controlada de la paciente mediante un tratamiento hormonal que permita la obtención de un grupo de óvulos maduros que posteriormente serán fecundados para dar lugar a embriones. En función del ritmo de división y de una serie de parámetros morfológicos, dentro de la cohorte embrionaria obtenida, se seleccionarán los embriones más óptimos para ser transferidos al útero materno (5).

Uno de los puntos clave en los tratamientos de reproducción asistida es la estimulación ovárica controlada, cuyo objetivo es adaptar los tratamientos farmacológicos a las características individuales de cada paciente (edad, reserva ovárica, niveles de FSH, etc.) para tener esquemas más fisiológicos, en los que se alcancen menores concentraciones de estradiol y se obtenga un número no exagerado de óvulos, para minimizar riesgos sin reducir la efectividad (6). En la actualidad los tratamientos más utilizados consisten en la utilización de agonistas y antagonistas de la GnRH combinados con gonadotropinas.

A pesar de individualizar los protocolos de estimulación ovárica, existe una proporción de mujeres que responden pobremente al tratamiento (7) siendo su prevalencia de 9 a 24% dentro de la población de pacientes que se someten a tratamientos de reproducción asistida (8-12). García et al describieron por primera vez a las bajas respondedoras como pacientes que tenían picos de estradiol < 300 pg/ml, una respuesta folicular disminuida, un número bajo de ovocitos obtenidos y fecundados y pocos embriones para transferir (13). Aunque en la actualidad, no hay una definición aceptada universalmente que defina a las bajas respondedoras, dos de los criterios más utilizados son el número de folículos y/o el número de ovocitos obtenidos tras realizar una estimulación ovárica controlada con una dosis estándar de fármacos (7). El número límite de folículos dominantes o el número de ovocitos obtenidos que definen a una baja respondedora varía según la literatura, pero oscila dentro de los rangos de 3 a 5 folículos dominantes el día de la administración de la gonadotropina coriónica humana (hCG) (14-16) y entre 3 y 5 ovocitos obtenidos tras la punción folicular (17-19).

Otro de los parámetros utilizados más frecuentemente para definir a las bajas respondedoras es la concentración sérica basal de la hormona folículo estimulante (FSH) y Estradiol en el día 3 del ciclo. Los valores de corte para la concentración de

FSH abarcan de 6,5 a 15 mUI/ml (10), considerándose que una mujer tiene una respuesta insuficiente cuando estos valores se encuentran por encima de 10 mUI/ml (20). Algo similar ocurre con el estradiol, niveles elevados predicen una mala respuesta ovárica (21,22). No está muy claro el valor límite de la concentración de estradiol asociado a la baja respuesta pero algunos autores lo sitúan en 30 μ g/ml (21).

Las concentraciones séricas basales del cociente FSH/LH (hormona luteinizante) y los niveles de inhibina B también son muy utilizadas a la hora de definir a estas mujeres. Como se ha comentado anteriormente, una mujer con baja respuesta tiene niveles elevados de FSH, lo que provoca un aumento del cociente FSH/LH (23). Se ha demostrado que en mujeres con un cociente FSH/LH > 3 el número de ovocitos recuperados es bajo (24). Los niveles de FSH también están relacionados con los de inhibina B, ya que ésta es un fuerte inhibidor de la secreción de FSH, por lo tanto, bajos niveles de inhibina B (por debajo de 45 μ g/ml) son indicadores de una respuesta insuficiente (25).

Actualmente se ha establecido que los niveles de Hormona Anti-Mülleriana (AMH) ofrecen la mejor indicación para definir a las bajas respondedoras (26). Se sabe que la AMH inhibe la recuperación de los folículos primordiales y además reduce la sensibilidad de los folículos a la acción de la FSH. Varios autores (26-28), demostraron que una respuesta ovárica insuficiente a la hiperestimulación se asocia con una reducción de las concentraciones de AMH en la fase folicular temprana. El valor de corte varía según la bibliografía, pero estos oscilan entre 0,1 y 0,2 ng/ml (26,27).

Otros criterios que se utilizan para definir a las bajas respondedoras son test de clomifeno negativo (29), determinación de la reserva ovárica mediante la estimulación con FSH (EFORT) (30), prueba de estimulación con GnRH antagonista (GAST) (31), necesidad de utilizar dosis elevadas de FSH para obtener una respuesta ovárica a la estimulación, edad avanzada de la paciente, etc (7). Uno de los criterios que se ha propuesto últimamente a la hora de definir a una baja respondedora es que dicha paciente haya cancelado al menos un ciclo de estimulación al no responder al tratamiento (32).

Es importante destacar que el ovario responderá al tratamiento según la reserva ovárica de la paciente, la cual dependerá de la población de folículos primordiales

existentes en los ovarios. Se sabe que la fertilidad disminuye con la edad, implicando no solo un descenso en el número de folículos existentes sino también una reducción de su calidad (33) (Figura 1).

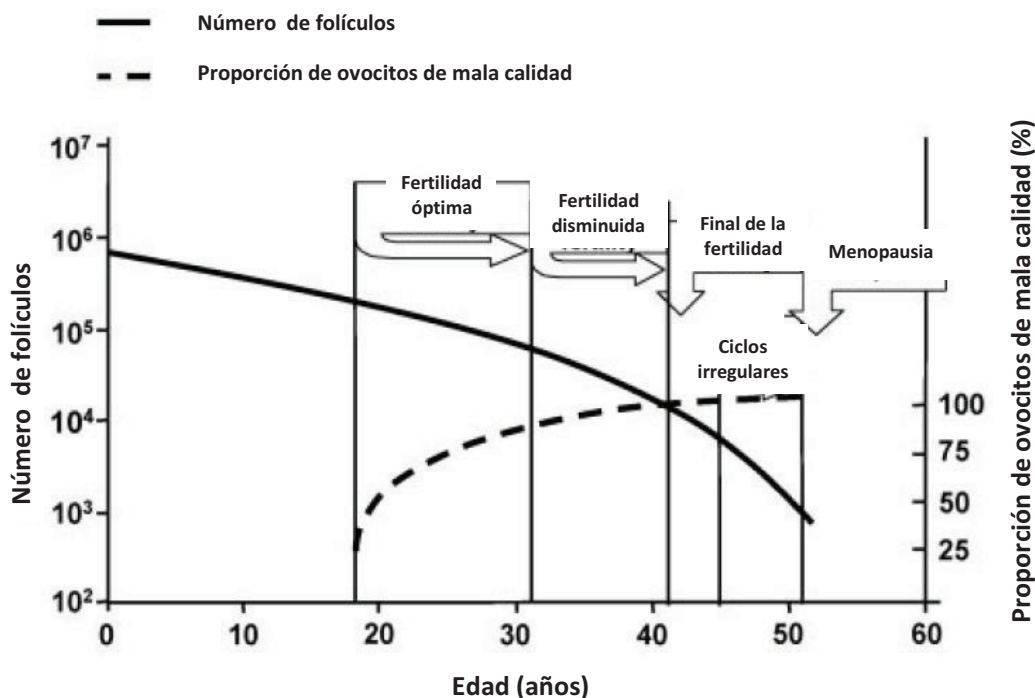


Figura 1: Esquema representando el número de folículos primordiales presentes en los ovarios y la calidad de los ovocitos en relación a la edad de la mujer y sus correspondientes eventos reproductivos. Figura obtenida a partir de Broekmans FJ et al (34).

Las células germinales primordiales son las precursoras de los ovocitos. Tras la diferenciación ovárica, estas células se multiplican mitóticamente hasta que comienzan a rodearse de una capa de células de la granulosa formando los folículos primordiales, dentro de los cuales, los ovocitos primarios permanecerán detenidos en la profase I de la meiosis, hasta que esta se reinicie en la vida reproductiva de la mujer (35). Hacia la semana 20 de gestación se alcanza el número máximo de ovogonias, existiendo en el ovario fetal entre 6-7 millones (36-38). En ese momento comienza un proceso de atresia folicular el cual da lugar a que en el nacimiento existan aproximadamente 1 millón de folículos primordiales (39).

Esta reducción continúa provocando que en la menarquia existan solo entre 300.000-400.000 folículos (33,37). A partir de este momento, su recuento decae, ya que en cada ciclo menstrual un número determinado de folículos primordiales comienzan a madurar, seleccionándose uno que será ovulado mientras que el resto sufrirán apoptosis. Se calcula que unos 450 folículos serán ovulados a lo largo de la vida reproductiva de la mujer, lo que causará que su número vaya disminuyendo hasta llegar a ser menor de 1.000 en la menopausia (40-43) (Figura 2).

