

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BARCELONA
DEPARTAMENTO DE PEDIATRIA, OBSTETRÍCIA, GINECOLO-
GÍA Y MEDICINA PREVENTIVA
BELLATERRA (CERDANYOLA DEL VALLÈS)

INFLUENCIA DE LA RELACION LEPTI-
NA/INDICE DE MASA CORPORAL EN ES-
TIMULACION OVARICA CONTROLADA
EN REPRODUCCION ASISTIDA

Tesis Doctoral

Dr. Guillermo Luis Carpio Pertierra

Barcelona, 2013

Director de Tesis: Dr. José María Gris Martínez

Sede: Instituto de Infertilidad y Genética Ingenes (México, D.F.)

Tesis para la obtención del grado de doctor en
pediatría, obstetricia y ginecología, medicina
preventiva y salud pública

Agradecimientos y dedicatorias

A mi familia, a ti Caro, mi compañera de vida, gracias por tu amor, impulso y apoyo. A mis hijos Lucía y Gonzalo por ser el motor de mi vida.

A mi papá, médico y ser humano ejemplar, hombre de una pieza. Gracias por tu impulso y por inspirarme a ser el médico y hombre que hoy soy.

A mi mamá, por su amor incondicional, ejemplo y cariño. Gracias por estar siempre al pendiente y llevarme de la mano en el camino de la vida. Te amo.

A mis suegros: ¿Quién puede ser tan afortunado en la vida de tener dos padres y dos madres a la vez? Gracias por recibirme en la familia.

Josep M^a Gris, agradezco tu asesoría y paciencia a lo largo de éstos años en la elaboración de éste trabajo, aunque lo que más agradezco y valoro es sin duda tu amistad. Amics per sempre!

Chiharu, mi sensei estadístico, gracias por tu desinteresada ayuda y por haber sido el samurái de mi tesis.

A mis amigos de Ingenes, Felipe Camargo y en especial a Martín Rivero por todas las facilidades brindadas, sin ustedes sencillamente no hubiera sido posible haber hecho realidad ésta tesis.

Contenido

1	Antecedentes	6
1.1	Estructura de la leptina.....	9
1.2	Fisiología de la leptina	9
1.3	Leptina y pubertad	11
1.4	El ciclo menstrual y la leptina.....	11
1.5	Índice de masa corporal, situaciones especiales y leptina.....	12
1.6	Leptina y sistema óseo.....	14
1.7	Papel de la leptina en la reproducción asistida.....	15
1.8	Impacto del índice de masa corporal en reproducción asistida.....	16
1.9	Clasificación ovocitaria.....	17
1.10	Clasificación de Calidad Embrionaria	21
2	Justificación.....	23
3	Hipótesis.....	24
3.1	Hipótesis principal	24
3.2	Hipótesis alterna.....	24
3.3	Hipótesis nula	24
4	Objetivos.....	25
4.1	Objetivo principal	25

4.2	Objetivos secundarios.....	25
5	Variable de eficacia primaria (<i>End point</i>).....	27
6	Pacientes y métodos	28
6.1	Diseño del estudio.....	29
6.1.1	Definición de los grupos de paciente.....	29
6.1.2	Criterios de inclusión.....	30
6.1.3	Criterios de exclusión	30
6.1.4	Criterios de no inclusión.....	30
6.2	Método.....	31
6.3	Valores de referencia	32
6.4	Análisis estadístico y manejo de datos.....	33
6.4.1	Variables estadísticas	33
7	Presentación de resultados	36
8	Consideraciones éticas	37
9	Resultados.....	38
10	Discusión.....	91
11	Conclusiones.....	99
11.1	Objetivo principal	99
11.2	Objetivos secundarios.....	99
11.3	Generales.....	100
12	Referencias.....	102

13	Índice de figuras	109
14	Índice de tablas.....	112
15	Glosario	115
16	Lista de abreviaturas	116
17	Hoja de recolección de datos	118
18	Resumen de la tesis doctoral	122
19	Doctoral thesis summary	127

1 Antecedentes

Desde 1998, la OMS considera a la obesidad como una epidemia global que constituye un importante problema de salud pública.(1) Los estudios epidemiológicos sugieren que las causas principales están relacionadas con los cambios ambientales y los estilos de vida, ocurridos en las últimas décadas. La rapidez del cambio de prevalencia de la obesidad ocurrido en sólo 25 años descarta una base genética como única causa, ya que el pool de genes responsables de la susceptibilidad a la obesidad no puede variar en periodos de tiempo tan cortos.(2, 3) Sobre la anorexia y bulimia, es un trastorno que en los últimos 10 años se ha quintuplicado al registrarse 20 mil casos anuales, afectando así a más de 2 millones de mexicanos, principalmente mujeres según cifras del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS)

En México, de 1993 a 2000 la prevalencia de obesidad aumentó en 3 puntos porcentuales y se acentuó con respecto a 2005, al pasar de 24% en 2000 a 30%, lo que refleja un incremento en el ritmo sobre el cual crece la obesidad en el país. Las tasas de prevalencia más altas se concentran en la región norte y sureste de México. Además de Baja California Sur, Durango, Chihuahua, Nuevo León, Nayarit, Sonora y Tamaulipas destacan por su frecuencia en el sureste de México los estados de Campeche, Tabasco, Quintana Roo y Yucatán, con cifras que van de 28.7 a 38.3%. La prevalencia en mujeres (79.9%) es mucho más alta que la de los hombres (66.7%).

Dentro de éste rubro de obesidad se pueden destacar los siguientes hallazgos: 1) 7 de 10 adultos (70%) presentaron un peso mayor al considerado saludable; 2) la prevalencia de obesidad aumenta hasta los 60 años, seguida de un decremento en los adultos mayores, mientras que el sobrepeso se mantiene estable desde los 20 años de edad.(4)

Factores determinantes:

- Alimentación: En la actualidad, con el desarrollo, la modernización y el ritmo de vida acelerado, sobre todo en las zonas urbanas, la forma de alimentarse se ha visto alterada. La dieta que consume la mayor población en la que se omite una de las tres comidas

principales (desayuno, comida y cena) o en las que se contienen grandes cantidades de azúcares y grasas saturadas, así como el poco consumo de verduras y frutas, pone no sólo a los adultos, sobre todo a los niños, niñas y adolescentes, en riesgo de desarrollar sobrepeso u obesidad.(5)

- Sedentarismo: Las conductas sucesivas en el desarrollo personal se van adquiriendo con la vida cotidiana y volviéndose hábitos “normales” dentro de la modernización. Por ejemplo, las personas que miran televisión por tiempos prolongados son más propensas a fumar, a consumir bebidas alcohólicas y a realizar menos ejercicio físico. También tienen mayor consumo energético diario y peores hábitos alimentarios. El tiempo pasado ante el televisor está significativamente asociado con el riesgo de obesidad.(6, 7) Mantenerse sentados en el trabajo o fuera del hogar y usar automóvil como medio de transporte también fueron conductas asociadas a un mayor riesgo de obesidad, no así mantenerse de pie o caminando por la casa.

La “obeso fobia” por otra parte, es actualmente uno de los más grandes temores que tienen tanto hombres como mujeres (8, 9); sin embargo, diversos trabajos documentan que las mujeres poseen actitudes más negativas hacia la imagen corporal que los hombres y es principalmente el temor a subir de peso o a llegar a ser obesas, lo que propicia conductas de riesgo. Sobresalen las conductas compensatorias y restringidas y una mayor compensación por el peso y la figura, actitudes que pueden dar pie a los trastornos de la conducta alimentaria (10-12).

Estudios realizados en mujeres adolescentes y jóvenes, muestran que la percepción de la imagen corporal y la insatisfacción con la misma se encuentran altamente relacionadas con las conductas compensatorias; de la misma forma, se encontró que estas mujeres tienden a sobreestimar su tamaño corporal, mostrando así una mayor insatisfacción (13).

Durante la etapa adulta la mujer pasa por periodos de embarazo, lactancia, alteraciones menstruales, disminución de la actividad física y podría presentar alteraciones psicológicas de diversos tipos, entre los que sobresale la depresión (14, 15). Se ha propuesto que muchos de estos episodios pueden repercutir en su patrón alimentario y en la evaluación de su imagen corporal, y que desencadenan conductas alimentarias de riesgo que más tarde pueden transformarse en algún trastorno de la conducta alimentaria.

De los escasísimos estudios realizados en mujeres adultas, se localizó un verificado en 188 mujeres con IMC < 30, en donde se midió la “dieta restrictiva” mediante un cuestionario que considera dicho concepto compuesto por dos dimensiones: control alimentario rígido y control alimentario flexible. Hay que aclarar que se entiende por control alimentario rígido a la dicotomía “todo o nada” con respecto al comer, al peso y a la restricción alimentaria; mientras que el control alimentario flexible está caracterizado por un acercamiento moderado con respecto al comer, el peso y la restricción alimentaria. Los hallazgos demostraron que ambos tipos de control están significativamente relacionados con el IMC [control rígido $r(186) = 0.32$, $p < 0.01$; control flexible $r(186) = 0.22$] y con la percepción de la imagen corporal [control rígido $r(186) = 0.70$, $p < 0.01$; control flexible $r(186) = 0.40$, $p < 0.01$]. De igual manera se encontró que únicamente el control alimentario rígido está significativamente relacionado con síntomas de trastornos alimentarios [$r(186) = 0.66$, $p < 0.01$], depresión [$r(186) = 0.26$, $p < 0.01$], y ansiedad [$r(186) = 0.30$, $p < 0.01$] (16).

En México, en un estudio realizado en 2006, Lora-Cortez en cuestionario similar, obtuvo que las conductas que registraron mayores porcentajes, correspondieron a las conductas compensatorias (17.3%) y al comer compulsivamente (12%); la dieta restringida presentó los porcentajes más bajos (5.5%) (17).

La bulimia nerviosa representa el otro espectro en cuanto a los comportamientos alimenticios anómalos, en donde el peso corporal tiende a mantenerse normal a pesar de haber comido grandes cantidades de alimento. Este tipo de pacientes tienen niveles significativamente bajos de leptina, en comparación con pacientes sanas de la misma edad y peso (18); incluso durante los periodos de remisión, dichos niveles se mantienen más bajos, no obstante los valores no bajan tanto, como ocurre en los casos de anorexia nerviosa. Se sugiere que la leptina puede jugar un rol tanto en la regulación del apetito y de la homeostasis, como también en las anomalías ocurrentes en la menstruación de mujeres con trastornos de la alimentación.

Se ha observado que mujeres que tienen sobrepeso ó por lo contrario, quienes son muy bajas de peso, tienen problemas para embarazarse. Existen evidencias que demuestran que las leptinas están relacionadas en el control del sistema reproductivo de los animales y recientemente dicho eje de leptina ha sido estudiado por nutriólogos y han encontrado diferencias muy significativas en mujeres anoréxicas/bulímicas y también en mujeres obesas.

La leptina es una proteína secretada por el tejido adiposo. Su función consiste en estar encargada del control del peso corporal mediante la regulación del apetito y la termogénesis, además de regular diversos procesos fisiológicos como la inflamación, angiogénesis, hematopoyesis, reacciones inmunes y lo más importante: la reproducción. Se le ha encontrado una interacción con la producción y liberación de hormonas sexuales; En roedores, al inyectar leptina, aumentan los niveles de gonadotropinas y aumenta el desarrollo del folículo ovárico, restaurando la fertilidad.

1.1 Estructura de la leptina

La leptina es una proteína de 167 aminoácidos con una estructura terciaria similar a las citoquinas expresadas en el tejido adiposo blanco y en otras áreas como el hipotálamo, hipófisis, fondo gástrico, músculo esquelético, sincitiotrofoblasto y epitelio mamario, que incluyen un péptido señal de 21 aminoácidos. Su estructura tridimensional presenta cuatro hélices alfa y un puente disulfuro entre las cisteínas en posición 96 y 146, siendo este último necesario para la actividad biológica de la hormona.

De la misma manera, se han encontrado receptores para leptina en hipotálamo, células gonadotropas de la adenohipófisis, células de la granulosa y de la teca, células intersticiales del ovario, endometrio y células de Leydig.

1.2 Fisiología de la leptina

Los estrógenos inducen la producción de leptina, mientras que los andrógenos la suprimen. La insulina aumenta su producción, los glucocorticoides incrementan la expresión génica, independientemente de su efecto insulino-resistente, aunque también pueden inducir una resistencia relativa a leptina al inhibir su acción. Otras proteínas que directamente inducen la expresión génica de la leptina son citoquinas como el factor de necrosis tumoral alfa y la interleucina 1.

En cuanto a su rol en el eje hipotálamo-hipófisis, se sabe que la leptina acelera los pulsos de GnRH, pero no en su amplitud en neuronas del núcleo arcuato dependiente de la dosis de leptina. A los receptores de leptina se les llama Ob-Rb y se les ha encontrado tanto en núcleo arcuato, como en el núcleo hipotalámico ventromedial, controlando tanto la fun-

ción sexual, como la ingesta de alimentos. La exposición de neuropéptido Y (NPY) *in vitro* en ratas pre púberes, aumenta la pulsatilidad en la secreción de GnRH, mientras que la exposición intracerebroventricular crónica de NPY la inhibe. Magni y Motta (19) no han encontrado receptores para leptina claramente en neuronas de GnRH en el humano, únicamente en neuronas cultivadas de ratón. Opinan que indudablemente las leptina actúan a éste nivel, solo que no han precisado si en forma directa o indirecta. Esto debido a que es muy difícil de estudiar al modelo humano porque las neuronas de GnRH son muy pocas y están expandidas en toda la región hipotalámica.

La leptina reduce la ovulación al inyectarse vía sistémica *in vivo* o *in vitro*. En dosis fisiológicas medio-altas (desde 10 ng/ml) parece antagonizar el efecto ascendente de diferentes factores de crecimiento (factor de crecimiento parecido a la insulina ILGF-1, factor de crecimiento tumoral TGF2) y hormonas (insulina, glucocorticoides), en la esteroidogénesis de gonadotropinas (FSH/LH), tanto a nivel folicular, como en células de la teca en el ciclo menstrual. De hecho, en un estudio realizado por Sanjay et al (20), en el que cultivaron células de la granulosa, pudieron comprobar como la leptina es capaz de inhibir directamente a la producción del factor de crecimiento parecido a la insulina ILGF-1. Según Sanjay, la inhibición fue selectiva, no afectando la producción de estradiol, sola o en presencia de FSH, ni de progesterona, ni de androstenediona, llama la atención que no menciona la dosis de leptina a la que expusieron a las células de la granulosa. Así, concentraciones altas de leptina en el ovario, pueden suprimir la producción de estradiol e interferir en el desarrollo del folículo dominante y en la maduración del ovocito. Greisen et al (21), estudiaron el punto anterior y coinciden en que la leptina actúa directamente, inhibiendo el estradiol basal estimulado por FSH y la producción de progesterona en cultivos de células de la granulosa humana. En células de Leydig del testículo de ratón, la leptina a dosis de 2 a 500 ng/ml, se observaron los mismos efectos inhibitorios en la producción de testosterona estimulada por hCG. En otro estudio hecho por Duggal et al (22) con células de tejido ovárico de ratones *in vitro*, al administrar leptina en combinación con LH, significativamente se redujo la ovulación tanto *in vivo* como *in vitro*, aunque no influenciaron los niveles de esteroides.

La deficiencia de leptina, resulta en una disfunción de HCG y la administración de dosis bajas puede tener un efecto permisivo a nivel del SNC que regula la secreción de gonado-

tropina. Tanto una baja sustancial sérica en leptina, como niveles elevados de la misma se traducen en afectación del eje hipotálamo-hipófisis ovario, como veremos más adelante.

Existe un dimorfismo sexual en cuanto a los niveles de leptina. Luego de corregir el peso y grasa, las mujeres tienen niveles séricos de leptina mayores que los hombres. Primero porque la amplitud en los pulsos de leptina, más no su frecuencia en el tejido adiposo es de 2 a 3 veces mayor en mujeres que en hombres. Segundo, el porcentaje de grasa es mayor en mujeres que en hombres. Tercero, las mujeres tienen niveles séricos de leptina más altos que los hombres y niveles más bajos de proteína transportadora de leptina, resultando en niveles de leptina sérica libre mayores en mujeres que en hombres. Por último, los tejidos adiposos de las mujeres son más sensibles a las hormonas. Los estrógenos aumentan los niveles de leptina, mientras que los andrógenos los disminuyen.

1.3 Leptina y pubertad

En relación con la pubertad y el disparo de inicio del funcionamiento del eje hipotálamo-hipófisis-ovario, es hasta ahora desconocido, lo único que se sugiere en experimentos con animales, es que existe una elevación en niveles de leptina previos al inicio de la pubertad y que puede contribuir a la activación del eje, resultando en producción esteroidea y activación subsecuente del eje hormona de crecimiento-factor de crecimiento parecido a la insulina.