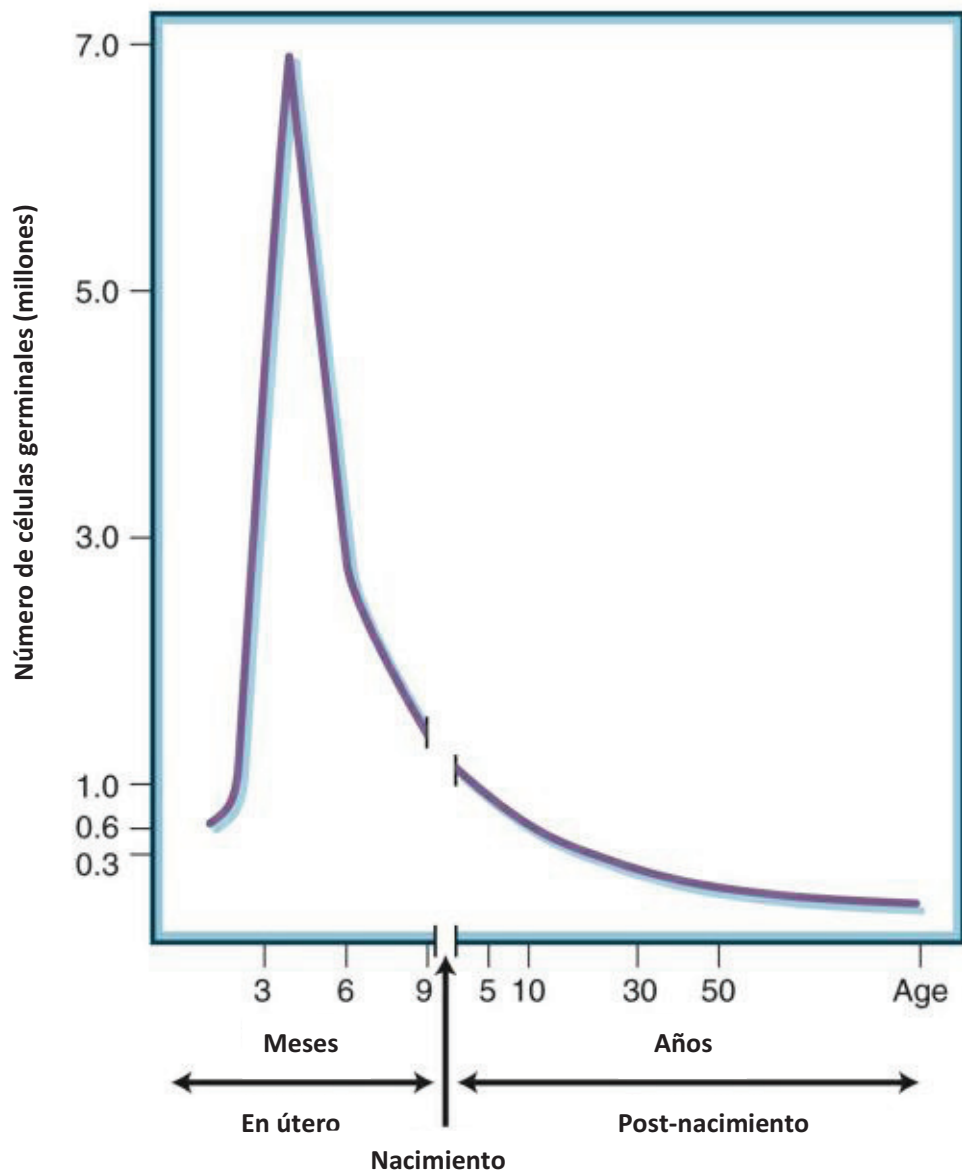


Figura 2: Cambios dependientes de la edad en el número de células germinales. Imagen obtenida a partir de Baker TG (38).

Como se comentó anteriormente, no solo el número de folículos primordiales se ve afectado por el aumento de la edad de la mujer si no también la calidad ovocitaria. El deterioro de la calidad se debe principalmente a anomalías en la meiosis lo que provoca un aumento en la tasa de aneuploidías, esto es debido a la acumulación de daños en el ADN del ovocito a medida que aumenta la edad de la mujer (43-46). Algunos investigadores (47,48) han visto que la calidad ovocitaria se establece durante la vida fetal y que los ovocitos de mejor calidad son seleccionados antes mientras que los de peor calidad serán seleccionados al final. Todo esto lleva a pensar que los efectos de la edad en la calidad de los ovocitos estarían mediados por el acortamiento de los telómeros provocando disrupciones del huso meiótico. Como la actividad telomerasa es apenas inexistente durante la ovogénesis tardía, la longitud de los telómeros será determinada en el periodo fetal. De acuerdo a lo anterior, los ovocitos que se ovularán en edades tardías habrán sido originados más tarde durante la ovogénesis fetal y además tendrán los telómeros más cortos que los que se ovularán en edades más tempranas.

Sin embargo, la reserva ovárica no es igual en todas las mujeres, además en cada mujer el número de folículos disminuirá a diferente velocidad. La disminución prematura de la reserva ovárica es una de las principales causas de la baja respuesta, esta disminución prematura puede deberse a una deficiencia inicial de folículos primordiales causada por alteraciones en los mecanismos reguladores de los procesos implicados en su formación o por una aceleración en la apoptosis folicular (49).

Pero el descenso prematuro de la reserva ovárica no solo depende de estos dos factores, sino que también puede ser debido a causas genéticas (Síndrome de Turner, Trisomía X, Síndrome del X-frágil, mutaciones en receptores de FSH, etc.), autoinmunes, iatrógenas (radioterapia, quimioterapia, cirugías, endometriosis, etc.) o tóxicas (39).

Aunque la principal causa que explica la baja respuesta sea la existencia de una reserva ovárica disminuida se han estudiado otras hipótesis, sobre todo para poder explicar por qué mujeres jóvenes (con menos de 35 años) responden pobremente a la estimulación ovárica. Estas hipótesis son:

- Trastornos de la angiogénesis ovárica y folicular: se ha visto en mujeres con baja respuesta que no poseen una apropiada red vascular para la

distribución de la FSH y que tienen una menor capacidad para producir factores angiogénicos (50). También se ha observado una reducción del flujo sanguíneo y vascularización perifolicular lo que implica una menor difusión de hCG hacia el líquido folicular por lo que estas mujeres requerirán mayor dosis de gonadotropina (51).

- Alteraciones relacionadas con la FSH: existencia de moléculas que inhiben la unión de la FSH a su receptor o que alteran el número y/o el funcionamiento de los receptores de la FSH en las células de la granulosa (50,52,53). También se incluyen polimorfismos de los receptores de la FSH (54).
- Autoinmunidad: presencia de anticuerpos contra componentes celulares de los folículos que actuarían inhibiendo el crecimiento de las células de la granulosa o bloqueando los receptores de FSH (50).

Independientemente del criterio que se utilice para definir a estas pacientes y del origen de la baja respuesta, si que está demostrado que en estas mujeres la baja respuesta ovárica no solo se asocia con una menor cantidad de ovocitos recuperados sino que también implica una mayor tasa de aneuploidías, una menor tasa de embarazo y una mayor tasa de aborto y malformaciones fetales respecto a una respuesta ovárica normal (7, 55-60). Además es una de las principales causas de cancelación de ciclos de Reproducción Asistida.

Por este motivo, en muchos casos el tratamiento que se les propone es la donación de ovocitos. La ovodonación permite conseguir una gestación en cualquier mujer independientemente de su edad, de la ausencia de ovocitos o del funcionamiento de estos. Según los registros de la ESHRE, en España el 12,2 % de los ciclos de ovodonación se realizaron en pacientes por encima de los 40 años (61). Además, P. Barri destaca que en España se consiguen un 56% de gestaciones por ovodonación (62). Sin embargo, esta opción no siempre es aceptada ya bien sea por motivos personales (creencias religiosas, convicciones personales, ética, etc.) o por razones económicas ya que en la mayoría de las comunidades españolas no está contemplado por la seguridad social.

2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

La idea principal en la que se basa este estudio es que la fertilidad femenina disminuye con la edad lo cual implica una disminución de la reserva ovárica y un empeoramiento en la calidad ovocitaria.

Según lo anterior, los ovocitos de las mujeres de mayor edad serán de peor calidad y esto afectará a los resultados obtenidos en las Técnicas de Reproducción Asistida.

Otra de las ideas, es que ni la reserva ovárica ni la velocidad a la que esta disminuye es la misma en todas las mujeres. Esto explica por qué hay mujeres jóvenes en las que se recupera un bajo número de ovocitos.

También se tiene en cuenta que en muchos centros de reproducción se cancelan ciclos cuando una mujer presenta una baja respuesta a la estimulación ovárica, ofreciéndola como posible solución la donación de ovocitos.

En base a las ideas anteriores el objetivo de este trabajo es comprobar si la edad de las mujeres afecta a los resultados de las TRA, comprobando el efecto que tiene la edad sobre la calidad de los embriones, tasa de fecundación, de implantación, de embarazo, etc.

Además, a partir de los resultados obtenidos se analizará la posibilidad o no de indicar la donación de ovocitos a mujeres con baja respuesta independientemente de su edad.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

En este estudio se incluyeron los datos de 1346 punciones realizadas a 806 parejas que acudieron al Programa de Reproducción Asistida del Hospital Marqués de Valdecilla entre Agosto del 2003 y Diciembre del 2010.

La baja respondedora se definió como aquella mujer que tras un tratamiento de estimulación ovárica, obtuvo 5 ovocitos o menos después de la punción folicular. Según este criterio cada paciente se clasificó como baja respondedora (n= 317 punciones) o normo-respondedora (n= 1029 punciones).

Los ovocitos recuperados tras la punción fueron fertilizados por fecundación in vitro convencional (FIV) o microinyección intracitoplasmática (ICSI), obteniéndose un total de 6596 embriones de los cuales 2850 se transfirieron, ya fuera en D+2 (n= 1078 transferencias) o D+3 (n= 186 transferencias).

A. Estimulación ovárica:

El tratamiento para la estimulación ovárica de las pacientes se realizó con agonistas o antagonistas de la GnRH.