1.4 El ciclo menstrual y la leptina

Se ha encontrado una relación entre los niveles de leptina y el ciclo menstrual normal y la menopausia. Messinis et al (23) midieron los niveles de leptina en ciclos espontáneos y en ciclos estimulados con FSH, encontraron que en ciclos espontáneos, hubo un decremento de leptina en forma gradual hasta el 7 día del ciclo y que a partir de éste subió en forma progresiva hasta el día del disparo de LH. Sin embargo encontró que en ciclos estimulados con FSH los valores fueron subiendo gradualmente hasta el sexto día y se mantuvieron estables después, pero en la mitad del ciclo subieron significativamente más que en los ciclos espontáneos. No obstante Stock et al (24), en un estudio realizado en 13 mujeres con ciclos menstruales normales y a las que se les midió niveles de leptina en los días 1-3, 6-8,

13-15, y 22-25 del ciclo, no encontró una diferencia estadísticamente significativa en cuanto a los niveles de leptina, únicamente encontró que se elevan en forma importante en mujeres embarazadas, o bien en mujeres en protocolo de FIV. En la menopausia los niveles declinan, especialmente en mujeres obesas, probablemente debido a las alteraciones en los niveles de hormonas esteroideas. La terapia de reemplazo hormonal no aumenta significativamente los niveles de leptina, de acuerdo con diferentes estudios.

1.5 Índice de masa corporal, situaciones especiales y leptina

Adentrándonos un poco a los problemas de la reproducción, se ha establecido en que en los ovarios poliquísticos, no ocurren variaciones significativas de leptina en comparación con pacientes de la misma edad y peso sin el dicho síndrome. Los trastornos alimenticios se traducen en muchas ocasiones en problemas de tipo reproductivo. Trastornos como la anorexia nerviosa o la bulimia nerviosa pueden producir amenorrea, que mayormente es hipotalámica. Los niveles séricos de la anorexia nerviosa son significativamente más bajos que los de paciente sanas con el mismo peso y porcentaje de grasa corporal. Los niveles de leptina comienzan a aumentar al iniciar una dieta terapéutica en éstas pacientes, que se correlacionan con niveles séricos de LH y FSH, implicando que el aumento de leptina secundariamente al incremento del peso, activan el eje hipotálamo-hipófisis-ovario. Cabe mencionar que la leptina es necesaria, más no suficiente para reanudar la menstruación, con lo cual también deben normalizarse el eje GH/IGF1. Welt y colaboradores (25) lograron demostrar en 8 mujeres atletas con amenorrea hipotalámica, como después de administrar Leptina Recombinante Humana mejoran los ejes reproductivo, tiroideo y la producción de hormona de crecimiento, así como marcadores de formación de hueso, sugiriendo que se requiere de leptina como señal periférica que refleja reservorios de energía para una correcta y adecuada función reproductiva y neuro-endócrina.

En cuanto a la bulimia nerviosa, la única diferencia es que los niveles de leptina pueden mantenerse bajos durante la remisión, pero nunca serán tan bajos como en la anorexia nerviosa.

Las mujeres deportistas también presentan alteraciones en su ciclo menstrual. Chen et al (26) realizó una revisión en Medline desde 1966 a 1998 en éste tipo de pacientes y encontró

que presentan manifestaciones clínicas del tipo de fase lútea deficiente, anovulación, amenorrea e incluso menarca retardada. Las gimnastas de elite, con niveles de leptina significativamente más bajos que los de pacientes control de la misma edad y porcentaje de grasa corporal tienen menarca y maduración ósea retardada. Los trastornos menstruales son tan severos como los de las pacientes con anorexia nerviosa y no tanto como los de las pacientes con bulimia nerviosa. Chen, nos dice que la mayoría de los casos son reversibles con dieta y modificaciones en el ejercicio; Incluso recomienda terapia hormonal sustitutiva en los casos de hipoestrogenemia prolongada con evidencia de pérdida ósea aumentada.

No solo la anorexia o la bulimia nerviosa afectan los niveles de leptina, también cuadros como la obesidad afectan dichos niveles. En éstos casos, la leptina puede verse alterada por deficiencia total de leptina, resistencia a la leptina relacionada a niveles altos de leptina o en casos extremadamente raros mutaciones de los receptores para leptina; Con la excepción de los casos raros anteriores, la obesidad se debe a la resistencia a leptina de los receptores y pos receptores por mecanismos de retroalimentación, más que por deficiencia de leptina persé.

Se ha observado que las niñas obesas tienen su menarca a edades más tempranas, comparadas con niñas de peso normal, hecho que coincide con la hipótesis del peso crítico de Frisch y Revelle y con la hipótesis que al incrementarse los niveles de leptina, contribuyen al inicio de la pubertad. También se ha demostrado que al aumentar el peso, hay mayor cantidad de ciclos anovulatorios y que las mujeres obesas tienen mayor cantidad de folículos atrésicos.

Puede proponerse entonces que niveles altos de leptina en las mujeres obesas pueden contribuir a la función o disfunción reproductiva en diferentes niveles del eje hipotálamo-hipófisis-ovario; Así, hay un efecto central de la elevación de leptina que nos lleva a menarca temprana, el cual más tarde es seguido de una resistencia a la respuesta de los gonadotropos a GnRH, combinado con un efecto inhibitorio periférico por los niveles altos de leptina en la función ovárica conllevando a la anovulación. Es importante que a pesar de lo dicho anteriormente, se debe separar al síndrome de ovarios poliquísticos con la elevación de leptina que encontramos en la obesidad, ya que los niveles de leptina circulante observados en mujeres con ovarios poliquísticos, están relacionados con el índice de masa corporal

y no relacionados directamente con los niveles de insulina, gonadotropinas y hormonas sexuales, situación señalada y estudiada ampliamente por Chapman et al (27).

Cortet-Rudelli (28) también observó diferencias importantes entre la obesidad y el síndrome de ovarios poliquísticos. En su estudio encontró que la obesidad es una entidad que también afecta a la inhibina B, no siendo específica para el síndrome de ovarios poliquísticos. Tanto la obesidad, como el exceso de LH, actúan en forma opuesta e independiente a la producción de inhibina B y esto puede explicar las discrepancias en relación con reportes previos, en los que relacionan a la inhibina B y el síndrome de ovarios poliquísticos. Acien et al (29) valora los dos grupos de pacientes, pero en cuanto a la insulina, andrógenos y el índice de masa corporal, concluyendo que en pacientes obesas éstos 3 valores se correlacionan tengan o no ovarios poliquísticos, pero que las obesas con ovarios poliquísticos, son más insulino-resistentes, hiperandrogénicas e hipertriglicéridémicas, así las divide en 3 tipos de obesas: obesidad simple no hiperandrogénica, ovarios poliquísticos típicos no hiperinsulinémicas y pacientes con ovarios poliquísticos insulino-resistentes. Escobar-Morreale (30), estudió los niveles de leptina en mujeres con hirsutismo, circunstancia frecuente en mujeres con ovarios poliquísticos; En un estudio con 33 mujeres hirsutas y 11 mujeres control concluyó que los niveles elevados de leptina se encuentran principalmente relacionadas a la obesidad y a la resistencia a insulina. Los niveles de leptina aumentaron durante la estimulación ovárica y volvieron a niveles basales durante la supresión ovárica, sugiriendo que la leptina también se ve influenciada por el eje gonadal.

1.6 Leptina y sistema óseo

Existe un efecto de la leptina a nivel del sistema óseo. Se han encontrado receptores para leptina en osteoblastos y se ha demostrado *in vitro* que aumenta la diferenciación de las células totipotenciales de la médula ósea hacia osteoblastos, además la leptina aumenta la superficie ósea de depósito. En estados amenorreicos por exceso de ejercicio, trastornos alimenticios, un factor etiológico que conduce a pérdida de hueso es la deficiencia estrogénica, con una desproporción entre la resorción y la formación ósea.

1.7 Papel de la leptina en la reproducción asistida.

En lo que se refiere a la reproducción asistida, Tsai et al (31), midieron los niveles séricos de estradiol y de progesterona al inicio del ciclo, al momento de la administración de HCG y al momento de la captura folicular, luego de un ciclo largo de análogos de GnRH, después de administrar leptina en cultivos *in vitro*. Resultó que al administrar niveles altos de leptinas, suprimieron tanto el estradiol basal, como la progesterona en las células de la granulosa, aunque no se vieron afectados los niveles de progesterona ante la presencia de FSH, concluyendo que los niveles de leptina pueden ser predictivos de embarazo por FIV, en especial por la relación estradiol/progesterona durante la fase folicular. Castracane et al (32) midieron los niveles de leptina en los ciclos de hiperestimulación ovárica controlada observando que existe una elevación de estradiol asociada a la elevación de los niveles de leptina y que dicho nivel se mantiene elevado en pacientes embarazadas, más no en las no embarazadas.

La hiperestimulación ovárica controlada con gonadotropinas nos lleva a un incremento significativo de leptina sérica, comparada con la supresión ovárica máxima antes del inicio del tratamiento. Esto demuestra que el estadio de la función ovárica puede afectar los niveles de leptina. La elevación de leptina se correlacionó solo en forma moderada con la grasa corporal de las pacientes, e inversamente a un ovario hiperestimulado. Según un estudio de Mantzoros et al (33), las mujeres que resultaron embarazadas en 3 fertilizaciones *in-vitro* o por gift, tuvieron menores concentraciones de leptina en líquido folicular que en las mujeres que no quedaron embarazadas, corrigiendo la edad y el índice de masa corporal. (34) Son varios los autores que en general reportan un efecto supresor de niveles elevados de leptina a la síntesis de estradiol y en el desarrollo y maduración de folículos dominantes. Barroso et al (35) realizaron un estudio junto con óxido nítrico y factor de crecimiento endotelial, en el cual indican que sirven como marcadores de hipoxia folicular, evidenciado por la relación entre los niveles de leptina, la presión parcial de bióxido de carbono y la presión de oxígeno en el líquido folicular. Sumado a esto, Butzow et al (36) en un estudio con 52 mujeres obesas y delgadas en protocolo de FIV, encontraron que la leptina en concentración alta, en las pacientes obesas reduce la respuesta del ovario a las gonadotropinas exógenas, de ahí que éstas pacientes requieran de dosis mayores de gonadotropinas, que las pacientes delgadas. Paradójicamente y para que se lleve a cabo un adecuado crecimiento folicular durante la hiperestimulación ovárica controlada, Lindheim et al (37), nos confir-

man que existe una elevación significativa de los niveles de leptina durante éste proceso, la cual juega un papel importante para que se lleve a cabo dicho crecimiento, incluso en la mujer que hace una respuesta exagerada, refleja una predisposición de sus adipocitos a la producción de leptina.

Dorn et al (38) midieron los niveles séricos e intra foliculares de leptina, además de factor vascular de crecimiento endotelial (VEGF), factor de crecimiento parecido a la insulina 1 (IGF-1) y de proteína acarreadora de factor de crecimiento parecido a la insulina-3 (IGFBP-3) en 84 mujeres a las que se les realizó capturas foliculares posteriores a hiperestimulación ovárica controlada. Encontraron que tanto los niveles séricos como los foliculares de leptina se correlacionaron con el peso materno, pero no correlacionaron los niveles intra foliculares de leptina y estradiol, además que la estimulación ovárica controlada se asoció con una asociación entre los valores de leptina sérica e intrafolicular y de los otros valores sin repercusiones clínicas. Duggal et al (22) midieron los efectos en la ovulación de ratas al administrar exógenamente leptina in vivo e in vitro y encontraron que disminuyó la ovulación de 15.9 +/- 2.0 a 5.3 +/-1.6 ovocitos en el grupo de animales tratados con 30 ug en intervalos de 3 horas por 15 horas de leptina. En éste grupo no se vio afectado los niveles de estradiol o de progesterona, disminuyó el consumo de alimentos y bajaron de peso. En el grupo in vitro ocurrió lo mismo al administrar LH sola a un grupo y LH y leptina a otro, disminuyendo de 5.7 +/- 1.6 a 1.3 +/- 0.6, sin verse afectados estradiol ni progesterona. Concluyen que la administración sistémica de leptina puede inhibir la ovulación, proceso que ocurre a través de un efecto directo en ovario.

1.8 Impacto del índice de masa corporal en reproducción asistida

El impacto de la obesidad en reproducción asistida es debatible. La obesidad podría afectar de manera adversa tanto la duración de la estimulación ovárica, la dosis de gonadotropinas, los niveles de estradiol, el número de folículos maduros, la tasa de ciclos cancelados, número de ovocitos aspirados, la tasa de fertilización, tasa de transferencia embrionaria, implantación y de embarazo, en varios pasos, tales como en inducción de ovulación, aspiración de ovocitos, transferencia embrionaria y preparación endometrial.

La disminución en la fertilidad de las mujeres con bajo peso o con sobrepeso probablemente está relacionada con múltiples alteraciones endocrinológicas y metabólicas, que incluyen, pero que no están estrictamente limitadas al metabolismo esteroideo y alteración en cuanto a su secreción y acción de la insulina así como otras hormonas, tales como leptina, resistina, ghrelina ó adinopectina. Estas alteraciones pueden afectar el crecimiento folicular, el desarrollo embrionario y la implantación. (39) (40) (41)

Es común observar en mujeres con sobrepeso/obesas, en comparación con aquellas con peso normal, necesitan dosis mayores de FSH durante la estimulación, menor obtención de ovocitos, concentración de estradiol bajo, mayor número de cancelaciones de ciclos e índices de embarazo bajos. (42) (43) (44) (45) Igualmente se ha sugerido que el panículo adiposo abdominal tiene un impacto mayor en los resultados de FIV que la obesidad persé. (46)

1.9 Clasificación ovocitaria

Estructuralmente el ovocito maduro mide entre 110-115 micras y está rodeado de una membrana llamada oolema. Esta membrana contiene el citoplasma del ovocito u ooplasma, donde se encuentran las organelas citoplasmáticas y el núcleo. Rodeando al conjunto ovocito-oolema está la llamada zona pelúcida, que es de naturaleza glicoproteica y tiene un grosor de 15-20 micras que disminuye tras de la fecundación. El conjunto ovocito-zona pelúcida mide aproximadamente 150 micras. Entre el oolema y la zona pelúcida está el espacio peri vitelino, en el que se encuentra el corpúsculo polar.

La presencia de un corpúsculo polar (CP) indica que la maduración nuclear ha finalizado. Se cree que hace falta un breve intervalo de tiempo tras la extrusión del primer CP, para que el citoplasma madure completamente. Un ovocito puede ser meióticamente maduro pero no haber alcanzado la madurez citoplasmática, lo que puede llevar a fallos o defectos en la fecundación.

Los ovocitos recuperados tras la punción folicular están rodeados de células de la granulosa que forman el cumulus ooforus. Estas células son imprescindibles para la reanudación de la meiosis. La capa más interna constituye la corona radiata.

Tradicionalmente, la valoración de la maduración del ovocito se ha basado en el grado de expansión del cúmulo y la corona que lo rodea (47):

- Metafase II: células del cúmulo expandidas y luteinizadas.
- Metafase I: células del cúmulo menos expandidas.
- Profase I: células del cúmulo compactadas.

En el siguiente estudio decidí simplificar a los ovocitos obtenidos en:

- Ovocitos expandidos: Células del cúmulo expandidas y luteinizadas. (Metafase II)
- Ovocitos oscuros: Células del cúmulo menos expandidas o incluso compactadas (Metafase I y Profase I)

Históricamente la evaluación de la madurez de los ovocitos se basaba en la expansión y el aspecto del complejo cumulus-corona que rodea al ovocito. (48) Aunque ésta valoración se acerca bastante a la maduración del ovocito, no es del todo fiable debido a la disparidad que puede existir en el proceso de maduración del ovocito y del cumulus, en pacientes sometidas a estimulación ovárica controlada. (49)

Con la introducción de la ICSI, esta situación cambió completamente, ya que, al tener que denudar el ovocito antes de su micro inyección, se podía visualizar mejor la morfología del mismo.

Los ovocitos recuperados de pacientes sometidas a estimulación ovárica muestran diferentes estados de maduración meiótica. Sólo los MII son válidos para la ICSI, mientras que los MI pueden ser cultivados durante unas horas para ver si se produce la liberación del corpúsculo polar, en cuyo caso podrán ser micro inyectados. (50) Los ovocitos en profase I, que muestran vesícula germinal, no pueden ser utilizados debido a que tienen carga cromosómica diploide.

Al mismo tiempo, el ovocito debe haber crecido completamente y haber completado la maduración nuclear y citoplasmática de una manera coordinada, para que pueda existir una correcta fecundación. Alteraciones o asincronías en este proceso pueden derivar en diferentes anomalías morfológicas, dependiendo de si se ha afectado la maduración nuclear (51), o la maduración citoplasmática. (52, 53)

Algunas alteraciones pueden ser causadas por un descenso del aporte sanguíneo al folículo durante la estimulación, lo que implica una deficiencia de oxígeno. Se ha demostrado una asociación entre una disminución del aporte sanguíneo al folículo y defectos en el huso

mitótico y en los cromosomas. La hipoxia también afecta a la concentración de ATP intracitoplasmático y la organización del citoplasma.

Se acepta que los ovocitos metafase II de buena morfología deben de tener un citoplasma nítido y moderadamente granuloso, un espacio peri vitelino pequeño, un corpúsculo polar intacto y una zona pelúcida clara, (51, 54) aunque la mitad de los ovocitos que se recuperan son morfológicamente anormales, y presentan tanto anomalías citoplasmáticas como extra citoplasmáticas. (55)

Algunos autores (56) han encontrado una correlación entre la morfología ovocitaria y el resultado del tratamiento reproductivo, mostrando una tasa de embarazo del 24% en pacientes a las que se les habían transferido embriones procedentes de ovocitos normales, frente al 3% obtenido cuando los embriones derivaban de ovocitos con anomalías citoplasmáticas.