Para el tratamiento con agonistas (Figura 3A) el protocolo utilizado fue descrito por Navarro y col (63), la estimulación ovárica se realizó con la administración de acetato de leuprolide (Procrin ® Laboratorios Abbott. Madrid) a una dosis de 0,2 mg/día desde la fase lútea (día 21) del ciclo previo al de estimulación. Una vez se comprobó la supresión hipofisaria se inició la administración de FSH recombinante (Gonal-F ® Lab. Serono. Madrid; Puregon ® Lab. Organon. Barcelona) a una dosis adaptada a cada paciente durante 5 días, a partir de los cuales esta se ajustó en función de la respuesta individual.

En cambio, en el tratamiento con antagonistas (Figura 3B), la estimulación con FSH recombinante (Gonal-F ® Lab. Serono. Madrid; Puregon ® Lab. Organon. Barcelona) se inició el día dos del ciclo (la dosis varía según la paciente), estudiándose la respuesta individual a partir del día 6 para el ajuste de la dosis. Entre el 5º-7º día del

ciclo o a partir de la detección ecográfica de al menos un folículo de 12 mm o mayor se comenzó la administración del antagonista (Orgalutran® Lab. Organon. Barcelona) a una dosis de 0,25 mg/día hasta el final del tratamiento (64).

En ambos tratamientos, el control del desarrollo folicular se realizó con determinaciones de estradiol sérico y ecografía transvaginal. Cuando se observó una adecuada madurez folicular, es decir, presencia de al menos 4 folículos mayores de 16 mm y unos niveles adecuados de estradiol para dicho desarrollo folicular, se inició la administración de 10.000 UI de Gonadotropina coriónica humana recombinante (Ovitrelle® Lab. Serono. Madrid) (63).

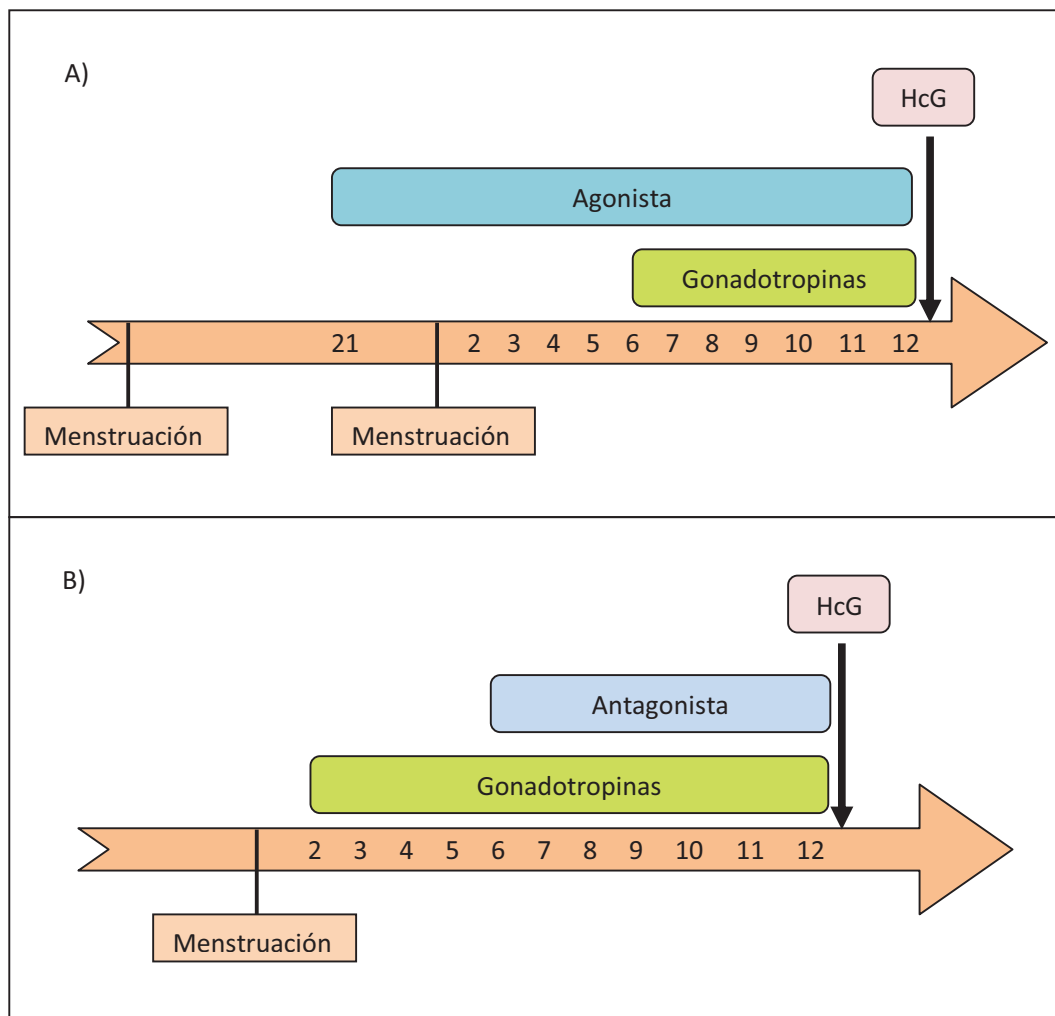


Figura 3: A) Protocolo de estimulación con agonistas de la GnRH. B) Protocolo de estimulación con antagonistas de la GnRH.

B. Procedimientos de laboratorio:

a. Recuperación de los ovocitos:

A las 35 horas de la administración de la hCG se realizó la punción folicular. Los ovocitos se localizaron en el líquido folicular y se lavaron con Flushing médium (®Medicult. Dinamarca), después se incubaron en medio IVF médium (®Medicult. Dinamarca) a 37°C y 6% CO₂ durante 3 horas aproximadamente.

b. Tratamiento de las muestras seminales:

Las muestras de semen utilizadas se capacitaron mediante la técnica del Swim-up. Para la valoración de la muestra en fresco se utilizó una cámara Makler y un microscopio óptico (20x) determinándose la concentración y la motilidad espermática. Según estos valores se realizó Swim-up directo o inverso para su capacitación.

Para realizar el Swim-up directo se lavaron las muestras con Flushing médium (®Medicult. Dinamarca) y se centrifugaron a 300 g 10 minutos. Dependiendo de la cantidad de pellet que se obtuvo se añadió entre 150 y 400 µl de IVF médium (®Medicult. Dinamarca) y se incubaron durante 1 hora a 37°C y 6% CO₂. Por último, tras la hora de incubación se recuperó el sobrenadante y se valoró en la cámara Makler la concentración y la motilidad espermática de la muestra capacitada.

Por el contrario, para realizar el Swim-up inverso, primero se incubó la muestra con Flushing médium (®Medicult. Dinamarca) durante una hora a 37°C y 6% CO₂. Transcurrido el tiempo de incubación se recogió el sobrenadante, se lavó Flushing médium (®Medicult. Dinamarca) y se centrifugó a 300 g durante 10 minutos. Finalmente se eliminó el sobrenadante, se añadió al pellet entre 150-400 µl de IVF médium (®Medicult. Dinamarca) y se observó en la cámara Makler para valorar la concentración y la motilidad espermática de la muestra capacitada.

c. Fertilización de los ovocitos:

Tras las 3 horas de incubación los ovocitos fueron tratados según la técnica de fecundación seleccionada, Fecundación *in vitro* (FIV) o Inyección Intracitoplasmática (ICSI). Los ovocitos que se utilizaron para FIV se inseminaron con $0,05 \cdot 10^6$ espermatozoides/ml por ovocito.

En cambio, para realizar la ICSI, los ovocitos fueron decumulados con hialuronidasa y con pipetas de decumulación. Una vez desnudados los ovocitos que estaban en Metafase II (MII) fueron microinyectados e incubados en medio ISM-1 (®Medicult. Dinamarca).

d. Valoración de la fecundación:

Independientemente de la técnica utilizada, la valoración de la fecundación se realizó a las 18 horas después de la inseminación o microinyección. Esta fue confirmada por la presencia de dos pronúcleos y por la extrusión del segundo corpúsculo polar.

Los embriones obtenidos se incubaron en un nuevo medio de cultivo (ISMI®Medicult.Dinamarca).

e. Valoración de la calidad embrionaria y transferencia:

A las 48 horas de la punción folicular (D+2) los embriones se clasificaron según su ritmo de división (número de blastómeras) y una serie de parámetros morfológicos como la regularidad de las blastómeras, el % de fragmentación, multinucleación, etc.

De todos los embriones obtenidos, se seleccionaron entre los de mejor calidad, de 1 a 3 embriones según la decisión de la pareja. Esos embriones se transfirieron bajo guía ecográfica en D+2 o D+3, en este último caso la clasificación embrionaria se llevó a cabo a las 72 horas de la punción.

f. Valoración de la gestación:

Para determinar la gestación se valoraron los niveles en sangre de β -hCG pasados 12 días de la transferencia embrionaria. Se confirmó como embarazo positivo aquel en el que se detectó el latido cardiaco por ecografía transcurridas 7 semanas de la punción folicular.

C. Definición de las variables:

- a. Edad de la paciente el día de la punción.
- b. Número de ovocitos obtenidos por punción.
- c. Número de M II: nº ovocitos maduros por punción.