Resultados similares encontraron otros autores.(53) Cuando los embriones se originaban a partir de ovocitos normales, la tasa de embarazo era del 29,4%, mientras que si los ovocitos presentaban citoplasmas oscuros, la tasa resultante era del 5,5%. Así mismo, cuando el citoplasma presentaba un aspecto muy granuloso, las tasas de embarazo se situaban alrededor del 12,8%. (57)

Se ha encontrado un descenso en la tasa de aborto temprano en pacientes a los cuales no se les habían transferido embriones procedentes de ovocitos di mórficos (20%, frente a 58,3% en di mórficos). Este efecto negativo puede ser explicado por la elevada tasa de aneuploidías encontradas en ovocitos di mórficos. (57) Los diferentes protocolos de estimulación han contribuido a la divergencia que existe en la literatura respecto a la correlación con los resultados de ICSI. (58)

Las anomalías extra citoplasmáticas incluyen irregularidades en la forma de los ovocitos, ampliación del espacio peri vitelino, fragmentación del primer corpúsculo polar y consistencia anormal del oolema y de la zona pelúcida. Algunos de estos rasgos están asociados con un descenso en la supervivencia de los ovocitos tras la ICSI, (59, 60) pero no con la fecundación ni con la calidad embrionaria.

Sin embargo, un corpúsculo polar intacto con una superficie lisa conlleva un buen pronóstico en términos de fecundación y calidad embrionaria, (51, 55) así como en la tasa de im-

plantación y de embarazo. (55) Otros autores han demostrado también que una serie de factores como corpúsculo polar fragmentado, espacio peri vitelino grande, inclusiones citoplasmáticas, etc., tienen un efecto negativo en relación a la calidad embrionaria y al porcentaje de zigotos.

Se han descrito diversas anomalías morfológicas del ovocito que poseen un factor pronóstico en reproducción asistida.

Características morfológicas del ovocito:

- Corpúsculo polar: la presencia de un corpúsculo polar di mórfico, aunque no afecte a la tasa de fecundación, sí afecta al posterior desarrollo del embrión, así como a la tasa de embarazo. (54, 59, 60)
- Espacio peri vitelino: un espacio peri vitelino agrandado, irregular, con contenido en su interior, disminuye la tasa de embarazo, aunque no afecte a la tasa de fecundación. (54, 59, 60)
- Zona pelúcida: la existencia de una zona pelúcida engrosada, adelgazada, irregular o tabicada o con diferente densidad, afecta a la tasa de ovocitos que no continúan su desarrollo tras la ICSI. (59, 60)
- Citoplasma: la presencia de anomalías del citoplasma como granulaciones, inclusiones, cuerpos retráctiles, vacuolas, etc., se ha demostrado que disminuye la tasa de embarazo. (54, 56, 61) Otros autores consideran que las anomalías en el citoplasma son un factor pronóstico pobre, aunque sí un signo de inmadurez citoplasmática. Se ha demostrado una relación directa entre las anomalías citoplasmáticas y el número de aneuploidías. (56, 57)

1.10 Clasificación de Calidad Embrionaria

Considero relevante el establecer el criterio de clasificación embrionaria utilizada en un ciclo de reproducción asistida. Esta se realiza en el laboratorio de reproducción asistida, una vez realizada la fecundación in vitro con la finalidad de seleccionar los embriones a ser transferidos.

Lo primero es conocer cuáles son pasos que sigue un embrión día a día. En cada uno de los pasos o estadios podemos fijarnos en algunas características que nos revelen el potencial del embrión para implantar y dar lugar a un embarazo, esto es, su calidad.

Un cigoto es el embrión “recién fecundado”, se debe observar entre las 16 y 22 horas tras su inseminación y debemos ser capaces de distinguir sus 2 corpúsculos polares (CP) y sus dos pronúcleos (PN), el femenino y el masculino. La existencia de los 2 PN confirma que ha habido fecundación y cualquier desviación en su número, 1, 3 o más, indica una fecundación anómala y un embrión no viable.

Tras las dos primeras divisiones del embrión genera 4 células, llamadas blastómeras, y su aspecto va a ser decisivo en la clasificación, igual que el número que debe ser el adecuado. La observación se lleva a cabo entre las 44 y 47 horas pos inseminación y debemos observar que las 4 células sean aproximadamente iguales en tamaño, no tengan más de 1 núcleo y valorar el porcentaje de fragmentación que se observa entre ellas.

Atendiendo a estos parámetros, junto con el examen de la membrana externa, podemos distinguir los embriones en 4 tipos, de la A a la D, desde la mejor calidad a los embriones con menos potencial. Para los embriones de día 3 se sigue el mismo patrón de clasificación, observándolos entre las 67 y las 71 horas pos inseminación. Además, se puede observar en estos embriones si comienza de manera temprana la compactación de sus células, preparando así el paso al siguiente estadio.

Una mórula es un embrión en día 4, entre 94 y 98 horas pos inseminación, y aporta poca información pues al haberse compactado todas sus células, no podemos observar rasgos distintivos entre estos embriones. Aun así podemos observar si la compactación se ha hecho completamente o ha dejado fuera alguna célula.

Entre las 112 y 120 horas pos inseminación debemos de encontrar el último estadio, el Blastocisto. El embrión en este momento ya ha activado completamente su genética y aunque no todos los embriones alcancen este estadio “in vitro”, aquellos que lo hacen son embriones con un potencial implantatorio mayor. Estos embriones se clasifican en función de su grado de expansión (del 1 al 6), del estado de su masa celular interna (A, B, C, D) y de su trofoectodermo o capa celular externa (A, B, C, D). Así un blastocisto óptimo de día 5 debe responder a la fórmula “3AA”.



Figura 1 Clasificación de embriones

- A) Embrión de óptima calidad con máxima capacidad de implantación.
- B) Embrión de buena calidad con elevada capacidad de implantación.
- C) Embrión regular con bajas posibilidades de implantación.
- D) Embrión de mala calidad con muy pocas posibilidades de implantación.

Si bien toda esta clasificación es muy visual y un tanto subjetiva, actualmente se realizan todo tipo de estudios para reconocer los patrones de actividad metabólica de los embriones más capacitados y encontrar así cuales son los idóneos para transferir. (62)

Es importante señalar que en muchos centros de reproducción asistida, la anterior clasificación se ha simplificado en 3 grupos a su calidad en buenos, regulares y malos, también de acuerdo al número, tamaño y forma de los blastómeros y su grado de fragmentación. Se considera entonces que embriones de buena calidad son aquellos que cuentan con un mínimo de 8 células y con menos del 10% de fragmentación, de regular calidad a los embriones con 6-7 células y con 10-30% de fragmentación y embriones malos a los que presentaron menos de 6 células y más del 30% de fragmentación.

2 Justificación

El presente trabajo pretende comprobar el efecto de la leptina en el eje hormonal reproductivo. Los trastornos en la alimentación son un problema actual de salud pública; El uso de dietas restrictivas severas con el fin de lucir una figura esbelta ha conllevado a la aparición de nuevos casos de anorexia y bulimia. Por el contrario, la dieta occidental, así como las comodidades actuales, han favorecido un estilo de vida por demás sedentario, con la consecuente aparición de obesidad en sus diferentes grados. Ambos extremos patológicos en el índice de masa corporal han reportado problemas reproductivos que suelen corregirse con el restablecimiento de un adecuado peso.

Existen evidencias que demuestran que la leptina está relacionada en el control del sistema reproductivo de los animales. Así mismo, como hemos descrito anteriormente, existen múltiples publicaciones que correlacionan la leptina con el sistema reproductor de los humanos.

3 Hipótesis

3.1 Hipótesis principal

Aquellas pacientes con un índice de masa corporal menor a 20 ó lo contrario, mayor a 25, verán alterados sus niveles de leptina sérica e intrafolicular, afectando de igual manera tanto la estimulación ovárica controlada, la cantidad de folículos ováricos, la calidad de ovocitos y por ende la tasa de embarazo.

3.2 Hipótesis alterna

Las pacientes con un índice de masa corporal menor a 20 ó lo contrario, mayor a 25, verán alterados sus niveles de leptina sérica e intrafolicular, pero la estimulación ovárica controlada no se verá afectada, ni la cantidad de folículos ováricos, ni la calidad de ovocitos, ni la tasa de embarazo.

3.3 Hipótesis nula

Aquellas pacientes con un índice de masa corporal menor a 20 ó lo contrario, mayor a 25, no verán alterados sus niveles de leptina sérica e intrafolicular, sin afectar de igual manera tanto la estimulación ovárica controlada, la cantidad de folículos ováricos, la calidad de ovocitos y por ende la tasa de embarazo.

4 Objetivos

4.1 Objetivo principal

Evaluar la influencia de la leptina sobre la respuesta ovárica en un protocolo corto de estimulación con antagonistas de la GnRH en mujeres que se someten a ciclo de Fecundación in vitro, así como en los resultados en tasas de gestación.

4.2 Objetivos secundarios

1. Demostrar la relación existente entre el índice de masa corporal (IMC) y los valores séricos de leptina de las pacientes candidatas a protocolos de reproducción asistida, mediante determinaciones realizadas antes de iniciar tratamiento y posterior a la estimulación ovárica controlada el día de la punción, utilizando un esquema corto con antagonistas de GnRH (Cetrorelix).
2. Correlacionar los niveles de leptina intrafolicular con tasas de fertilización ovocitaria. La evaluación se hará por grupos de mujeres según el índice de masa corporal y concentración de estradiol al momento de la HCG.
3. Determinar la asociación del número de folículos aspirados con las concentraciones de estradiol sérico al día cinco de estimulación y al día de la administración de HCG, así como con la leptina sérica basal e intrafolicular.
4. Comparar las concentraciones de leptina intrafolicular con la concentración de leptina basal y el índice de masa corporal.
5. Correlacionaremos el número y tipo de oocitos recuperados con las concentraciones séricas e intrafoliculares de leptina.

6. Correlacionaremos las concentraciones de leptina sérica, intrafolicular e índice de masa corporal con el grado de calidad embrionaria.

5 Variable de eficacia primaria (*End point*)

En éste estudio la variable de eficacia primaria será el número de folículos estimulados mayores de 16 mm, y su concentración de leptina, así como el número y calidad de ovocitos y embriones.

6 Pacientes y métodos

Los sujetos del presente estudio resultaron en un total de 87 quienes sumaron un total de 94 ciclos de fertilización in vitro ó de ICSI, entre Marzo de 2008 y Marzo de 2012.

Los controles de peso y la estatura de la paciente se realizaron con la misma báscula, calibrada el primer día de visita a la clínica. Las causas de esterilidad/infertilidad fueron categorizadas como factor masculino mediante seminograma, factor tubárico mediante histerosalpingografía ó laparoscopia, endometriosis por laparoscopia, endócrino-ovárico por perfiles hormonales y/o 2 de los siguientes datos: oligo/amenorrea, hirsutismo e hiperandrogenismo, ovarios poliquísticos (ultrasonografía) y por último otras causas específicas como edad avanzada y por supuesto esterilidad de causa inexplicable tras realizar las pruebas diagnósticas y ser todas ellas normales.

A todas las pacientes se les realizó un tratamiento con antagonistas de GnRH (Cetrorelix, Serono, Suiza) entre el quinto y séptimo día de estimulación ovárica, dependiendo del grosor endometrial (mayor de 5 mm), que los niveles de estradiol fueran igual o mayores a 500 y/o folículos mayores de 10 mm y con menotropinas (Merapur, Ferring GmbH Alemania) a dosis iniciales de 150 a 225 UI en mujeres jóvenes y delgadas con ovarios con más de 5 folículos y de 300 UI en mujeres obesas o bien mayores de 38 años de edad en promedio y a dosis respuesta con control de estradiol cada tercer día y seguimiento folicular ultrasonográfico. La ovulación fue inducida una vez que se alcanzó al menos un folículo mayor de 17 mm de diámetro con 10,000 UI de HCG (Choragón, Ferring GmbH, Alemania) y los ovocitos fueron obtenidos por punción y aspiración folicular endovaginal guiada por ecografía.

Se cuantificaron niveles de leptina sérica, mediante técnica de radioinmunoanálisis, así como niveles basales hormonales y, el día del disparo con HCG, valores de estradiol. Durante la estimulación con gonadotropinas se determinaron las concentraciones de estradiol y LH en cada control ecográfico realizado durante el seguimiento del crecimiento y maduración folicular. La cuantificación de leptina de líquido folicular se obtuvo centrifugando 1ml

de líquido el día de la punción folicular. Los niveles de estradiol, así como estudios hormonales basales fueron procesados en Ingenes y los valores de leptina sérica e intrafolicular, fueron obtenidos en Ingenes y las muestras de líquido folicular y sangre remitidos al laboratorio Biomédica de Referencia para su análisis.

La manipulación de los gametos, fertilización y cultivos embrionarios fueron realizados de conformidad con los procedimientos estándar de FIV. Resumiendo, se utilizó el medio IVF (Medi-Cult, Copenhague Dinamarca) durante los procesos de inseminación ovocitaria y cultivo embrionario. En los ciclos ICSI se micro-inyectó espermias eyaculados. Los embriones fueron clasificados de acuerdo al número, tamaño y forma de los blastómeros y su grado de fragmentación, en donde se consideraron como embriones de buena calidad a aquellos con un mínimo de 8 células y con menos del 10% de fragmentación, de regular calidad a los embriones con 6-7 células y con 10-30% de fragmentación y embriones malos a los que presentaron menos de 6 células y más del 30% de fragmentación. Los embriones fueron transferidos al tercer día, excepto en los casos con pocos embriones (≤ 2), los cuales fueron transferidos en el día 2. Como norma, 2 embriones fueron transferidos. Se dio soporte a la fase lútea hasta por 14 días posterior a la punción folicular, consistente en aplicación intravaginal de perlas de progesterona sódica micronizada a razón de 300 mgs cada 8 horas.

6.1 Diseño del estudio

Estudio observacional causa-efecto prospectivo.

6.1.1 Definición de los grupos de paciente

Tres cohortes que corresponden a los siguientes valores de Índice de Masa Corporal:

- a) IMC entre 20 a 25
- b) IMC menor de 20
- c) IMC mayor a 25

6.1.2 Criterios de inclusión

La captación de pacientes se hizo en forma estricta utilizando los siguientes criterios de inclusión:

- Pacientes de 21 – 40 años de edad.
- Pacientes candidatas al programa de fertilización in vitro con transferencia embrionaria con alguno de los siguientes diagnósticos.
 - Factor endócrino-ovárico. (Falla ovárica, fase lútea deficiente)
 - Factor tubárico de esterilidad.
 - Factor uterino.
 - Factor desconocido.
 - Endometriosis I y II AFS.
 - Síndrome de ovarios poliquísticos.
 - Pacientes sanas donadoras en programa de donación de ovocitos.
 - Pacientes presumiblemente sanas con factor masculino de esterilidad.

6.1.3 Criterios de exclusión

- Pacientes en las que no se realizó captura ovular.
- Pacientes en las que se canceló el ciclo por mala respuesta.
- Pacientes con riesgo de Síndrome de Hiperestimulación Ovárica.

6.1.4 Criterios de no inclusión

- Pacientes con factor endócrino-ovárico de esterilidad.
- Pacientes con Hipo ó Hipertiroidismo.
- Pacientes con contraindicación para el uso de gonadotrofinas.

- Pacientes que no estén dispuestas a firmar el consentimiento informado.
- Pacientes con endometriosis III y IV AFS.

6.2 Método

Se incluyeron a todas las pacientes del Instituto de Infertilidad y Genética Ingenes (México) con diagnóstico de esterilidad por factor masculino y/o factor tubo-peritoneal, pero candidatas a fertilización In Vitro (FIV) o a inyección Intracitoplasmática de Esperma (ICSI).

Las pacientes fueron pesadas y medidas y así se formaron 3 grupos de forma secuencial y de acuerdo al IMC cuyo valor se encontró entre 20 y 25, otro para pacientes cuyo I.M.C. fue inferior a 20 y otro más cuyo IMC fue superior a 25.

A todas las pacientes bajo estimulación ovárica se les realizó supresión mediante protocolo corto con antagonistas de GnRH del tipo Cetrotide (Cetrorelix)MR iniciando el primer día de ciclo de estimulación con rFSH (Puregón)MR. ó Menotropinas (Merapur) MR. (HMG)

Se tomaron muestras de sangre en cada visita de la paciente, desde el día de la primer consulta, los días 5 y 8 del ciclo de estimulación, durante los ultrasonidos de seguimiento folicular y el día de la punción folicular, se procedió a centrifugar a 2500 rpm por 15 minutos cada tubo, para luego obtener 1 ml de suero, el cual fue enviado al laboratorio de referencia clínica-científica Biomédica de Referencia para el análisis de leptina. El día de la punción folicular, se tomó y envió también al mismo laboratorio una muestra de líquido folicular para analizar la leptina contenida en el pool obtenido del líquido folicular.

Se cuantificaron los niveles de leptina séricas, mediante técnica de ELISA, así como niveles basales de estradiol, al igual que niveles el día disparo con HCG. Durante la estimulación con gonadotropinas se determinaron concentraciones de estradiol en cada control ecográfico que se realizó durante el seguimiento del crecimiento y maduración folicular. Los anteriores análisis, fueron procesados en el laboratorio clínico de Ingenes.

Se realizaron ecografías a todas las pacientes los días de estimulación 3, 5 y 8, con el fin de medir y contar los folículos presentes en ambos ovarios, así como medir el grosor endometrial, antes y después de la estimulación.