- d. Número de ovocitos fecundados: aquellos que presenten 2 pronúcleos (2PN) y 2 corpúsculos polares (2CP) tras 18 horas post-fertilización.
- e. % Fecundación: n° total de 2PN2CP x 100 / n° total de MII.
- f. Número de embriones transferidos: n° embriones por transferencia embrionaria.
- g. % Transferencia: n° total de transferencias x 100 / n° total de punciones.
- h. Calidad de los embriones transferidos:
 - 1. Buena calidad: se transfieren solo embriones que en D+2 tienen entre 2 y 4 células de igual tamaño. No presentan blastómeras multinucleadas y tienen menos de un 25% de fragmentación.
 - 2. Mala calidad: los embriones transferidos no cumplen los criterios anteriores.
 - 3. Calidad mixta: al menos uno de los embriones transferidos es de buena calidad.
- i. Tasa de embarazo: n° embarazos positivos x 100 / n° transferencias embrionarias.
- j. Número de sacos: n° sacos embrionarios con latido fetal que se observan en el embarazo.
- k. % Implantación: n° total de sacos embrionarios x 100 / n° total de embriones transferidos.
 - l. Número de nacimientos: n° total de nacimientos.
- m. Tasa de aborto: n° abortos x 100 / n° embarazos.

D. Definición de los grupos de estudio:

- a. Estudio 1: Estudio de la población general.

En este estudio se incluyeron las 1346 punciones realizadas a 806 parejas en el periodo de estudio y se compararon los resultados obtenidos según la respuesta de las mujeres al tratamiento de estimulación ovárica.

- Grupo 1A: incluye a las mujeres normo-respondedoras (n= 1029 punciones).
- Grupo 1B: incluye a las mujeres baja respondedoras (n= 317 punciones).

b. Estudio 2: Estudio comparativo en la población de mujeres con edad menor o igual a 35 años según su respuesta al tratamiento.

En este estudio se incluyeron 739 punciones correspondientes a mujeres de 35 años o menores.

- Grupo 2A: mujeres con respuesta normal de 35 años o menores (n= 586 punciones).
- Grupo 2B: mujeres con baja respuesta de 35 años o menores (n= 153 punciones).

c. Estudio 3: Estudio comparativo en la población de mujeres con edad mayor de 35 años según su respuesta al tratamiento.

En este estudio se incluyeron 607 punciones correspondientes a mujeres de más de 35 años.

- Grupo 3A: mujeres normo-respondedoras de más de 35 años (n= 443 punciones).
- Grupo 3B: mujeres bajas respondedoras de más de 35 años (n= 164 punciones).

d. Estudio 4: Estudio comparativo en la población de mujeres bajas respondedoras según la edad.

En este estudio se incluyeron las 317 punciones correspondientes a las mujeres bajas respondedoras.

- Grupo 4A: mujeres bajas respondedoras de 35 años o menores (n= 153 punciones).

- Grupo 4B: mujeres bajas respondedoras de más de 35 años (n= 164 punciones).

E. Estadística:

La comparación estadística de los datos se realizó mediante el test T-student y la prueba de Chi-cuadrado. Los resultados se consideraron estadísticamente significativos cuando $p < 0,05$. El análisis de los datos se llevó a cabo con el paquete estadístico IBM SPSS Statistics 20.

4. RESULTADOS

A. Estudio 1:

Este estudio comprende un total de 1346 punciones, de las cuales a 1257 se les realizó transferencia embrionaria y que corresponden a 806 parejas. De entre todas las punciones, 1029 son de mujeres con una respuesta normal a la estimulación ovárica, es decir, mujeres que obtuvieron más de 5 ovocitos en la punción folicular. Por otro lado, 317 punciones corresponden a mujeres con baja respuesta a la estimulación, en las cuales se recuperaron 5 ovocitos o menos en la punción.

Después de realizar el análisis, se observaron diferencias significativas entre los dos grupos en la media de edad, número de ovocitos por punción, número de metafases II y número de 2PN2CP (Tabla 1), siendo estos resultados significativamente mayores en el grupo de normo-respondedoras a excepción de la edad.

También se observaron diferencias significativas en el número de embriones transferidos pero no en el número de sacos ni de nacimientos (Tabla 2).

Si se observaron diferencias significativas cuando se comparó la calidad embrionaria de los embriones transferidos entre los dos grupos (Tabla 3), contemplándose un mayor porcentaje de embriones de buena calidad en las mujeres normo-respondedoras mientras que las bajas respondedoras presentar mayor porcentaje de embriones de mala y mixta calidad.

En cuanto a la tasa de transferencia sí se vieron diferencias significativas entre los grupos siendo mayor en las normo-respondedoras, lo cual no ocurre con la tasa de implantación que aunque no existen diferencias significativas entre los grupos esta tiende a ser ligeramente mayor en estas mujeres. La tasa de fecundación tampoco es significativamente diferente entre los grupos, pero tiende a ser mayor en las mujeres bajas respondedoras (Tabla 4).

Por último, también existen diferencias significativas en la tasa de embarazo, la cual es significativamente mayor en las mujeres con respuesta normal mientras que no se encontraron diferencias significativas en la tasa de aborto aunque en estas mujeres es ligeramente menor en relación a las bajas respondedoras (Tabla 5).

	Grupo de estudio		P valor
	Normo-respondedoras	Baja respondedoras	
Edad	34,65 ± 3,50	35,39 ± 3,64	p < 0,05
Nº Ovocitos	11,83 ± 4,82	3,51 ± 1,48	p < 0,05
Nº Metafases II	9,52 ± 4,51	2,89 ± 1,46	p < 0,05
Nº 2PN2CP	5,85 ± 3,44	1,83 ± 1,25	p < 0,05
<i>T-student; media ± desviación típica; NS: no significativo. p < 0,05: significativo</i>			

Tabla 1: Comparación media de edad, nº ovocitos, nº metafases II y nº 2PN2CP.

	Grupo de estudio		P valor
	Normo-respondedoras	Baja respondedoras	
Nº Embriones transferidos	2,35 ± 0,57	1,94 ± 0,74	p < 0,05
Nº Sacos	1,33 ± 0,52	1,26 ± 0,53	NS
Nº Nacimientos	1,09 ± 0,64	0,94 ± 0,67	NS
<i>T-student; media ± desviación típica; NS: no significativo. p < 0,05: significativo</i>			

Tabla 2: Comparación media nº embriones transferidos, nº sacos y nº nacimientos.

	Grupo de estudio		P valor
	Normo-respondedoras	Baja respondedoras	
Calidad 1 (Buena)	518 (52,6 %)	92 (35,5 %)	p < 0,05
Calidad 2 (Mala)	197 (20,0 %)	81 (31,3 %)	p < 0,05
Calidad 3 (Mixta)	270 (27,4 %)	86 (33,2 %)	p < 0,05
<i>Chi-cuadrado; NS: no significativo. p < 0,05: significativo</i>			

Tabla 3: Comparación de la calidad de los embriones transferidos.

	Grupo de estudio		P valor
	Normo-respondedoras	Baja respondedoras	
% Fecundación	6017 (61,4 %)	578 (63,1 %)	NS
% Transferencia	995 (96,7 %)	262 (82,6 %)	p < 0,05
% Implantación	407 (17,4 %)	63 (12,4 %)	NS
<i>Chi-cuadrado; NS: no significativo. p < 0,05: significativo</i>			

Tabla 4: Comparación tasa de fecundación, tasa de transferencia y tasa de implantación.

	Grupo de estudio		P valor
	Normo-respondedoras	Baja respondedoras	
% Embarazo	307 (30,9 %)	50 (19,1 %)	$p < 0,05$
% Aborto	41 (13,4 %)	9 (18,0 %)	NS

Chi-cuadrado; NS: no significativo. $p < 0,05$: significativo

Tabla 5: Comparación tasa de embarazo y tasa de aborto.

B. Estudio 2:

Se incluyeron 739 punciones realizadas a mujeres de 35 años o menores, de las cuales 586 tuvieron una respuesta normal al tratamiento (más de 5 ovocitos) y 153 que respondieron pobremente (5 ovocitos o menos). Del total de punciones realizadas 689 tuvieron transferencia embrionaria.

No se observaron diferencias en la media de edad pero si se vio que la media de ovocitos, metafases II y 2PN2CP eran significativamente más bajas en el grupo de las bajas respondedoras ya que parten de un número menor de ovocitos (Tabla 6).

La media de embriones transferidos es significativamente mayor en las normo-respondedoras mientras que la media del número de sacos y nacimientos no presenta diferencias significativas entre los grupos (Tabla 7).

El porcentaje de embriones transferidos de buena calidad es significativamente menor en las mujeres con baja respuesta, al contrario de lo que sucede con el porcentaje de embriones transferidos de mala y mixta calidad que en estas mujeres es significativamente mayor en comparación con las normo-respondedoras (Tabla 8).

No se encontraron diferencias significativas en la tasa de fecundación. Tampoco hay diferencias en la tasa de implantación aunque en este caso es ligeramente mayor en las normo-respondedoras. En cambio, si se encontraron diferencias significativas entre los dos grupos al comparar la tasa de transferencia, siendo esta mucho mayor en las mujeres con respuesta normal (Tabla 9).

Finalmente, la tasa de embarazo fue significativamente mayor en las mujeres con buena respuesta mientras que la tasa de aborto no mostró diferencias significativas pero si se observó que es mayor en las mujeres con baja respuesta (Tabla 10).