6.3 Valores de referencia

Se contó con el apoyo del Laboratorio Biomédica de Referencia para procesar las muestras de sangre y de líquido folicular destinadas a la cuantificación de leptina. De acuerdo a la información proporcionada por el laboratorio, los valores normales de leptina sérica fueron de 3.6 a 72.4 ng/ml para pacientes de sexo femenino en edad reproductiva.

Tabla 1 Análisis de Leptina (Valores del laboratorio Biomédica de Referencia)

Característica	Descripción
Tipo de Muestra	Sangre sin anticoagulante
Tipo de Contenedor	Tubo tapón rojo
Requerimiento de la Muestra	Suero 1 mL
Estabilidad de la Muestra	15 meses congelado (A -70 °C)
Volumen Mínimo	Tubo lleno
Temperatura al Envío	Refrigerado
Metodología	ELISA

Tabla 2 Valores de Referencia

Sexo	Código	Bajo	Alto	Unidad de Medida
Femenino	19426 Leptina	3.6	72.4	ng/mL

6.4 Análisis estadístico y manejo de datos

Los datos que presentaron una distribución normal fueron presentados como media (desviación estándar), los datos con distribución logarítmica normal fueron presentados como media geométrica (95% intervalo de confianza). Los datos para los ciclos de manera indistinta para FIV e ICSI fueron analizados y agrupados de acuerdo a su índice de masa corporal según los 3 grupos expresados en hojas anteriores.

Se utilizaron modelos lineales para evaluar la asociación lineal entre los grupos de índice de masa corporal y las variables continuas. En estos análisis, se incluyeron a la edad y a la causa de infertilidad como covariables, para poder así examinar el efecto independiente del índice de masa corporal. Se utilizó la prueba de chi cuadrada (X^2) para tendencia lineal para evaluar la asociación entre los grupos de masa corporal y las variables.

El ajuste de los modelos logísticos fue evaluado mediante la prueba Hosmer-Lemeshow. Los índices acumulados de nacimientos vivos fueron calculados con la prueba Kaplan-Meier, y fueron comparados con los 3 diferentes grupos la prueba de rango logarítmica para esa tendencia.

Se utilizó el paquete estadístico JMP 10 (S.A.S. Institute 2012, Carolina del Norte, USA)

6.4.1 Variables estadísticas

Variables Generales

Variable	Tipo de variable	Valor normal
Edad	Ordinal	21-40 años
Índice de masa corporal	Ordinal	20 – 25
Causa de esterilidad	Nominal	
Años de esterilidad	Ordinal	Más de 1 año
Número de ciclo	Ordinal	

Evaluación Basal

Variable	Tipo de variable	Valor normal
Ovario derecho (#folículos)	Ordinal	
Ovario izquierdo (#folículos)	Ordinal	
Endometrio basal	Ordinal	
Estradiol basal	Ordinal	
Leptina sérica basal	Ordinal	3.6 – 72-4 ng/ml

Medicamentos

Variable	Tipo de variable
Cetrorelix (Dosis)	Ordinal
Cetrorelix (Total ampolletas)	Ordinal
Cetrorelix (Total costo/ciclo)	Ordinal
FSHr (Dosis)	Ordinal
FSHr (Total ampolletas)	Ordinal
FSHr (Días tratamiento)	Ordinal
FSHr (Total costo/ciclo)	Ordinal
HMG (Dosis)	Ordinal
HMG (Total ampolletas)	Ordinal
HMG (Días tratamiento)	Ordinal
HMG (Total costo/ciclo)	Ordinal

Día 5 de estimulación

Variable	Tipo de variable
Ovario derecho (Folículos)	Ordinal
Ovario izquierdo (Folículos)	Ordinal
Endometrio	Ordinal
Estradiol	Ordinal

Día 8 de estimulación

Variable	Tipo de variable
Ovario derecho (Folículos)	Ordinal
Ovario izquierdo (Folículos)	Ordinal
Endometrio	Ordinal
Estradiol	Ordinal

Día 13 de estimulación

Variable	Tipo de variable
Ovario derecho (Folículos)	Ordinal
Ovario izquierdo (Folículos)	Ordinal
Endometrio	Ordinal
Estradiol	Ordinal

Punción folicular

Variable	Tipo de variable
Estradiol	Ordinal
Folículos aspirados	Ordinal

Laboratorio de gametos

Variable	Tipo de variable
Ovocitos obtenidos	Ordinal
Ovocitos fecundados	Ordinal
Ovocitos oscuros	Ordinal
Ovocitos expandidos	Ordinal

Embarazo

Variable	Tipo de variable	Valor normal
Fracción beta HCG (12-15)	Ordinal	➤ 5
Diagnóstico por USG (LCF)	Nominal	Presente / Ausente

7 Presentación de resultados

Se generaron tablas que resumieron los resultados de la estadística descriptiva, e inferencial.

8 Consideraciones éticas

El estudio fue planeado conforme a las normas técnicas y éticas del reglamento de investigación científica en seres humanos de la Ley General de Salud de la República Mexicana. El estudio tuvo un carácter meramente observacional y no intervencionista, por éste motivo no se introdujo fármaco de investigación alguno que no fuere previamente aprobado tanto por la FDA (Federal drugs Administration), el Ministerio de Sanidad y Consumo de España, así como por la SS (Secretaría de Salud de la República Mexicana), cumpliendo así con la normatividad de ambos países.

9 Resultados

Se estudió a un total de 88 pacientes, con una edad promedio de 32.3 años con una desviación estándar de 5.7 años, con una mediana de 3 años de infertilidad. La mayoría acudieron con un solo intento de reproducción asistida con un rango de 1 a 6 intentos previos. De éstas 88 pacientes en una se realizaron cuatro ciclos y en un paciente tres ciclos, dando un total de 94 ciclos.

Se obtuvieron y aspiraron de manera global un promedio de 17 folículos, obteniendo así una mediana de 14.5 ovocitos y fecundándose una mediana de 9, se reporta mediana debido a la distribución de los resultados por sesgo de algunos valores. De estos 94 ciclos, se obtuvo embarazo visible con latido cardiaco presente en 53 casos (56.4%), con una mediana de 1 sacos embrionarios, cuyo rango siempre fue limitado a un máximo de 3 embriones transferidos

Tabla 3 Medidas de tendencia central de las variables del estudio

Variable	Medida de tendencia central (Dispersión)
Edad	32.3 (5.7) ^a
IMC	23.4 (4.4) ^a
Años de esterilidad	3 (3, 1 - 14) ^b
Número de ciclo	1 (1, 1 - 6) ^b
Folículos antrales	14 (10, 0 - 50) ^b
Leptina sérica basal	4.1 (4.5, 0.5 - 43.9) ^b
Folículos Ovarios (día 5)	17.5 (11, 2 - 55) ^b
Estradiol (día 5)	536.5 (532.7, 29.4 - 1869) ^b
Folículos Ovario (día 7)	19 (11.25, 2 - 65) ^b
Endometrio (día 7)	8.45 (2.2, 4.8 - 13.7) ^b
Estradiol (día 7)	1065.5 (1269.8 113 - 5242) ^b
Estradiol (disparo HCG)	2768 (2467.5, 350 - 9339) ^b
Leptina Folicular	12.0 (12.8, 0.5 - 75.0) ^b
Folículos aspirados	17 (13, 0 - 75) ^b
Ovocitos obtenidos	14.5 (11.5, 0 - 73) ^b
Ovocitos fecundados	9 (9.5, 0 - 36) ^b
Ovocitos oscuros	4 (4.3, 0 - 13) ^b
Ovocitos expandidos	7 (9, 0 - 30) ^b
β HCG	30 (187.5, 0 - 623.0) ^b
LCF en USG (+)	53 (56.4%) ^c
Sacos gestacionales	1 (2, 0 - 3) ^b

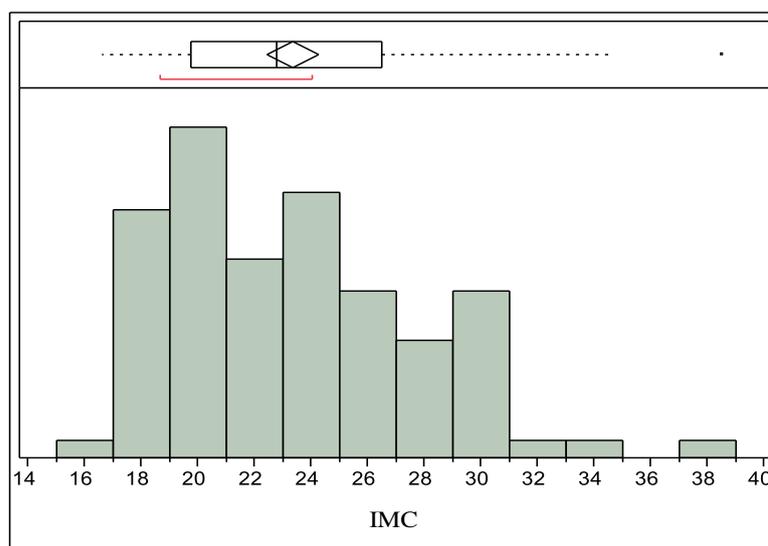
^a media (desviación estándar); ^b mediana (rango intercuartil, mínimo-máximo); ^c número de casos (%)

La distribución por las causas de esterilidad de las pacientes se puede apreciar en la tabla 4.

Tabla 4. Frecuencias de causas de esterilidad (incluyendo al grupo “donadoras”)

Estrato de edad	Número de casos (%)
Factor endócrino-ovárico	7 (7%)
Factor tubárico	16 (17%)
Factor uterino	3 (3%)
Factor masculino	11 (12%)
Factor desconocido	5 (5%)
Endometriosis I y II (AFS)	16 (17%)
Síndrome de ovarios poliquísticos	13 (14%)
Donadora	23 (24%)
Total	94 (100%)

En este estudio manejamos la variable índice de masa corporal de dos formas: cuantitativa y cualitativa, según el tipo de análisis estadístico que se utilizan. Si observamos en la figura 2, la distribución del índice de masa corporal en las 87 pacientes y sus 94 ciclos estudiados, es evidente que la mayoría de las pacientes fluctuó entre un índice de masa corporal de 18 y 30, dejando algunos casos extremos en sentido bajo y alto. (IMC 16, 32, 34 y 38)



Media (desviación estándar): 23.4 (4.4)

Figura 2 Distribución de índice de masa corporal en los 94 ciclos estudiados

Como se puede ver en la tabla 5, las pacientes fueron divididas según su índice de masa corporal, resultando dicha distribución en tercios. Este estudio interpreta a las mujeres delgadas como aquellas con un índice de masa corporal inferior a 20, de conformidad con los lineamientos tradicionales de nutriólogos. (63)

Tabla 5. Frecuencias de las pacientes agrupadas por índice de masa corporal

Estrato de edad	Número de casos (%)
Delgadas (<20)	33 (35%)
Normales (20-25)	31 (33%)
Sobrepeso/Obesas (>25)	30 (32%)
Total	94 (100%)

Al igual que el índice de masa corporal, la variable edad, también fue manejada como cuantitativa o cualitativa. La edad fue dividida en cinco estratos a las pacientes sometidas a FIV-TE, quedando como a continuación se observa en la tabla 6.

Tabla 6 Frecuencias de las pacientes por grupos de edad

Estrato de edad	Número de casos (%)
<25 ^a	12 (13%)
25-29 ^a	13 (14%)
30-34 ^a	37 (39%)
35-39 ^a	25 (27%)
>40 ^a	7 (7%)
Total	94 (100%)

En la figura 3 se presenta el gráfico de la matriz de correlación entre las variables edad, IMC, leptina basal y recuento de folículos antrales. En este análisis las variables edad, IMC y leptina basal están tratadas como cuantitativas. La correlación fue evaluada por el ρ de Spearman, debido a la incompatibilidad con el modelo normal de todas estas cuatro variables evaluadas por la prueba de bondad de ajuste de Shapiro-Wilk al nivel de $p < 0.05$. La variable edad presentó correlación positiva con IMC ($\rho = 0.53$, $p < 0.0001$) y con el recuento de folículos se correlacionó negativamente ($\rho = -0.58$, $p < 0.0001$), mientras que entre IMC y el recuento de folículos se observó una correlación negativa ($\rho = -0.30$, $p = 0.0029$). Por lo que toca a la leptina basal con el número de folículos basales, se observó una correlación negativa. Como se pudo observar, todas estas correlaciones fueron muy altamente significativas.

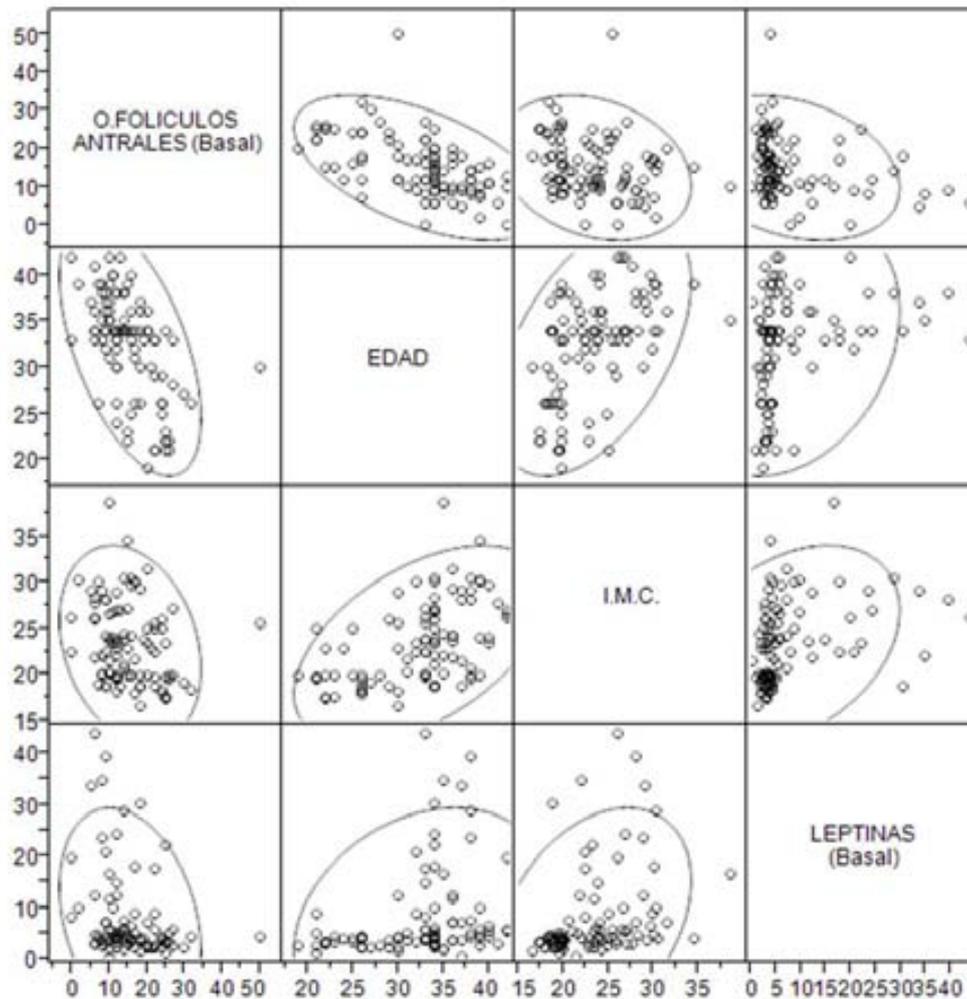


Figura 3 Correlación entre edad, IMC, leptina basal y recuento de folículos antrales

Para determinar la asociación entre la edad y causas de esterilidad se realizó un análisis de regresión logística siendo la variable dependiente las causas de esterilidad y la variable independiente, edad. En la figura 4 se presenta el resultado en forma gráfica. El modelo fue altamente significativo ($p < 0.0001$) en el cual se observó lo siguiente: la probabilidad de presentar síndrome de ovarios poliquísticos y esterilidad por causa desconocida resultó ser mayor en pacientes jóvenes, en contraste con el factor endócrino-ovárico y tubárico, los cuales se presentaron en pacientes de mayor edad. La probabilidad de tener como causa de esterilidad los factores masculino, uterino y endometriosis no presentó asociación con la edad de la paciente.