	Grupo de estudio		P valor
	Normo-respondedoras ≤ 35 años	Baja respondedoras ≤ 35 años	
Edad	32,21 ± 2,49	32,30 ± 2,44	NS
Nº Ovocitos	12,30 ± 4,99	3,42 ± 1,51	ρ < 0,05
Nº Metafases II	9,96 ± 4,68	2,73 ± 1,50	ρ < 0,05
Nº 2PN2CP	6,20 ± 3,65	1,77 ± 1,20	ρ < 0,05
<i>T-student; media ± desviación típica; NS: no significativo. ρ < 0,05: significativo</i>			

Tabla 6: Comparación media de edad, nº ovocitos, nº metafases II y nº 2PN2CP.

	Grupo de estudio		P valor
	Normo-respondedoras ≤ 35 años	Baja respondedoras ≤ 35 años	
Nº Embriones transferidos	2,23 ± 0,53	1,86 ± 0,69	ρ < 0,05
Nº Sacos	1,36 ± 0,52	1,42 ± 0,64	NS
Nº Nacimientos	1,15 ± 0,61	1,04 ± 0,79	NS
<i>T-student; media ± desviación típica; NS: no significativo. ρ < 0,05: significativo</i>			

Tabla 7: Comparación media nº embriones transferidos, nº sacos y nº nacimientos.

	Grupo de estudio		P valor
	Normo-respondedoras ≤ 35 años	Baja respondedoras ≤ 35 años	
Calidad 1 (Buena)	319 (57,4 %)	49 (39,5 %)	ρ < 0,05
Calidad 2 (Mala)	105 (18,9 %)	39 (31,5 %)	ρ < 0,05
Calidad 3 (Mixta)	132 (23,7 %)	36 (29,0 %)	ρ < 0,05
<i>Chi-cuadrado; NS: no significativo. ρ < 0,05: significativo</i>			

Tabla 8: Comparación de la calidad de los embriones transferidos.

	Grupo de estudio		P valor
	Normo-respondedoras ≤ 35 años	Baja respondedoras ≤ 35 años	
% Fecundación	3634 (62,3 %)	271 (65,0 %)	NS
% Transferencia	563 (96,1 %)	126 (82,4 %)	ρ < 0,05
% Implantación	248 (19,8 %)	37 (15,8 %)	NS
<i>Chi-cuadrado; NS: no significativo. ρ < 0,05: significativo</i>			

Tabla 9: Comparación tasa de fecundación, tasa de transferencia y tasa de implantación.

	Grupo de estudio		P valor
	Normo-respondedoras ≤ 35 años	Baja respondedoras ≤ 35 años	
% Embarazo	183 (32,5 %)	26 (20,6 %)	$\rho < 0,05$
% Aborto	17 (9,3 %)	5 (19,2 %)	NS

Chi-cuadrado; NS: no significativo. $\rho < 0,05$: significativo

Tabla 10: Comparación tasa de embarazo y tasa de aborto.

C. Estudio 3:

Se llevaron a cabo 568 transferencias embrionarias de un total de 607 punciones realizadas a mujeres de más de 35 años, de las cuales 443 corresponden a mujeres con buena respuesta al tratamiento (más de 5 ovocitos) y 164 a mujeres con baja respuesta (5 ovocitos o menos).

Se encontraron diferencias significativas en la media de edad, número de ovocitos, número de metafases II y número de 2PN2CP, salvo en la edad el resto de resultados fueron significativamente mayores en las mujeres normo-respondedoras (Tabla 11).

También es significativamente mayor el número medio de embriones transferidos en las mujeres con respuesta normal, en cambio, no se encontraron diferencias significativas en la media del número de sacos y de nacimientos (Tabla 12).

Se observó que el porcentaje de embriones transferidos de buena calidad es significativamente mayor en las mujeres normo-respondedoras, sin embargo, el porcentaje de embriones transferidos de mala y mixta calidad en estas mujeres es significativamente menor que en las mujeres con baja respuesta (Tabla 13).

La tasa de fecundación no mostró diferencias significativas mientras que las tasas de transferencia e implantación fueron significativamente superiores en las mujeres con respuesta normal (Tabla 14).

Por último, la tasa de embarazo también fue significativamente superior en las normo-respondedoras pero no se encontraron diferencias en la tasa de aborto aunque esta es ligeramente mayor en estas mujeres (Tabla 15).

	Grupo de estudio		P valor
	Normo-respondedoras > 35 años	Baja respondedoras > 35 años	
Edad	37,87 ± 1,42	38,27 ± 1,70	$\rho < 0,05$
Nº Ovocitos	12,22 ± 4,53	3,60 ± 1,45	$\rho < 0,05$
Nº Metafases II	8,93 ± 4,21	3,04 ± 1,40	$\rho < 0,05$
Nº 2PN2CP	5,38 ± 3,07	1,88 ± 1,30	$\rho < 0,05$
<i>T-student; media ± desviación típica; NS: no significativo. $\rho < 0,05$: significativo</i>			

Tabla 11: Comparación media de edad, nº ovocitos, nº metafases II y nº 2PN2CP.

	Grupo de estudio		P valor
	Normo-respondedoras > 35 años	Baja respondedoras > 35 años	
Nº Embriones transferidos	2,52 ± 0,58	2,01 ± 0,78	$\rho < 0,05$
Nº Sacos	1,36 ± 0,52	1,08 ± 0,28	NS
Nº Nacimientos	0,99 ± 0,68	0,82 ± 0,50	NS
<i>T-student; media ± desviación típica; NS: no significativo. $\rho < 0,05$: significativo</i>			

Tabla 12: Comparación media nº embriones transferidos, nº sacos y nº nacimientos.

	Grupo de estudio		P valor
	Normo-respondedoras > 35 años	Baja respondedoras > 35 años	
Calidad 1 (Buena)	199 (46,4 %)	43 (31,9 %)	$\rho < 0,05$
Calidad 2 (Mala)	92 (21,4 %)	42 (31,1 %)	$\rho < 0,05$
Calidad 3 (Mixta)	138 (32,2 %)	50 (37,0 %)	$\rho < 0,05$
<i>Chi-cuadrado; NS: no significativo. $\rho < 0,05$: significativo</i>			

Tabla 13: Comparación de la calidad de los embriones transferidos.

	Grupo de estudio		P valor
	Normo-respondedoras > 35 años	Baja respondedoras > 35 años	
% Fecundación	2383 (60,2 %)	308 (61,7 %)	NS
% Transferencia	432 (97,5 %)	136 (82,9 %)	$\rho < 0,05$
% Implantación	159 (14,6 %)	26 (9,5 %)	$\rho < 0,05$
<i>Chi-cuadrado; NS: no significativo. $\rho < 0,05$: significativo</i>			

Tabla 14: Comparación tasa de fecundación, tasa de transferencia y tasa de implantación.

	Grupo de estudio		P valor
	Normo-respondedoras > 35 años	Baja respondedoras > 35 años	
% Embarazo	124 (28,7 %)	24 (17,7 %)	$\rho < 0,05$
% Aborto	24 (19,3 %)	4 (16,7 %)	NS

Chi-cuadrado; NS: no significativo. $\rho < 0,05$: significativo

Tabla 15: Comparación tasa de embarazo y tasa de aborto.

D. Estudio 4:

Dentro de las 317 punciones realizadas a mujeres bajas respondedoras, 153 corresponden a aquellas mujeres de 35 años o menos mientras que el resto, 164 punciones, son de mujeres mayores de 35 años. De las 317 punciones se realizaron 262 transferencias embrionarias.

Ni la media del número de ovocitos, número de metafases II y número de 2PN2CP resultaron ser significativamente diferentes entre ambos grupos (Tabla 16). El mismo resultado se obtuvo con la media del número de embriones transferidos y de nacimientos, sin embargo, si fue significativamente diferente la media del número de sacos entre ambos grupos (Tabla 17).

No se encontraron diferencias significativas en la calidad de los embriones transferidos pero el porcentaje de embriones de buena calidad en las mujeres bajas respondedoras de 35 años o menores es ligeramente superior que en las mujeres mayores de 35 años. En cambio, el porcentaje de embriones de calidad mixta tiende a ser mayor en las mujeres de más de 35 años, mientras que el porcentaje de embriones de mala calidad es similar en ambos grupos (Tabla 18).

En cuanto a las tasas de fecundación, transferencia e implantación tampoco se observaron diferencias significativas entre los grupos (Tabla 19). La tasa de transferencia es similar entre ambos grupos mientras que las tasas de fecundación e implantación son ligeramente superiores en las mujeres bajas respondedoras de 35 años o menores.

Finalmente, aunque no se encontraron diferencias significativas en las tasas de embarazo y aborto también se observó que ambas tienden a ser superiores en las mujeres bajas respondedoras de 35 años o menores (Tabla 20).

	Grupo de estudio		P valor
	Baja respondedoras ≤ 35 años	Baja respondedoras > 35 años	
Edad	32,30 ± 2,44	38,27 ± 1,70	$\rho < 0,05$
Nº Ovocitos	3,42 ± 1,51	3,60 ± 1,45	NS
Nº Metafases II	2,73 ± 1,50	3,04 ± 1,40	NS
Nº 2PN2CP	1,77 ± 1,20	1,88 ± 1,30	NS
<i>T-student; media ± desviación típica; NS: no significativo. $\rho < 0,05$: significativo</i>			

Tabla 16: Comparación media de edad, nº ovocitos, nº metafases II y nº 2PN2CP.