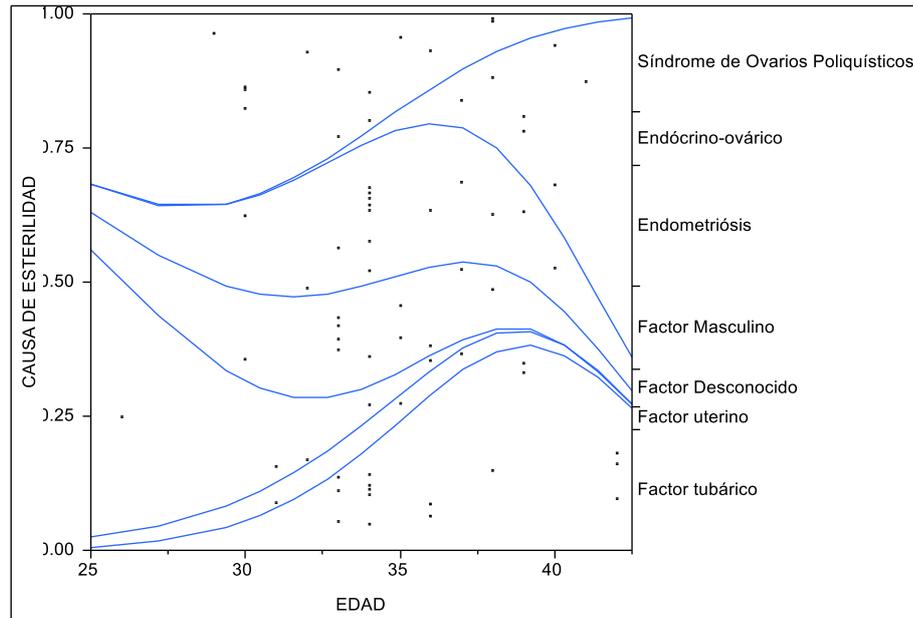


Figura 4 Probabilidad de causas de esterilidad asociada a la edad, excluyendo al grupo “donadoras”

Regresión logística: grado de libertad=6; $\chi^2=27.8$; $p=0.0001$

La gráfica representa el resultado del análisis de regresión logística. En el lado derecho de la gráfica se indica las categorías de los factores de esterilidad, dividiendo la probabilidad total en áreas correspondientes para cada categoría en forma global. Las curvas indican el cambio de las probabilidades correspondientes para cada categoría asociándose con la edad. Ej. Al introducir una línea vertical cortando en 27.5 años de edad, se observa que la probabilidad de esterilidad correspondientes al grupo de factor desconocido y al grupo de síndrome de ovarios poliquísticos es mayor, mientras que para factor uterino y tubárico son prácticamente nulas; Al introducir el corte vertical a los 40 años, las categorías a las que corresponden mayor probabilidad son factor endócrino-ovárico y factor tubárico, siendo nulas ahora tanto para síndrome de ovarios poliquísticos, como para esterilidad por factor desconocido.

Si la comparación anterior la llevamos al promedio de edad, el análisis de varianza de un factor presenta significancia estadística ($p<0.0001$). Según observamos en la figura 5, el promedio para las pacientes donadoras fue mucho menor que los demás grupos. Enfocándonos en los grupos no donadores vemos que el grupo endócrino-ovárico es significativamente mayor al de endometriosis, factor masculino, síndrome de ovarios poliquísticos y al de esterilidad de causa desconocida, mientras que el promedio de edad del factor tubárico es significativamente mayor que al del grupo de esterilidad por causa desconocida (Tabla 7).

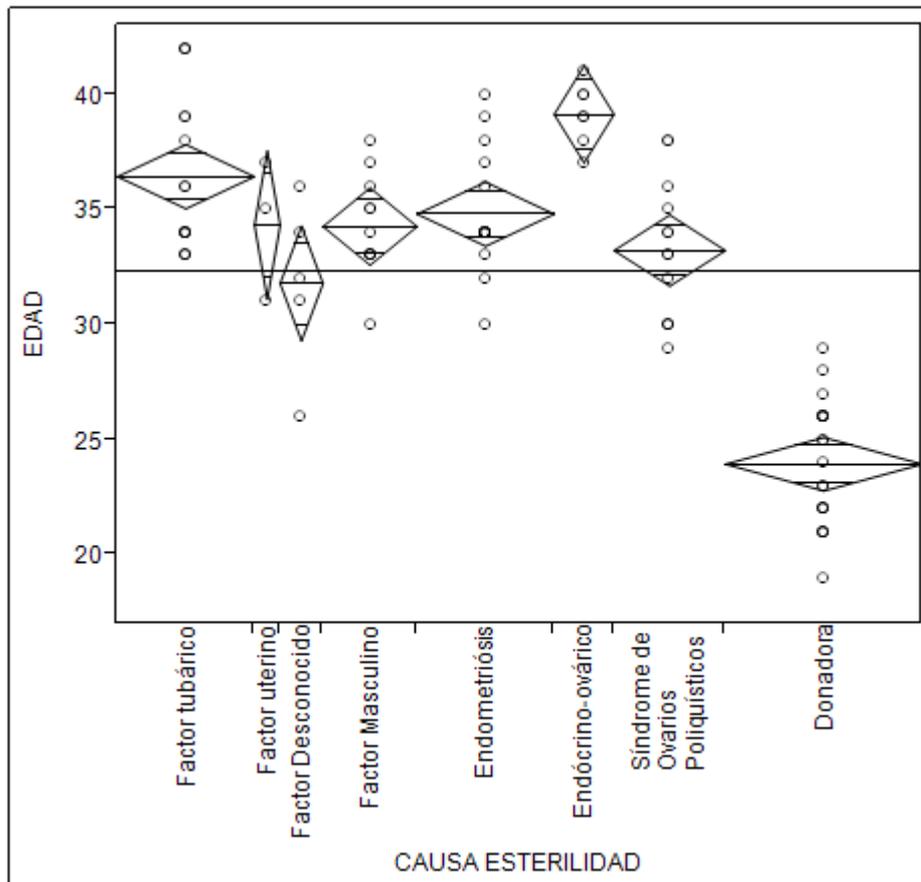


Figura 6 Comparación entre el promedio de edad y causas de esterilidad

ANOVA: $F=43.22$; $p<0.0001$

Tabla 7 Comparación entre el promedio de edad y causas de esterilidad por el análisis de varianza con el procedimiento de comparación múltiple de Tukey-Kramer HSD

Causa de esterilidad	Número de casos	Edad: media (D.E.*)	Comparación múltiple de Tukey HSD**
Endócrino-ovárico	7	39.1 (1.3)	a
Factor tubárico	16	36.4 (3.4)	ab
Endometriosis	16	34.8 (2.6)	bc
Factor uterino	3	34.3 (3.1)	abc
Factor Masculino	11	34.3 (2.2)	bc
Síndrome de Ovarios Poliquísticos	13	33.2 (3.0)	bc
Factor Desconocido	5	31.8 (3.8)	c
Donadora	23	24.0 (2.7)	d

*D.E: desviación estándar

**Los grupos que no comparten la misma letra son diferentes al nivel de $\alpha < 0.05$

Se determinó la asociación entre el índice de masa corporal para cada grupo de causa de esterilidad, para lo cual se realizó un análisis de regresión logística siendo la variable dependiente las causas de esterilidad y la variable independiente el índice de masa corporal. En la figura 6 se presenta el resultado en forma gráfica. El modelo fue estadísticamente significativo ($p=0.0247$). Veremos que los grupos síndrome de ovarios poliquísticos y endócrino-ovárico presentaron un aumento gradual de probabilidad al incrementar el índice de masa corporal, mientras que el grupo endometriosis se observa con mayor probabilidad en mujeres delgadas y conforme aumenta el IMC éste disminuye. Los grupos factor masculino, factor uterino, factor desconocido y factor tubárico, no tuvieron una asociación significativa con el índice de masa corporal.

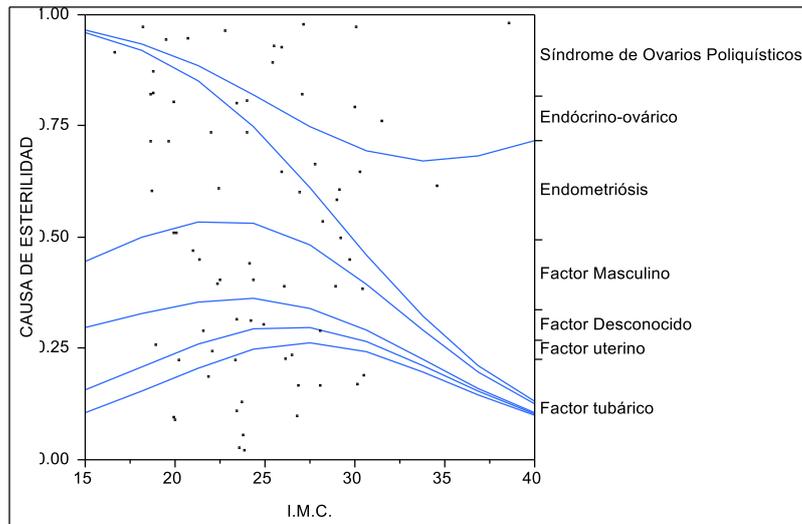


Figura 7 Probabilidad de causas de esterilidad asociada al IMC, excluyendo al grupo “donadoras”

Regresión logística: grado de libertad=6; $\chi^2=14.5$; $p=0.0247$

La gráfica representa el resultado del análisis de regresión logística. En el lado derecho de la gráfica se indica las categorías de los factores de esterilidad, dividiendo la probabilidad total en áreas correspondientes para cada categoría en forma global. Las curvas indican el cambio de las probabilidades correspondientes para cada categoría asociándose con el IMC. Ej. Al introducir una línea vertical cortando en 27.5 años de edad, se observa que la probabilidad de esterilidad se asocia mayormente en las mujeres delgadas al grupo de pacientes con endometriosis y secundariamente para el grupo de esterilidad por causa desconocida; Al introducir el corte vertical en mujeres con IMC mayor de 35, las categorías a las que corresponden mayor probabilidad son las pacientes con síndrome de ovarios poliquísticos y factor endócrino-ovárico.

Al comparar los promedios de IMC entre los grupos estudiados, el análisis de varianza de un factor presentó significancia estadística ($p<0.0001$). Observamos que el promedio para las pacientes donadoras es significativamente menor en comparación a los grupos endócrino-ovárico, ovarios poliquísticos y tubárico. El grupo endócrino-ovárico es significativamente mayor que el grupo denominado endometriosis (Figura 7, Tabla 8).

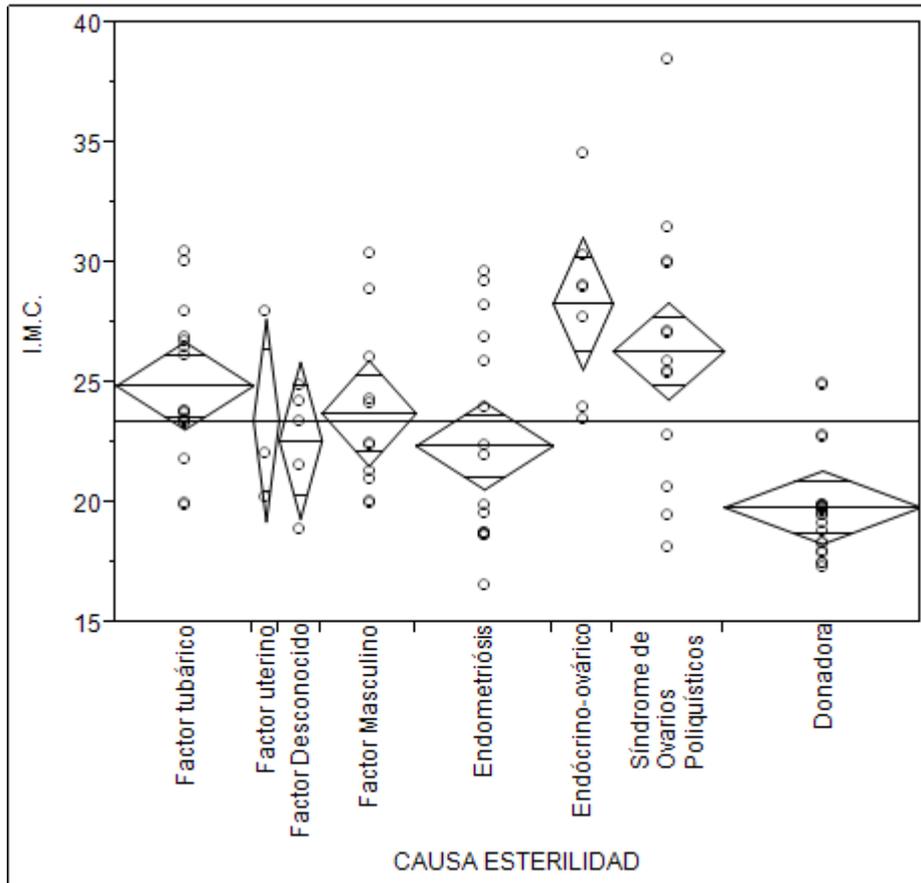


Figura 8 Comparación de los promedios de IMC entre las causas de esterilidad

ANOVA: Razón de $F=6.69$; $p<0.0001$

Tabla 8 Comparación entre el promedio de IMC y causas de esterilidad por el análisis de varianza con el procedimiento de la comparación múltiple de Tukey-Kramer HSD

Causa de esterilidad	Número de casos	IMC: media (D.E.*)	Comparación múltiple de Tukey HSD**
Endócrino-ovárico	7	28.3 (3.8)	a
Síndrome de Ovarios Poliquísticos	13	26.3 (5.5)	ab
Factor tubárico	3	24.9 (3.1)	ab
Factor Masculino	11	23.8 (3.5)	abc
Factor Uterino	3	23.5 (4.1)	abc
Factor Desconocido	5	22.6 (2.4)	abc
Endometriosis	16	22.4 (4.4)	bc
Donadora	23	19.8 (2.1)	c

*D.E: desviación estándar

**Los grupos que no comparten la misma letra son diferentes al nivel de $\alpha < 0.05$

Al comparar los promedios de recuento de folículos basales entre los grupos estudiados, el análisis de varianza de un factor presentó significancia estadística ($p < 0.0001$). Observamos que el promedio para las pacientes donadoras es significativamente mayor en comparación a los grupos endometriosis, tubárico, masculino, uterino y endócrino-ovárico. El grupo de síndrome de ovarios poliquísticos es significativamente mayor que los grupos endometriosis, tubárico, masculino, y endócrino-ovárico (Figura 8, Tabla 9).

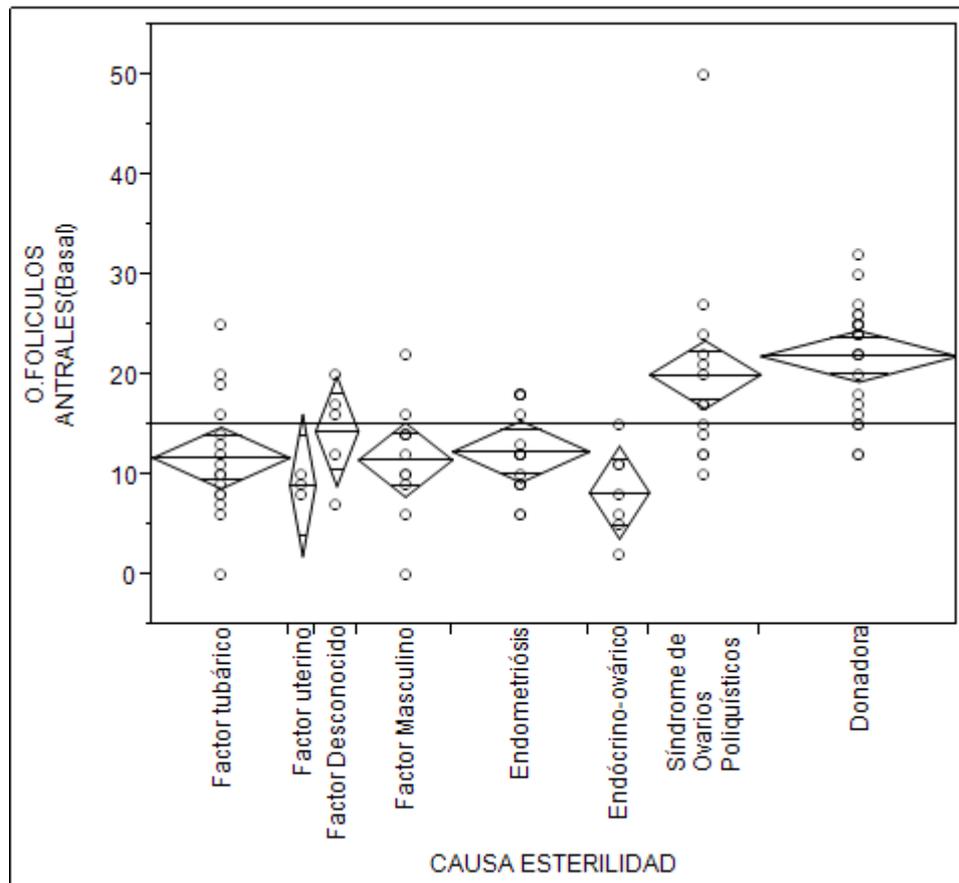


Figura 9 Comparación de los promedios de recuento de folículos basales entre las causas de esterilidad

ANOVA: Razón de F=8.47; $p < 0.0001$

Tabla 9 Comparación entre el promedio del recuento de folículos basales y causas de esterilidad por el análisis de varianza con el procedimiento de comparación múltiple de Tukey-Kramer HSD

Causa de esterilidad	Número de casos	Número de folículos antrales: media (D.E.*)	Comparación múltiple de Tukey HSD**
Donadora	23	21.9 (5.4)	a
Síndrome de Ovarios Poliquísticos	13	20.1 (10.3)	ab
Factor Desconocido	5	14.4 (5.0)	abc
Endometriosis	16	12.4 (4.2)	c
Factor tubárico	16	11.8 (6.1)	c
Factor Masculino	11	11.5 (5.7)	c
Factor uterino	3	9.0 (1.0)	bc
Endócrino-ovárico	7	8.3 (4.4)	c

*D.E: desviación estándar

**Los grupos que no comparten la misma letra son diferentes al nivel de $\alpha < 0.05$

En la figura 9, se expone la evaluación de la relación entre la edad y el recuento de folículos antrales por medio del modelo de regresión lineal simple, mismo que fue muy altamente significativo ($p < 0.0001$) y cuyo coeficiente de regresión fue de -0.7438 , es decir que a mayor edad, menor número de folículos basales. Por cada año se espera una reducción de 0.7 folículos y por cada 10 años la reducción sería de alrededor de 7 folículos.