	Grupo de estudio		P valor
	Baja respondedoras ≤ 35 años	Baja respondedoras > 35 años	
Nº Embriones transferidos	1,86 ± 0,69	2,01 ± 0,78	NS
Nº Sacos	1,42 ± 0,64	1,08 ± 0,28	$\rho < 0,05$
Nº Nacimientos	1,04 ± 0,79	0,82 ± 0,50	NS
<i>T-student; media ± desviación típica; NS: no significativo. $\rho < 0,05$: significativo</i>			

Tabla 17: Comparación media nº embriones transferidos, nº sacos y nº nacimientos.

	Grupo de estudio		P valor
	Baja respondedoras ≤ 35 años	Baja respondedoras > 35 años	
Calidad 1 (Buena)	49 (39,5 %)	43 (31,9 %)	NS
Calidad 2 (Mala)	39 (31,5 %)	42 (31,1 %)	NS
Calidad 3 (Mixta)	36 (29,0 %)	50 (37,0 %)	NS
<i>Chi-cuadrado; NS: no significativo. $\rho < 0,05$: significativo</i>			

Tabla 18: Comparación de la calidad de los embriones transferidos.

	Grupo de estudio		P valor
	Baja respondedoras ≤ 35 años	Baja respondedoras > 35 años	
% Fecundación	271 (65,0 %)	308 (61,7 %)	NS
% Transferencia	126 (82,4 %)	136 (82,9 %)	NS
% Implantación	37 (15,8 %)	26 (9,5 %)	NS
<i>Chi-cuadrado; NS: no significativo. $p < 0,05$: significativo</i>			

Tabla 19: Comparación tasa de fecundación, tasa de transferencia y tasa de implantación.

	Grupo de estudio		P valor
	Baja respondedoras ≤ 35 años	Baja respondedoras > 35 años	
% Embarazo	26 (20,6 %)	24 (17,7 %)	NS
% Aborto	5 (19,2 %)	4 (16,7 %)	NS
<i>Chi-cuadrado; NS: no significativo. $p < 0,05$: significativo</i>			

Tabla 20: Comparación tasa de embarazo y tasa de aborto.

5. DISCUSIÓN

A pesar de que no existe una definición universal a la hora de definir a una mujer baja respondedora, dos de los criterios más utilizados son el número de folículos y el número de ovocitos obtenidos tras realizar la punción folicular (7). Según la literatura se establece que una baja respondedora es aquella mujer que presenta menos de 3-5 folículos dominantes el día de la administración de la hCG y menos de 3-5 ovocitos tras la punción folicular (18, 19). En este estudio el criterio para definir al grupo de mujeres con baja respuesta a la estimulación ovárica es la obtención de 5 ovocitos o menos el día de la punción folicular. Se ha seleccionado dicho criterio ya que este trabajo se basa en los datos obtenidos en el laboratorio de embriología de la unidad de reproducción. Aunque existen más parámetros que ayudan a definir a una baja respondedora, como pueden ser los elevados niveles de FSH basal y Estradiol en la fase folicular temprana (10, 21, 65), bajos niveles de inhibina B (25) o los niveles de AMH (26), en este estudio no se han tenido en cuenta, ya no solo porque no son valores obtenidos en el laboratorio sino porque muchas de esas pruebas no se realizan en esta unidad debido a su elevado coste económico. Además se ha establecido que la prevalencia de la baja respuesta en pacientes sometidas a tratamientos de reproducción asistida varía de 9 a 24% (8-12), siendo en esta Unidad del 23,5 %. Este valor aunque se encuentra dentro del rango establecido está cercano al límite, lo cual puede deberse al tipo de población, ya que como la Unidad no dispone de un programa de donación de ovocitos, se tratan muchas pacientes que en otras clínicas serían derivadas directamente a un tratamiento de ovodonación.

El principal problema, a la hora de someterse a TRA, de las bajas respondedoras en comparación con las mujeres con una respuesta normal al tratamiento es que al recuperarse un bajo número de ovocitos, tanto el número de metafases II como el de embriones es también muy bajo. Esto implica que la cohorte embrionaria disponible a la hora de seleccionar los embriones que se van a transferir es limitada y lo cual conlleva que en ocasiones se tengan que transferir el único o los únicos embriones existentes pudiendo estos ser de mala calidad, es decir, al tener menos ovocitos tendrán menos embriones de buena calidad susceptibles de ser transferidos (66) lo cual influye principalmente en la tasa de embarazo como se verá más adelante.

Sin embargo, aunque existan grandes diferencias en cuanto al número de ovocitos la tasa de fecundación en mujeres bajas respondedoras y normo-respondedoras es similar. Según Swann et al (67) y Saunders et al (68) esta similitud se puede deber a que la tasa de fecundación no solo depende del ovocito sino que también está implicada la calidad del espermatozoide. Resultados similares se encontraron en este estudio, ya que no se obtuvieron diferencias en las tasas de fecundación al comparar ambos grupos ya sea de forma general o por grupos de edad.

En nuestro estudio se observan diferencias en relación a la calidad de los embriones transferidos, en donde el grupo de mujeres con respuesta normal presenta un mayor porcentaje de embriones de buena calidad que las mujeres con baja respuesta ya se compare la población general o según su edad. Lo mismo ocurre con el porcentaje de embriones de la mala calidad, el cual es significativamente mayor en las mujeres con baja respuesta. Lógicamente, estos resultados son debidos a la limitación a la hora de poder seleccionar los embriones que van a ser transferidos, ya que las mujeres normo-respondedoras por lo general tienen mayor número de embriones pudiéndose seleccionar embriones de buena calidad. Por el contrario, en las mujeres bajas respondedoras su reducida cohorte embrionaria, en ocasiones no permite seleccionar los mejores embriones para la transferencia, teniéndose que transferir todos los disponibles aunque estos sean de mala calidad. Todo esto también influye en el número de embriones transferidos, valor que es significativamente menor en bajas respondedoras, ya que en muchas ocasiones estas mujeres tienen un único embrión para ser transferido.

A pesar de que la tasa de fecundación no presenta diferencias entre los grupos si se ha encontrado que el bajo número de embriones disponibles para ser transferidos influye en la tasa de embarazo, la cual es significativamente menor en las mujeres bajas respondedoras.

También se observa un ligero descenso en la tasa de implantación en las mujeres con baja respuesta. Estas diferencias no resultaron significativas cuando se comparó la población general y la de menores de 35 años lo que indica que el bajo número de ovocitos no interfiere en la implantación de dichos ovocitos. Pero si resultaron ser significativas cuando se analizó la población de mayores de 35 años lo cual puede deberse a que en las mujeres de mayor edad se tiende a transferir un mayor número de

embriones ya que las tasas de embarazo disminuyen a partir de esa edad. Resultados que se relacionan con los obtenidos por Marcilio N et al (69) que relacionan esta tendencia hacia una tasa de implantación menor en las mujeres con baja respuesta, a que sus embriones pueden presentar un deterioro en su capacidad biológica de implantación.

Las diferencias en la tasa de embarazo podrían indicar diferencias en la tasa de aborto, sin embargo, los resultados obtenidos en este estudio indica que no hay diferencias significativas en la tasa de aborto, aunque se observa un ligero aumento de dicha tasa en las mujeres con baja respuesta. Estos resultados se podrían relacionar con los obtenidos por Gianaroli et al (12), en los que se relaciona una mayor tasa de aborto de las bajas respondedoras con un aumento en el número de monosomías y trisomías, las cuales son más frecuentes en las mujeres con baja respuesta.

Otro punto a tener en cuenta es que la baja respuesta a los tratamientos de estimulación ovárica no solo puede ser debida a una reserva ovárica disminuida sino que también está relacionado con una edad materna avanzada. Esto llevaría a pensar que todas las mujeres de edad avanzada serían bajas respondedoras y que todas las pacientes jóvenes tienen una buena respuesta a la estimulación ovárica. Sin embargo, nada de esto es cierto ya que existen otros factores que pueden causar una baja respuesta tales como trastornos de la angiogénesis ovárica y folicular, alteraciones relacionadas con la FSH, autoinmunidad, etc. (50). Aunque no hay que olvidar que si es cierto que la fertilidad femenina disminuye a medida que aumenta la edad (70,71).

Algunos autores atribuyen las bajas tasas de embarazo que se observan en pacientes de edad avanzada a una disminución de la receptividad endometrial (72), aunque la mayoría están de acuerdo en que la principal causa se encuentra en la pobre calidad ovocitaria (73). Los ovarios de las pacientes de mayor edad suelen responder pobremente a la estimulación cuando se comparan con los de mujeres jóvenes, produciéndose ovocitos de baja calidad y reduciéndose por tanto la tasa de fecundación (74).

En relación a lo anterior en este estudio si se observó que tanto la tasa de embarazo como la de fecundación de las mujeres con baja respuesta mayores de 35 años eran menores que las de las mujeres jóvenes, pero no resultaron ser estadísticamente significativas. También se vio que las mujeres bajas respondedoras jóvenes tienen

mayor porcentaje de embriones de buena calidad respecto a las mujeres de edad avanzada pero al igual que lo anterior las diferencias no fueron significativas. Posiblemente estas diferencias no significativas se deban a la reducida población de estudio disponible.