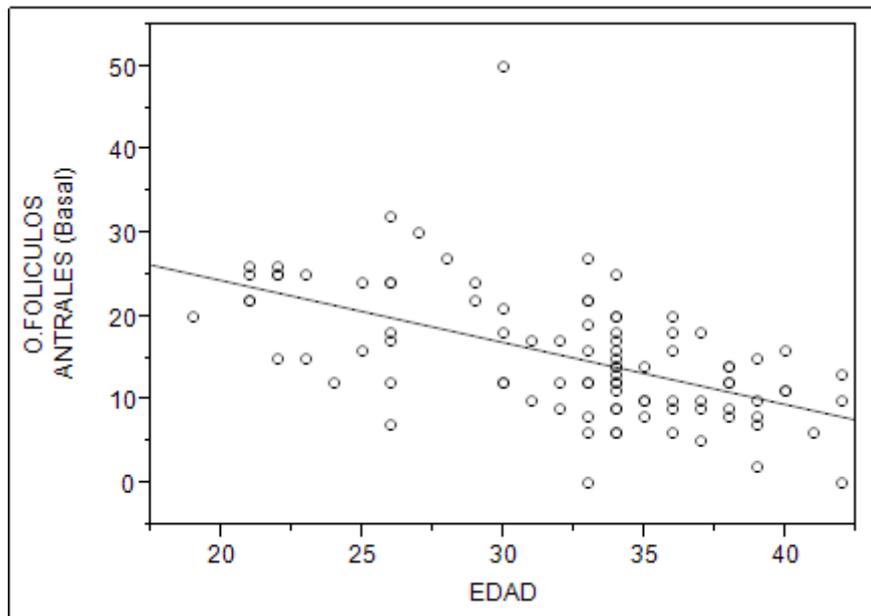


Figura 10 Análisis de regresión lineal simple: edad y recuento folicular basal

Linear Fit				
O.FOLICULOS ANTRALES(Basal) = 39.290019 - 0.743828*EDAD				
Summary of Fit				
RSquare		0.303712		
RSquare Adj		0.296144		
Root Mean Square Error		6.48011		
Mean of Response		15.26596		
Observations (or Sum Wgts)		94		
Analysis of Variance				
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio
Model	1	1685.1027	1685.10	40.1293
Error	92	3863.2483	41.99	Prob > F
C. Total	93	5548.3511		<.0001*
Parameter Estimates				
Term	Estimate	Std Error	t Ratio	Prob> t
Intercept	39.290019	3.850859	10.20	<.0001*
EDAD	-0.743828	0.11742	-6.33	<.0001*

En la figura 10, se expone la evaluación entre el índice de masa corporal y el número de folículos basales por medio del modelo de regresión lineal simple, el cual también resultó estadísticamente significativo ($p < 0.0162$). El coeficiente de regresión de la variable IMC fue de -0.4353, es decir que a mayor IMC, menor número de folículos basales. Por cada unidad de índice de masa corporal, se espera una reducción de 0.4 folículos y por cada 10 unidades de la misma variable la reducción sería de alrededor de 4 folículos.

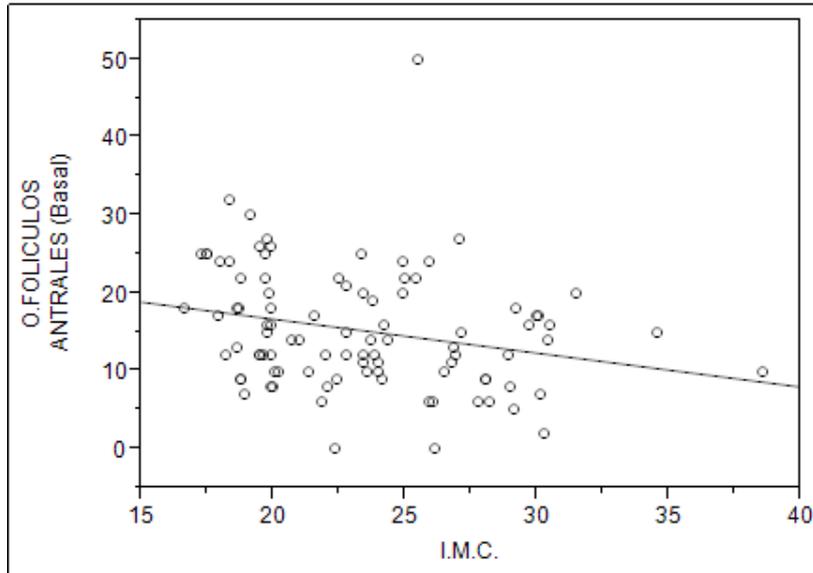


Figura 11 Análisis de regresión lineal simple: índice de masa corporal y recuento folicular basal

(p < 0.05)

Linear Fit				
O.FOLICULOS ANTRALES(Basal) = 25.443255 - 0.4353152*I.M.C				
Summary of Fit				
RSquare		0.061221		
RSquare Adj		0.051017		
Root Mean Square Error		7.524363		
Mean of Response		15.26596		
Observations (or Sum Wgts)		94		
Analysis of Variance				
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio
Model	1	339.6759	339.676	5.9996
Error	92	5208.6752	56.616	Prob > F
C. Total	93	5548.3511		0.0162*
Parameter Estimates				
Term	Estimate	Std Error	t Ratio	Prob> t
Intercept	25.443255	4.226846	6.02	<.0001*
I.M.C.	-0.435315	0.177722	-2.45	0.0162*

En la figura 11 se presenta la asociación entre los grupos categorizados de índice de masa corporal con los factores y causas de esterilidad. El análisis de correspondencia permite observar que existe una asociación entre las mujeres categorizadas como sobrepeso/obesas con los factores endócrino-ovárico y el grupo de síndrome de ovarios poliquísticos,

mientras que las mujeres con peso normal se asocian mayormente con factor uterino, masculino y desconocido. Se puede apreciar que la categoría de mujeres delgadas está fuertemente asociada con mujeres donadoras de ovocitos (A). Debido a que en ésta asociación en nuestro centro las pacientes donadoras fueron jóvenes y coincidentemente delgadas, por tanto tan fuerte como para poder enmascarar otras categorías de factores y causas de esterilidad, así como las categorías de IMC, se llevó a cabo otro análisis de correspondencia en donde se excluyeron al grupo donadoras ovocitos (B). En este análisis mantienen la asociación las categorías sobrepeso/obesas con endócrino-ovárico y síndrome de ovarios poliquísticos, y la de IMC normal con los factores con factor uterino, masculino y desconocido, sin embargo, ahora se observa asociación de la categoría IMC delgada con endometriosis.

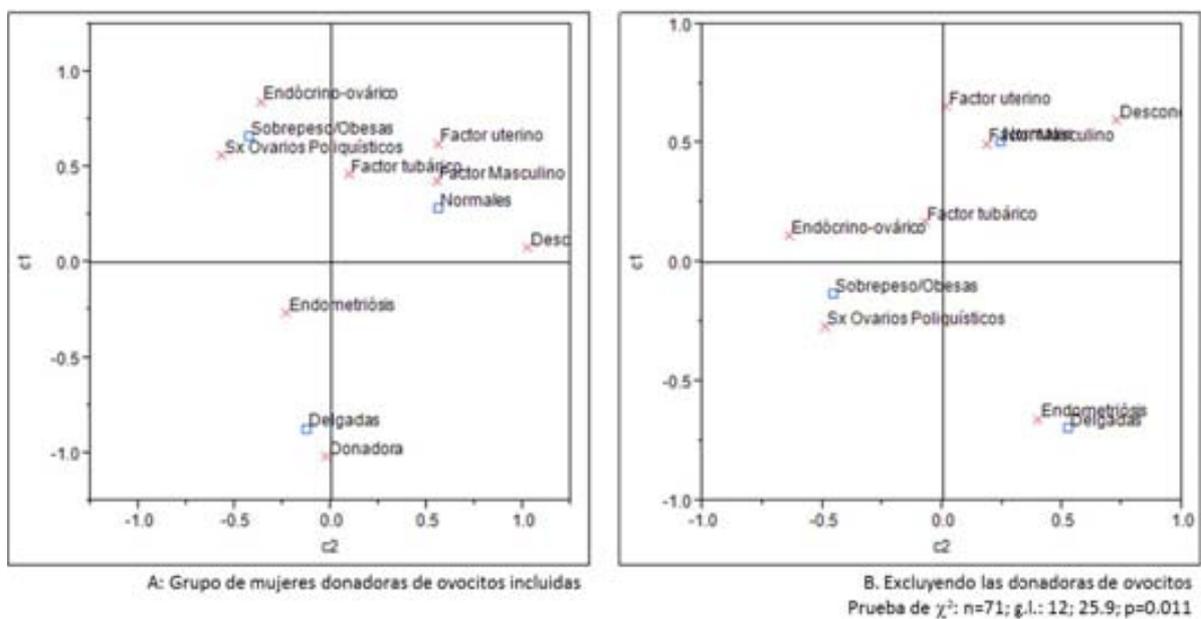


Figura 12 Asociación entre grupos categorizados de IMC y causas de esterilidad por análisis de correspondencia: A. Análisis con mujeres donadoras de ovocitos; B. Análisis sin donadoras de ovocitos

Se construyeron modelos de regresión lineal múltiple para evaluar el efecto de la dosis de HMG con el número de folículos aspirados y el número de ovocitos obtenidos, ajustados por las variables que potencialmente pudieran influir, las cuales fueron: edad; IMC; folículos antrales; leptina basal; leptina folicular y el grosor de endometrio al día 7. Lo mismo fue evaluado valorando el resultado final de la presencia de latido cardiaco fetal por medio del modelo de regresión logística múltiple. El análisis fue realizado primeramente incluyendo todas las mujeres y posteriormente excluyendo los casos con ovocitos donados.

De estos análisis fueron excluidas dos pacientes que presentaron valores muy alejados de las demás: una de ellas con el número de folículos antrales muy grande (50 folículos) y otra con el valor de leptina basal muy baja (0.5), las cuales bajan drásticamente el ajuste de todos los modelos probados, de modo que los análisis que incluyen las mujeres donadoras de ovocitos consisten en 92 casos, mientras que los análisis sin estas mujeres incluyen 69 casos. Para obtener los modelos se utilizó el procedimiento de selección de variables denominado Stepwise combinado de atrás y adelante, estableciendo como criterio para incluir variable en el modelo: $P < 0.20$ y excluir la variable del modelo: $P > 1.0$. Se consideró la inclusión al modelo términos de interacción entre cualquier par de dos variables.

Previo a cada análisis multivariable, se llevó a cabo la determinación de la asociación por separado de las potenciales variables explicativas para cada una de las variables de desenlace (“número de folículos aspirados”, “número de ovocitos obtenidos” y “latido cardíaco fetal”), de manera separada en todos los casos (Tabla 10) y excluyendo a las mujeres donadoras de ovocitos (Tabla 11). Se presenta el resultado de la comparación de los promedios del número de folículos basales entre las pacientes que presentan diferentes causas de esterilidad, mediante los análisis estadísticos de análisis de varianza (para determinar si hay diferencia global entre los grupos) y después mediante comparación múltiple de Tukey-Kramer HSD (para determinar en cual par de grupos se encuentra la diferencia).

Tabla 10 Comparación entre el promedio de recuento de folículos basales y causas de esterilidad por el análisis de varianza con el procedimiento de la comparación múltiple de Tukey-Kramer HSD

Variables	Estimador de coeficiente de regresión	Error estándar	Valor de t	Valor de p
HMG dosis total	0.0001	0.0014	0.03	0.973
Edad	-1.2395	0.1813	-6.84	<0.001
I.M.C.	-1.0532	0.2686	-3.92	0.002
Folículos antrales	1.1429	0.1432	7.98	<0.001
Leptina basal	-0.4060	0.1370	-2.96	0.004
Endometrio día 7	-0.1445	0.7099	-0.20	0.839
Leptina folicular	-0.1646	0.1321	-1.25	0.216
Donadora	-9.2101	1.1143	-8.27	<0.001

Tabla 11 Asociación por separado entre variables condicionantes de mujeres bajo estimulación con HMG y el número de folículos aspirados excluyendo las mujeres donadoras de ovocitos (n=69)

Variables	Estimador de coeficiente de regresión	Error estándar	Valor de t	Valor de p
HMG dosis total	-0.0017	0.0010	-1.76	0.084
Edad	-0.4392	0.2842	-1.55	0.127
I.M.C.	-0.2613	0.2166	-1.21	0.2319
Folículos antrales	0.4569	0.1598	2.86	0.006
Leptina basal	-0.1457	0.0954	-1.53	0.131
Endometrio día 7	-0.0515	0.5709	-0.09	0.929
Leptina folicular	0.0523	0.1010	0.52	0.606

Se evaluó primeramente el efecto de HMG en el aumento del número de folículos aspirados, ajustado por las covariables: edad; IMC; folículos antrales; leptina basal; endometrio día 7; leptina folicular; y donadora. Por Stepwise se obtuvo un modelo estadísticamente significativo sin falta de ajuste (Tabla 12).

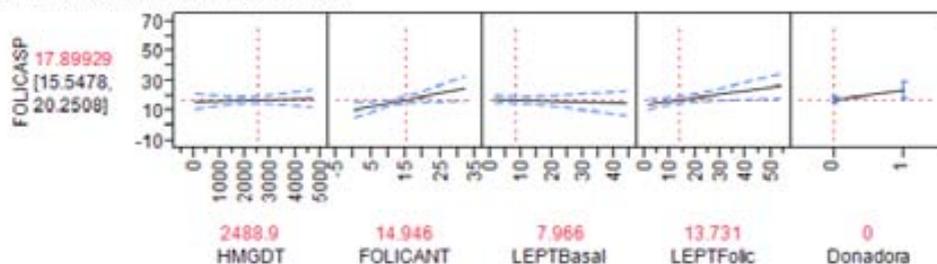
Tabla 12 Los términos que constituyen el modelo de regresión lineal múltiple que evalúa el efecto ajustados de del efecto de HMG dosis total en el número de folículos aspirados con las mujeres donadoras de ovocitos (n=92)

Términos del modelo	Estimador de coeficiente de regresión	Error estándar	Razón de t	P
Intercepto	2.7560	5.1397	0.54	0.5930
HMG dosis total	0.0004	0.0011	0.41	0.6840
Folículos antrales	0.9729	0.1789	5.44	0.0000
Leptina basal	-0.0637	0.1064	-0.60	0.5510
Leptina folicular	0.2337	0.1020	2.29	0.0240
Donadora	-3.2092	1.5102	-2.13	0.0370
HMG dosis total*Folículos antrales	0.0003	0.0001	1.90	0.0600
Folículos antrales*Donadora	-0.5202	0.1890	-2.75	0.0070
Leptina basal*Leptina folicular	-0.0181	0.0072	-2.50	0.0140

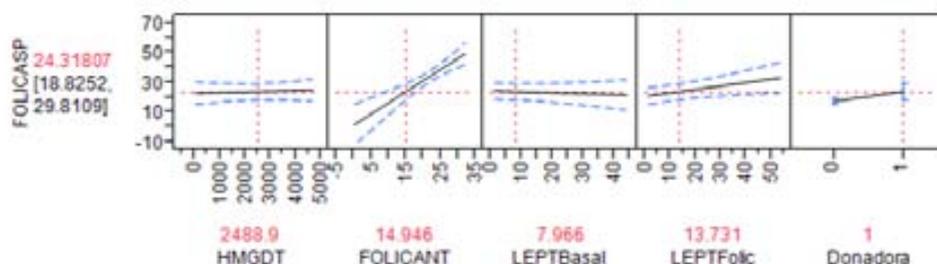
Razón de F para el modelo total = 1067.6; $p < 0.001$; R ajustado=0.59

En el modelo se observan efectos significativos de la interacción de HMG dosis total*Folículos antrales, Folículos antrales*Donadora, Leptina basal*Leptina folicular, así como efectos principales de las variables Folículos antrales, Leptina folicular y de Donadora. Sin embargo, el efecto principal de HMG no fue significativo. La interpretación de las interacciones se presenta en la figura 12.