6. CONCLUSIONES

Tras realizar el estudio se puede concluir que las mujeres con baja respuesta a los tratamientos de estimulación ovárica tienen un número menor de ovocitos recuperados tras la punción folicular lo que implica que el número de embriones también sea bajo. Además la calidad de los embriones transferidos es peor en estas mujeres y esto es debido principalmente al bajo número de embriones y por tanto a una menor cohorte embrionaria en la que poder seleccionar embriones de buena calidad para transferir, lo que provoca principalmente una reducción en las tasas de embarazo.

Sin embargo, la similar tasa de implantación entre ambos grupos sugiere que los embriones transferidos implantan igual independientemente del número de ovocitos. El número de ovocitos obtenidos no debe de ser un factor a tener en cuenta a la hora de decidir el número de embriones que se van a transferir.

Los resultados obtenidos a la hora de comparar el grupo de bajas respondedoras según su edad, indican que tanto el porcentaje de embriones de buena calidad transferidos como las tasas de implantación y embarazo tienden a ser mayores en las mujeres menores de 35 años. Esto nos permite sugerir que el descenso en el número de ovocitos que se recuperan en mujeres de mayor edad va acompañado de un descenso en la calidad ovocitaria.

Por lo tanto, las mujeres bajas respondedoras de mayor edad tendrán mayores probabilidades de tener un embarazo siguiendo un programa de donación de ovocitos ya que debido a su edad el envejecimiento ovárico provoca que tengan un menor número de ovocitos y que estos sean de peor calidad, lo cual implica que sus tasas de embarazo sean bajas.

No obstante hay que considerar que el número de pacientes incluidas en este trabajo es bajo por lo que sería necesario trabajos similares con una población mayor.

7. REFERENCIAS

1. Raper V. World Health Organisation recognises infertility as a disease. *Bio News*, 2009; 536.
2. González MA, Ballesteros A. Donación y receptores de gametos. En García-Velasco JA, Guerra D. Cuadernos de Medicina Reproductiva. Psicología y Reproducción Asistida. ANARR. Nuevo Siglo S.L., 2012; Volumen 18, Número 1, p 29-42.
3. González R, Quintana J, Campos I, Magan R, Ballesteros A: Estudio de la mujer estéril. En Remohi J, Bellver J, Domingo J, Bosch E, Pellicer A. Manual práctico de esterilidad y reproducción humana. 3ª Edición. Mc Graw-Hill/ Interamericana de España, S.A.U, 2008; p1-9.
4. Menézo Y, Elder K. Desarrollo embrionario hasta blastocisto. En Remohi J, Pellicer A, Simón C, Navarro J. Reproducción Humana. 2ª de Madrid. Mc Graw-Hill/ Interamericana de España, S.A.U, 2002; p407-412.
5. Jiménez V, Bueta L, Hervas JL, Valdor C, Carrera T, Illarregui A. Clasificación de embriones a las 25-27 H post-fecundación en su elección para transferencia. *Revista Iberoamericana de Fertilidad*, 2005; Vol.22, nº 3; p173-179.
6. Perez Peña E, Gutierrez Gutierrez A, Perez Luna E, Rojas Romero F. Estimulación ovárica controlada. Tiempo de reevaluar. *Revista Mexicana de medicina de la reproducción*, 2010; 3 (1): 1-9.
7. Tarlatzis BC, Zepiridis L, Grimbizis G, Bontis J. Clinical management of low ovarian response to stimulation for IVF: a systematic review. *Human Reproduction Update*, 2003; 9(1): 61-76.
8. Keay, SD, Liversedge, NH, Mathur, RS, Jenkins, JM. Assited conception following poor ovarian response to gonodotrophin stimulation. *Br. J. Obstet. Gynaecol.*, 1997; 104: 521-527.
9. Ben-Rafael Z, Bider D, Dan V et al. Combined gonadotrotin releasing hormone agonist/human menopausal gonadotropin therapy (GnRH-a/hMG) in normal, high and poor responders to hMG. *Hum Reprod* 1991; 6: 918-21.

10. Surrey ES, Schoolcraft WB. Evaluating strategies for improving ovarian response of the poor responder undergoing assisted reproductive techniques. *Fertil Steril* 2000; 73: 667-76.
11. Jenkins JM, Davies DW, Devonport H et al. Comparison of 'poor' responders with 'good' responders using a standard busarelin/ human menopausal gonadotrophin regime for in vitro fertilization. *Hum Reprod* 1991; 6: 918-21.
12. Ferraretti AP, Gianaroli L, Magli MC, Bafaro G, Colacurci N. Female poor responders. *Mol Cell Endocrinol* 2000; 161: 59-66.
13. Garcia, JE, Jones, GS, Acosta, AA Wright, G. Human menopausal gonadotropin/human chorionic gonadotropin follicular maturation for oocyte aspiration: phase II, 1981. *Fertil Steril* 1983; 39: 174-9.
14. Land J, Yarmolinskaya MI, Dumoulin JC, Evers JL. High-dose human menopausal gonadotropin stimulation in poor responders does not improve in vitro fertilization outcome. *Fertil Steril* 1996; 65: 961-5.
15. Fridstrom M, Akerlof E, Sjoblom P, Hillensjo T. Serum levels of luteinizing and follicle-stimulating hormones in normal and poor-responding patients undergoing ovarian stimulation with urofollitropin after pituitary down regulation. *Gynecol Endocrinol* 1997; 11: 25-8.
16. Raga F, Bonilla-Musoles F, Casañ EM, Bonilla F. Recombinant follicle stimulating hormone stimulation in poor responders with normal basal concentrations of follicle stimulating hormone and oestradiol: improved reproductive outcome. *Hum Reprod* 1999;14: 1431-4.
17. Barri PN, Gallinelli A, Coroleu B, Parera N, Fenollera I, Gallostra I et al. Management of poor responders. In vitro Fertilization and Assisted Reproduction. Proceedings of the 10th World Congress of in vitro Fertilization and Assisted Reproduction. Bologna: Monduzzi Editore, 1997. p. 265-76.
18. Rombauts L, Suikkari AM, Mac Lachlan V, Trounson AO, Healy DL. Recruitment of follicles by recombinant human follicle-stimulating hormone commencing in the luteal phase of the ovarian cycle. *Fertil Steril* 1998; 69: 665-669.
19. Surrey ES, Bower JA, Hill DM, Ramsey J, Surrey MW. Clinical and endocrine effects of a microdose GnRH agonist flare regimen administered to poor responders who are undergoing in vitro fertilization. *Fertil Steril*, 1998; 69: 419-24.

20. Sibincic S, Milacic D, Jovanic N, Lazic N, Rodic A, Pavlovic T. Testing ovarian reserve with “poor responders”. *Int J Gyn Obst* 2000; 70: B34-B35.
21. Licciardi FL, Liu HC, Rosenwaks Z. Day 3 estradiol serum concentrations as prognosticators of ovarian stimulation response and pregnancy outcome in patients undergoing in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1995; 64: 991-4.
22. Smotrich DB, Widra EA, Gindoff PR, Levy MJ, Hall JL, Stillman RJ. Prognostic value of day 3 estradiol on in vitro fertilization outcome. *Fertil Steril* 1995; 64: 1136-40.
23. Lenton EA, Sexton L, Lee S, Cooke ID. Progressive changes in LH and FSH and LH:FSH ratio in women throughout reproductive life. *Maturitas* 1988; 10: 35-43.
24. Barroso G, Oehninger S, Monzo 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: 499-505.
25. Seifer DB, Lambert-Messerlian G, Hogan JW, Gardiner AC, Blazar AS, Berk CA. Day 3 serum inhibin-B is predictive of assisted reproductive technologies outcome. *Fertil Steril* 1997; 67: 110-4.
26. Muttukrishna S, Suharhono H, McGarrigle H, Sathanandan M. Inhibin B and anti-Mullerian hormone: markers of ovarian response in IVF/ICSI patients?. *Br J Obstet Gynecol* 2004; 111: 1248-53.
27. Muttukrishna S, McGarrigle H, Walkin R, Khadum I, Ranieri DM, Serhal P. Antral follicle count, anti-mullerian hormone and inhibin B: predictors of ovarian response in assisted reproductive technology?. *Br J Obstet Gynecol* 2005; 112: 1384-90.
28. Penarrubia J, Fabregues F, Manau D et al. Basal and stimulation day 5 anti-Mullerian hormone serum concentrations as predictors of ovarian response and pregnancy cycles stimulated with gonadotropin-releasing hormone agonist-gonadotropin treatment. *Hum Reprod* 2005; 20: 915-22.
29. Tanbo T, Dale PO, Lunde O, Norman N, Abyholm T. Prediction of response to controlled ovarian hyperstimulation: a comparison of basal and clomiphene citrate-stimulated follicle-stimulating hormone levels. *Fertil Steril* 1992; 57: 819-24.
30. Fanchin R, de Ziegler D, Olivennes F, Taieb J, Dzik A, Frydman R. Exogenous follicle stimulating hormone ovarian reserve test (EFORT): a simple and reliable