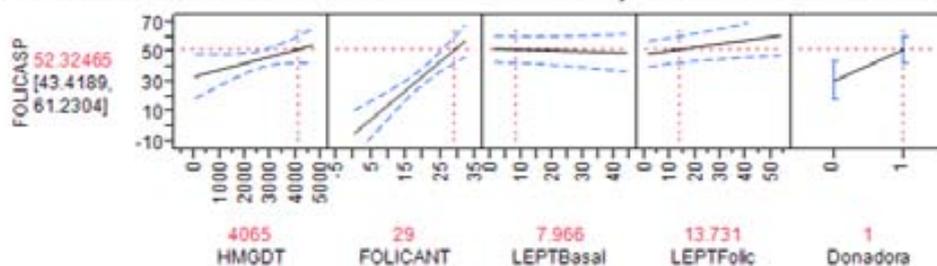
a. Casos sin donación de ovocitos



b. Casos con donación de ovocitos



c. HMG de dosis alto en casos con donación de ovocitos y folículos antrales abundantes



d. HMG de dosis alto en casos sin donación de ovocitos y folículos antrales escasos

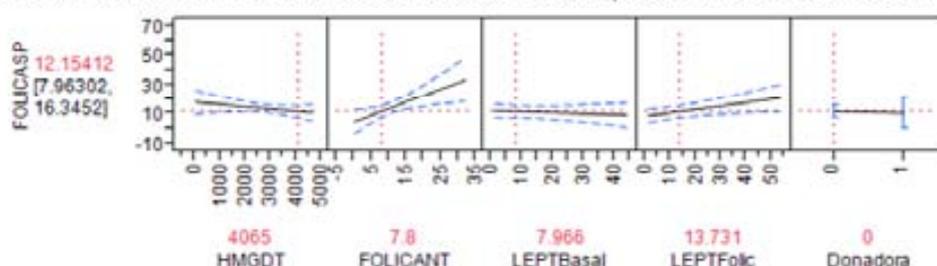


Figura 13 Interacciones observadas en el modelo obtenido para evaluar el efecto ajustado de HMG en el número de folículos aspirados en el análisis que incluye los casos de mujeres donadoras de ovocitos (n=92)

El número de folículos aspirados depende considerablemente del número de folículos antrales, sin embargo, el efecto de este último presenta una diferencia importante entre los casos de mujeres donadoras con los otros grupos. En las mujeres donadoras, el aumento en el número de folículos antrales eleva drásticamente el número de folículos aspirados, mientras que esta tendencia se atenúa mucho en las mujeres no donadoras de ovocitos. Además, en las mujeres donadoras de ovocitos la dosis total elevada de HMG maximiza el

número de folículos aspirados por contar con folículos antrales abundantes, pero en las mujeres no donadoras de ovocitos la dosis total de HMG no repercute en el aumento del número de folículos aspirados.

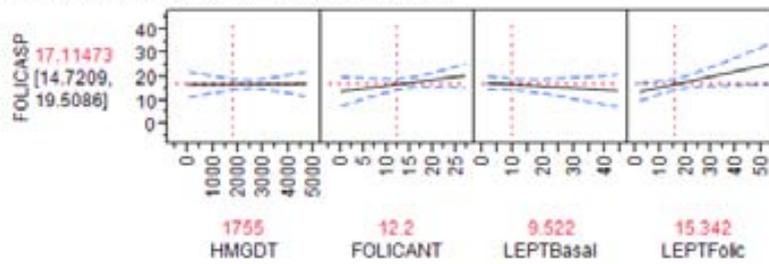
En la tabla 13 presentan los términos que constituyen el modelo que evalúa el efecto ajustado de HMG sobre el número de folículos aspirados excluyendo a las mujeres donadoras de ovocitos. En el modelo se observaron los efectos de interacción significativos entre la dosis total de HMG*Folículos antrales y de Leptina basal*Leptina folicular. HMG dosis total no presentó el efecto principal, mientras que Folículos antrales y Leptina folicular si fueron los factores que presentaron los efectos principales. La interpretación de las interacciones se presenta en la figura 13. Cuando las variables toman valores cercanos al promedio, HMG no presenta ningún efecto, sin embargo, si la paciente presenta un recuento alto de folículos antrales, al aumentar la dosis total de HMG aumenta el número de folículos aspirados, el cual no sucede si la paciente presenta el número reducido de folículos antrales. En los casos con niveles de leptina basal relativamente elevados, aun teniendo recuento folicular alto, no se espera que el número de folículos aspirados sea elevado, sin embargo, aumentando la dosis de HMG, es posible obtener una respuesta favorable.

Tabla 13 Los términos que constituyen el modelo de regresión lineal múltiple que evalúa el efecto ajustados de del efecto de HMG dosis total en el número de folículos aspirados sin las mujeres donadoras de ovocitos (n=69)

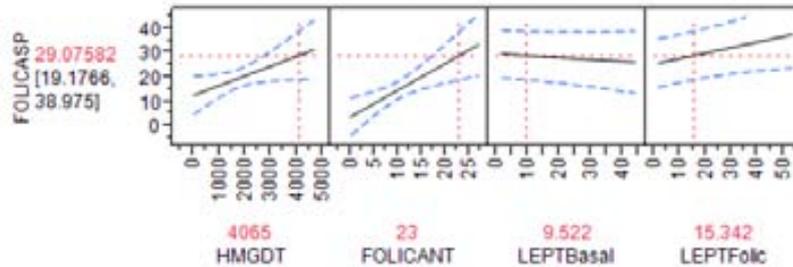
Términos del modelo	Estimador de coeficiente de regresión	Error estándar	Razón de t	P
Intercepto	7.9507	4.8813	1.63	0.108
HMG dosis total	0.0002	0.0011	0.21	0.836
Folículos antrales	0.4912	0.1867	2.63	0.011
Leptina basal	-0.0803	0.0940	-0.85	0.396
Leptina folicular	0.2248	0.1095	2.05	0.044
HMG dosis total*Folículos antrales	0.0004	0.0002	2.34	0.022
Leptina basal*Leptina folicular	-0.0194	0.0072	-2.68	0.009

Razón de F para el modelo total = 1067.6; p<0.001; R ajustado=0.59

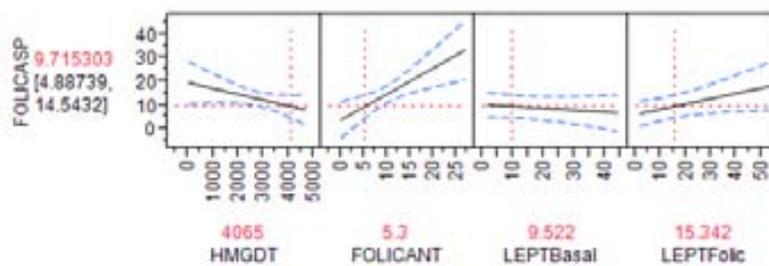
a. Todas las variables en su valor de media



b. Dosis total alta de HMG en los casos de número de folículos antrales abundante



c. Dosis total de HMG alta en los casos con número de folículos antrales escaso



d. Dosis total de HMG alto en casos con leptina basal relativamente alto y folículos antrales relativamente mayor

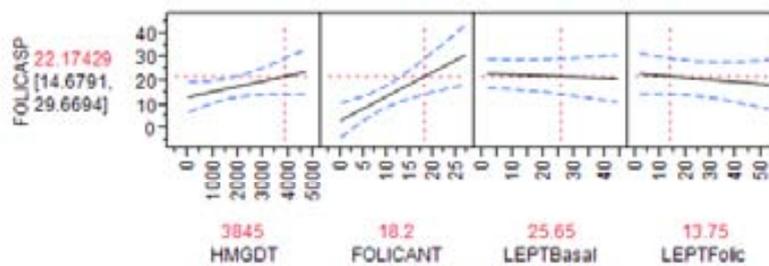


Figura 14 Interacciones observadas en el modelo obtenido para evaluar el efecto ajustado de HMG en el número de folículos aspirados en el análisis sin mujeres donadoras de ovocitos (n=69)

Se evaluó el efecto del aumento del estradiol durante la estimulación ovárica controlada con HCG (entre el día 5 y el día del disparo) sobre la cantidad de folículos obtenidos ajustado por el IMC y el nivel de leptina tanto basal como folicular, mediante el uso del modelo

de regresión lineal múltiple, efectuando la transformación de todas las variables para atenuar la asimetría fuerte de las variables.

Como se observa en la Figura 14, el aumento del nivel de estradiol se asocia con el aumento en el número de folículos aspirados. Aunque el modelo incluye dos términos de interacción (“IMC*Nivel de leptina folicular” y “Nivel basal de leptina* Nivel de leptina folicular”), se presentó el efecto principal del aumento del estradiol, independientemente de dichas interacciones, junto con otro factor principal estadísticamente significativo del nivel de leptina basal, asociándose inversamente con el número de folículos aspirados. Con respecto a las interacciones, en las mujeres con IMC alto, la elevación del nivel de leptina folicular aumenta el número de folículos aspirados y en las mujeres con niveles basales de leptina bajos, la elevación del nivel de leptina folicular se asocia con el mayor número de folículos aspirados, los cuales son resultados opuestos a los esperados, sin embargo, al limitar los rangos de los valores que pueden tomar estas variables en nuestro datos, estas tendencias dejan de presentarse.

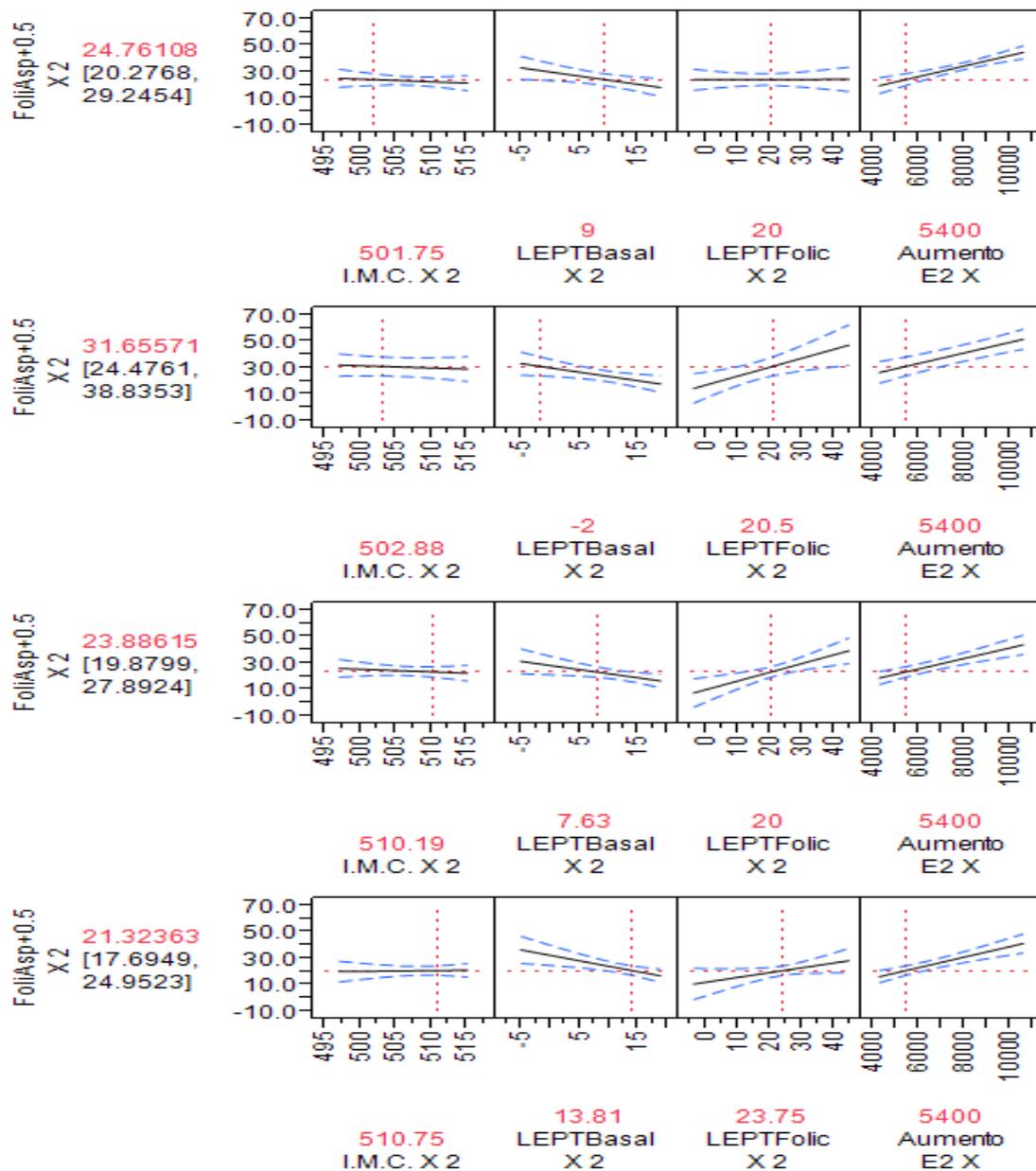


Figura 15 Interacciones observadas en el modelo de regresión lineal múltiple obtenido para evaluar el efecto ajustado de folículos obtenidos en estimulación ovárica controlada en la presencia de aumento de los niveles de estradiol en día 5 y al día de la punción, ajustado por las variables I.M.C., leptina basal y leptina intra-folicular (n=94)

A continuación, en la figura 15 se presenta la correlación entre los niveles de leptina basa, folicular y estradiol de los días 5 y 7 con el número de folículos aspirados. Se observa una correlación fuerte entre los niveles de estradiol del día 5 y del día 7 ($r=0.75$, $p<0.001$) y una

correlación positiva entre los valores de leptina basal y leptina folicular débil pero no despreciable. ($r=0.27$, $p=0.008$). Con respecto a los niveles de leptina, únicamente los de leptina basal presentaron una correlación con el número de folículos aspirados ($r=-0.27$, $p=0.01$). Con respecto a los niveles de estradiol, únicamente los niveles de estradiol del día 7 presentaron correlación con el número de folículos aspirados ($r=0.21$, $p=0.045$).

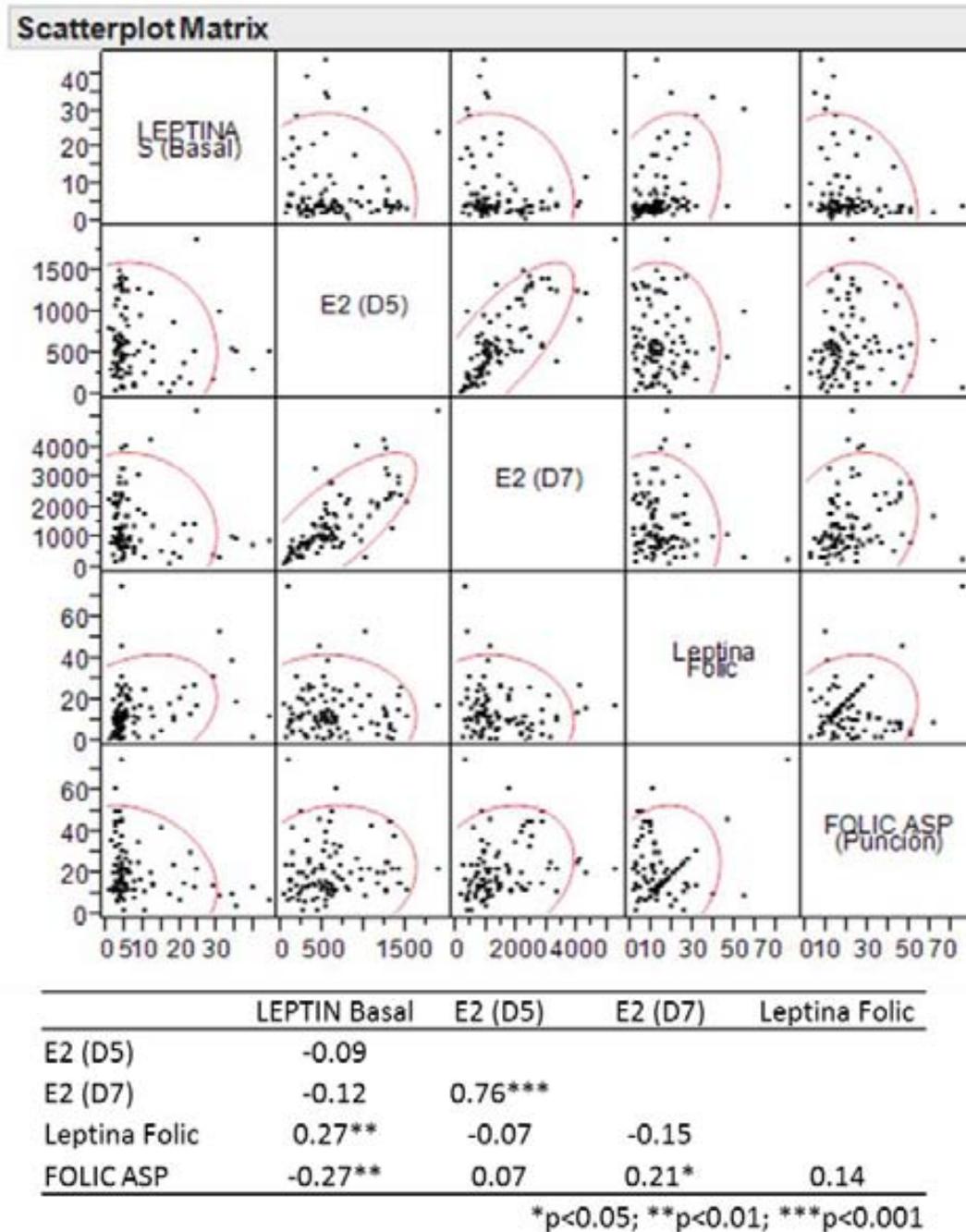


Figura 16 Correlación entre folículos aspirados con niveles de leptina basal, leptina folicular, estradiol día 5 y estradiol día 7

Para determinar el efecto de leptina basal, folicular, estradiol del día 5 y estradiol del día 7 sobre el número de folículos aspirados, se construyó un modelo de regresión lineal múltiple. Por medio del procedimiento de selección de variables stepwise se obtuvo un modelo que consiste en el efecto principal de leptina basal, estradiol día 7 y leptina folicular, así como los efectos de interacción de leptina basal y leptina folicular por un lado y leptina folicular con estradiol del día 7 por otro. (Tabla 14)

Tabla 14 Coeficiente de regresión del modelo donde el número de folículos aspirados es la variable dependiente y la leptina basal, Leptina folicular, Estradiol día 5 y Estradiol día 7 son las variables independientes

	Coeficiente de regresión ¹	Coeficiente de regresión ²	P [*]
Leptina basal	-0.2931 (0.1255)	-0.3066 (0.1462)	0.022
Estradiol día 7	0.0032 (0.0031)	0.0010 (0.0012)	0.003
Leptina folicular	0.0588 (0.1107)	0.0664 (0.1289)	0.596
Leptina basal*folicular	-0.0185 (0.0083)	-0.0262 (0.0096)	0.028
Leptina folicular*Estradiol día 7	-0.0003 (0.0001)	-0.0005 (0.0001)	0.008

¹ Coeficiente de regresión y su error estándar del modelo con la variable dependiente “número de folículos aspirados” cruda.