- screening test for detecting 'poor responders' in in vitro fertilization. *Hum Reprod* 1994; 9: 1607-11.
31. Winslow KL, Toner JP, Brzyski RG, Oehninger SC, Acosta AA, Muasher SJ. The gonadotropin-releasing hormone agonist stimulation test-a sensitive predictor of performance in the flare-up in vitro fertilization cycle. *Fertil Steril* 1991; 56: 711-7.
 32. Penarrubia J, Fabregues F, Manau D, Creus M, Carmona F, Casamitjana R et al. Previous cycle cancellation due to poor follicular development as a predictor of ovarian response in cycles stimulated with gonadotrophin-releasing hormone agonist-gonadotrophin treatment. *Hum Reprod* 2005; 20: 622-8.
 33. Te Velde ER, Pearson PL. The variability of female reproductive ageing. *Hum Reprod Update* 2002;8: 141-154.
 34. Broekmans FJ, Soules MR, Fauser BS. Ovarian aging: Mechanisms and clinical consequences. *Endocrine Reviews* 2009; 30 (5): 465-493.
 35. Vital-Reyes VS. Evaluación de la reserva ovárica. *Rev Mex Reprod* 2010; 2(4): 89-95.
 36. Block E. Quantitative morphological investigations of the follicular system in women; variations at different ages. *Acta Anat (Basel)* 1952; 14: 108-123.
 37. Block E. A quantitative morphological investigations of the follicular system in newborn female infants. *Acta Anat (Basel)* 1953; 17: 201-206.
 38. Baker TG. A quantitative and cytological study of germs cells in human ovaries. *Proc. R. Soc. Land.* 1963; 158: 417-433.
 39. Markström E, Svensson ECh, Shao R, Svanberg B, Billig H. Survival factors regulating ovarian apoptosis-dependende on follicle differentiation. *Reproduction* 2002; 123: 23-30
 40. Peñarrubia J. Etiología y teorías sobre la baja respuesta. En García-Velasco JA, Remohí J. Cuadernos de Medicina eproductiva. Baja respuesta a la estimulación ovárica en el 2006. *Adalia* 2007; 13(2): 9-21.
 41. Richardson SJ, Senikas V, Nelson JF. Follicular depletion during the menopausal transition: evidence for accelerated loss and ultimate exhaustion. *J. Clin. Endocrinol. Metab*, 1987; 65: 1231-1237.
 42. Faddy MJ, Gosden RG. A model conforming the decline in follicle numbers to the age of menopause in women. *Hum. Reprod.* 1996; 11: 1484-1486.

43. Faddy MJ. Follicle dynamics during ovarian ageing. *Mol. Cell. Endocrinol.* 2000; 163: 43-48.
44. Battaglia DE, Goodwin P, Klein NA, Soules MR. Influence of maternal age in meiotic spindle assembly in oocytes from naturally cycling women. *Hum. Reprod.* 1996; 11: 2217-2222.
45. Kuliev A, Cieslak J, Verlinsky Y. Frequency and distribution of chromosome abnormalities in human oocytes. *Cytogenet. Genome Res.* 2005; 111: 193-198.
46. Hunt PA, Hassold TJ. Human female meiosis: what makes a good egg go bad?. *Trends Genet.* 2008; 24: 86-93.
47. Pellestor F, Anahory T, Hamamah S. Effect of maternal age on the frequency of cytogenetic abnormalities in human oocytes. *Cytogenet. Genome Res.* 2005; 111: 206-212.
48. Gougeon A. Regulation of ovarian follicular development in primates: facts and hypotheses. *Endocrine Reviews* 1996; 17: 121-155.
49. Keefe DL, Parry JP. New approaches to Assisted Reproductive Technologies. *Sem. Reprod. Med.* 2005; 23: 301-308.
50. Hussein MR, Apoptosis in the ovary: molecular mechanisms. *Hum. Reprod. Update* 2005; 11: 162-178.
51. Pellicer A, Ballester MJ, Serrano MD, Mir A, Serra-Serra V, Remohi J et al. Aetiological factors involved in the low response to gonadotrophins in infertile women with normal basal serum follicle stimulating hormone levels. *Fertil. Steril.* 1994; 9: 806-811.
52. Nagata Y, Honjou K, Sonoda M, Sumii Y, Inoue Y, Kawarabayashi T. Pharmacokinetics of exogenous gonadotropin and ovarian response in vitro fertilization. *Fertil. Steril.* 1999; 72: 235-239.
53. Fauser BCJM. Interference with follicle-stimulating hormone regulation of human ovarian function. *Mol. Human. Reprod.* 1996; 2: 327-324.
54. Zeleznik AJ, Schuler HM, Reichert LE Jr. Gonadotrophin-binding sites in the rhesus monkey ovary: role of the vasculature in the selective distribution of human chorionic gonadotrophin to the preovulatory follicle. *Endocrinology* 1981; 109: 356-362.

55. Perez Mayorga M, Gromoll J, Behre HM, Gassner C, Hieschlag E, Simoni M. Ovarian response to FSH stimulation depends on the FSH receptor genotype. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2000; 85: 3365-3369.
56. Nahum R, Shifren J, Chang Y y col. Antral follicle assessment as a tool for predicting outcome in IVF- Is it a better predictor than age and FSH?. *J. Assist. Reprod. Genet.* 2001; 18(3):151-155.
57. Kwee J, Elting M, Schats R y col. Comparison of endocrine tests with respect to their predictive value on the outcome of ovarian hyperstimulation in IVF treatment: results of a prospective randomized study. *Hum. Reprod.* 2003; 18: 1422-1427.
58. Fanchin R, Ziegler D, Olivennes F y col. Exogenous follicle stimulating hormone ovarian reserve test (EF-FORT): a simple and reliable screening test for detecting "poor responders" in in-vitro fertilization. *Hum. Reprod.* 1994; 9: 1607-1611.
59. Fabregues F, Balasch J, Creus M y col. Ovarian reserve test with Human Menopausal Gonadotrophin as a predictor of In Vitro Fertilization outcome. *J. Assist. Reprod. Genet.* 2000; 17: 13-19.
60. Hung Yu Hg E, Shang Tang O, Cheng Ho P. The significance of the number of antral follicles prior stimulation in predicting ovarian responses in an IVF programme. *Hum. Reprod.* 2000; 15: 1937-1942.
61. Papaleo E, De Santis L, Fusi F y col. Natural cycle as first approach in aged patients with elevated follicle-stimulating hormone undergoing intracytoplasmic sperm injection: A pilot study. *Gynecol. Endocrinol.* 2006; 22: 351-354.
62. Assisted reproductive technology in Europe, 2001. Results generated from European registers by ESHRE. The European IVF-monitoring programme, for the European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE). *Hum. Reprod. Advance Access* 2005; 1-19.
63. Barri P. Indications and results of oocyte donation in Spain. *J. Gynecol. Obstet. Biol. Reprod. (Paris)* 2005; 34(7 Pt 2): 5545-5547.
64. Navarro I, Quintero LA, Jiménez-Moreno V, Monzo A, Santana AG, Monatañana V, Romeu A. Comparacion del porcentaje de fecundación y la calidad embrionaria tras la realización de FIC e ICSI en un mismo ciclo de tratamiento: estudio preliminar. *R. Iberoamericana de Fertilidad* 2001; 18(2): 75-79.

65. Coroleu B, Devesa M, Martinez F, Nolasco P. Agonistas y antagonistas de la GnRH en la estimulación ovárica en fecundación in vitro. En García-Velasco JA, Callejo J. Estimulación ovárica en técnicas de reproducción asistida. Ed. Glosa S.L.. Capítulo 2: 27-44.
66. Karande V, Morris R, Rinehart J et al. Limited success using the “flare” protocol in poor responders in cycles with low basal follicle-stimulating hormone levels during in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1997; 67: 900-903.
67. Blanes R, Vaca R, González J, Alberto JC. Influence of oocyte and embryo cohort in gestational rate in IVF/ICSI. *Revista Iberoamericana de Fertilidad* 2008; 25 (3): 147-152.
68. Swann K, Saunders CM, Rogers NT, Lai FA. PLCzeta(zeta): a sperm protein that triggers Ca²⁺ oscillations and egg activation in mammals. *Seminars in Cell & Developmental Biology* 2006; 17: 264-273.
69. Saunders CM, Swann K, Lai FA. PLCzeta, a sperm-specific PLC and its potential role in fertilization. *Biochemical Society Symposia* 2007; 23-36.
70. Nichi M, de Cassia R, Paes de Almeida D, Souza A, Iaconelli A Jr, Borges E Jr. Decreased fertility in poor responder women is not related to oocyte morphological status. *Arch Med Sci.* 2011; 7(2): 315–320.
71. Stovall DW, Toma SK, Hammond MG et al. The effect of age on female fecundity. *J Obstet Gynecol* 1991; 77: 33-36.
72. Pellicer A, Simón C, Remohí J. Effects of aging on the female reproductive system. *Hum Reprod* 1995; 10: 77-83.
73. Yaron Y, Botchan A, Amit A et al. Endometrial receptivity: the age-related decline in pregnancy rates and the effect of ovarian function. *Fertil Steril* 1993; 60: 314-318.
74. Navot D, Bergh PA, Williams MA, Garisi GJ, Guzman I, Sandler B et al. Poor oocyte quality rather than implantation failure as a cause of age-related decline in female fertility. *Lancet* 1991; 337: 1375-1377.
75. Liu L, Keefe DL. Cytoplasm mediates both development and oxidation-induced apoptotic cell death in mouse zygotes. *Biol Reprod* 2000; 62: 1828-1834.