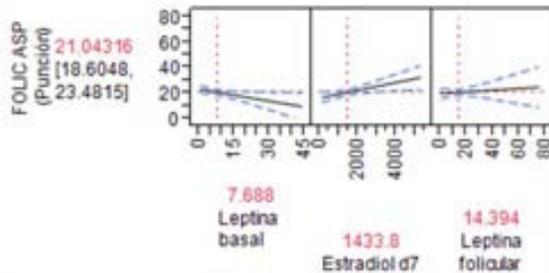
² Coeficiente de regresión y su error estándar del modelo con la variable dependiente “número de folículos aspirados” con la transformación de Box-Cox.

* El valor de P es del modelo con transformación de Box-Cox, sin embargo, entre los dos modelos no hubo discrepancia en la interpretación de la significancia estadística, donde se reconoció como significativo al nivel de $\alpha < 0.05$ para el efecto principal y $\alpha < 0.15$ para el efecto de interacción.

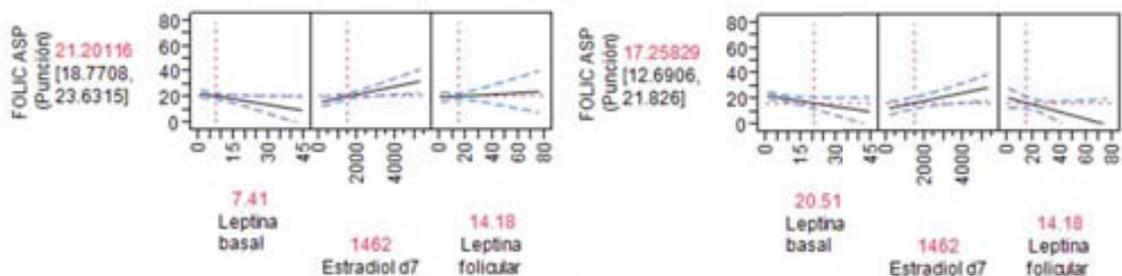
La interpretación de las interacciones encontradas en el mismo modelo son las siguientes: (figura 16): Si la paciente presenta valores de leptina basal promedio, el cambio en valores de leptina folicular no repercute sobre la cantidad de folículos obtenidos, sin embargo, si se presentan niveles basales de leptina elevados, la elevación de la leptina folicular se asocia con una disminución en el número de folículos aspirados esperados. (b); si los niveles de leptina folicular fuera promedio, el aumento en los niveles de estradiol se traduce en un

aumento en el número de folículos obtenidos, en contraste con que si tenemos valores de leptina folicular elevados, la elevación del nivel de estradiol en el día 7 resulta irrelevante en términos de elevación del número de folículos aspirados.

a. Las tres variables en el valor de la media



b. La interacción que se presenta entre leptina basal y leptina folicular



c. La interacción que se presenta entre los valores de estradiol día 7 y leptina folicular

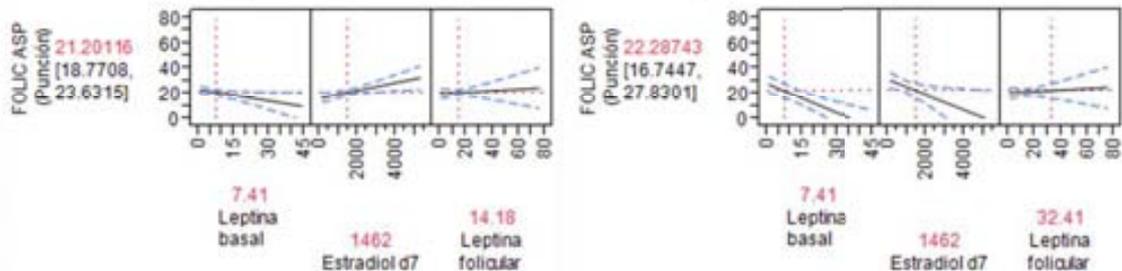


Figura 17 Interacciones observadas entre nivel de leptina basal y folicular, y el nivel de estradiol día 7 y leptina folicular sobre la variable dependiente número de folículos aspirados

Entre las variables IMC, leptina basal y leptina folicular, se encontró una correlación positiva medianamente importante (figura 17): Entre IMC y leptina basal se observó una correlación positiva medianamente fuerte ($r=0.34$, $p<0.001$); Entre IMC y leptina folicular, así como entre leptina basal y leptina folicular se observaron correlaciones positivas menos marcadas que la anteriormente descrita. ($r=0.30$, $p=0.003$; $r=0.27$, $p=0.008$, respectivamente).

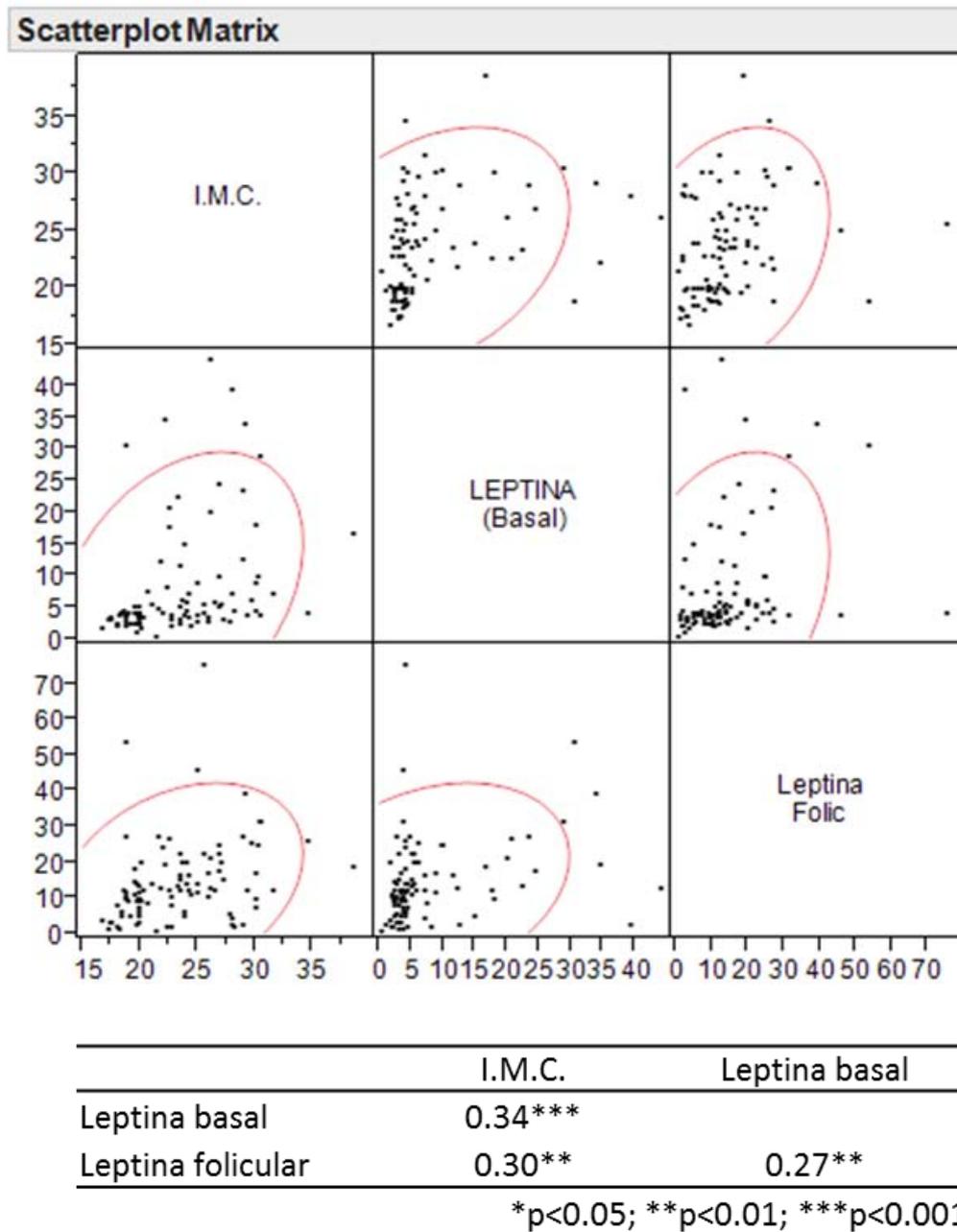


Figura 18 Correlación entre IMC y valores de leptina basal y leptina folicular

Al construir el modelo de regresión lineal múltiple para evaluar el efecto de las variables *Leptina basal*, *Leptina folicular*, *Estradiol disparo* e interacción de todas estas variables por medio del procedimiento de stepwise hacia atrás, se obtuvo un modelo constituido con las variables *Leptina basal*, *Leptina folicular*, *Estradiol del día del disparo* y la interacción de *Leptina basal* y *Leptina folicular* (Tabla 15), siendo no significativa la variable *Estradiol día 5*. De

acuerdo con este modelo, el nivel de leptina basal presenta el efecto de reducir el número de folículos aspirados, sin embargo, este efecto cambia de acuerdo con el nivel de leptina folicular: mientras mayor sea el nivel de leptina folicular el efecto de leptina basal para reducir el número de folículo aspirado, resulta no tener importancia. El efecto del estradiol el día del disparo es independiente de los niveles de leptina, siendo mayor el número de folículos aspirados si los niveles de estradiol el día del disparo son altos, mientras que el nivel de estradiol día 5 no presentó un efecto significativo estadísticamente (Figura 18).

Tabla 15 Modelo de regresión lineal múltiple obtenido por el procedimiento de selección de variables *stepwise* hacia atrás, iniciando por el modelo constituido por *Leptina basal*, *Leptina folicular*, *Estradiol disparo* e interacción triple de todas las variables

	Estimador de coeficiente de regre- sión	Error estándar	Razón de t	Valor de P
Intercepto	2.37	0.14	17.15	<0.001
Leptina basal	-0.02	0.01	-2.39	0.019
Leptina folicular	0.02	0.07	2.84	0.006
Estradiol disparo	0.0002	0.00003	6.07	<0.001
Leptina basal *Leptina folicular	-0.001	0.0004	-2.24	0.028

El modelo global fue estadísticamente significativo ($p < 0.001$, R cuadrado=0.39)

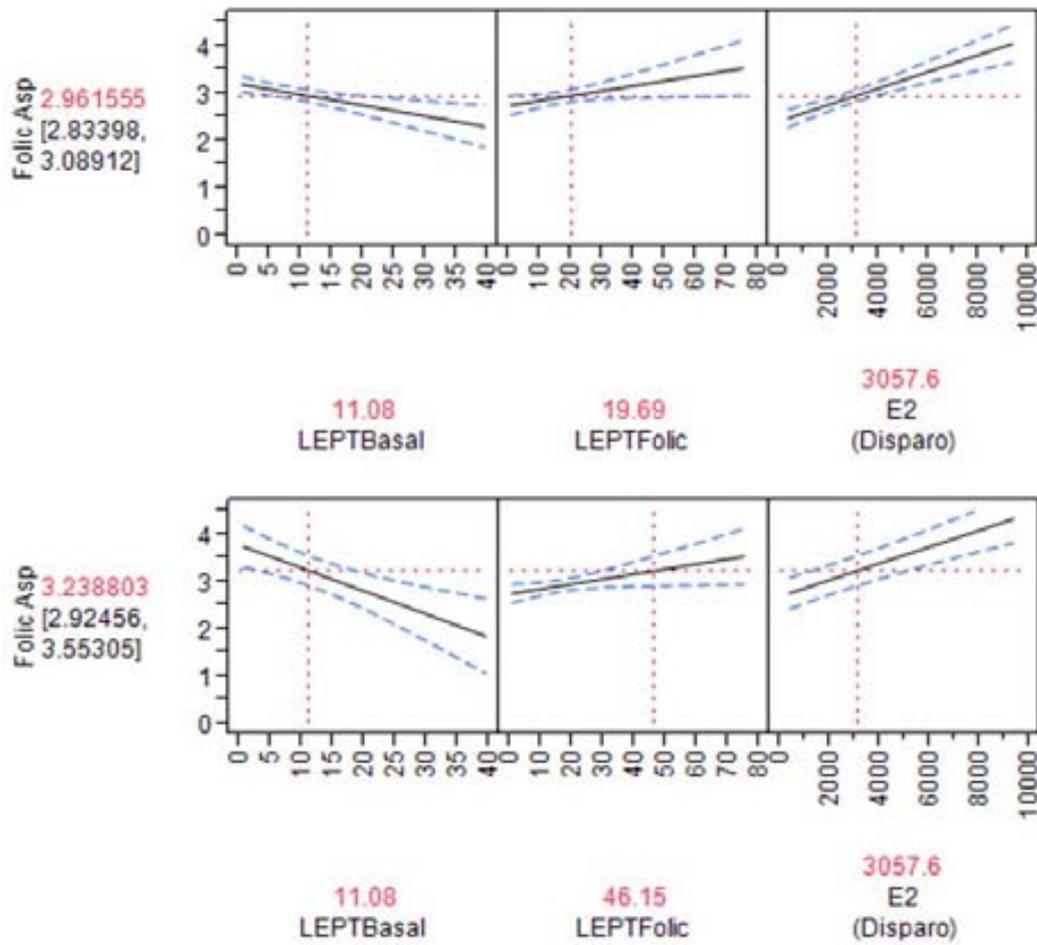


Figura 19 Efecto de la interacción entre las variable *Leptina basal* y *Leptina folicular* sobre el número de ovocitos fecundados y el efecto principal de estradiol disparo

Para determinar la influencia del IMC sobre la leptina folicular siendo covariable el nivel de leptina basal, se construyó un modelo de regresión lineal múltiple (Tabla 16). Tanto los valores de IMC como los de leptina basal fueron significativos y además la interacción entre estas dos variables se presentó de manera estadísticamente significativa.

Tabla 16 Coeficiente de regresión del modelo donde el nivel de leptina folicular es la variable dependiente y el IMC es independiente, siendo los valores de leptina basal covariable.

	Coeficiente de regresión ¹	Coeficiente de regresión ²	P*
I.M.C.	0.6122 (0.2668)	0.5759 (0.2004)	0.005
Leptina basal	0.4087 (0.1455)	0.2827 (0.1093)	0.011
I.M.C.*Leptina basal	-0.0862 (0.0333)	-0.0660 (0.0250)	0.010

¹ Coeficiente de regresión y su error estándar del modelo con la variable dependiente "leptina folicular" cruda.

² Coeficiente de regresión y su error estándar del modelo con la variable dependiente "leptina folicular" con la transformación de Box-Cox.

* El valor de P es del modelo con transformación de Box-Cox, sin embargo, entre los dos modelos no hubo discrepancia en la interpretación de la significancia estadística, donde se reconoció como significativo al nivel de $\alpha < 0.05$ para el efecto principal y $\alpha < 0.15$ para el efecto de interacción.

La influencia del IMC sobre los niveles de leptina folicular cambia dependiendo de los niveles basales de leptina: En las pacientes en quienes se presenta valores de leptina basal promedio, la elevación en el IMC se asocia con una elevación en los niveles de leptina folicular, mientras que en los casos en los que los niveles de leptina basal fueran elevados, el IMC deja de tener un efecto sobre los niveles de leptina folicular. (Figura 19)

a. La interacción que se presenta entre el IMC y leptina basal

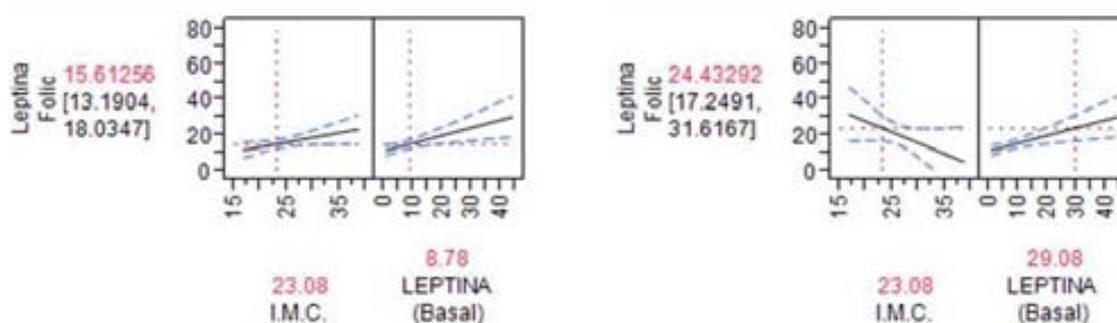


Figura 20 Interacción entre IMC y valores de leptina basal sobre los niveles de leptina folicular

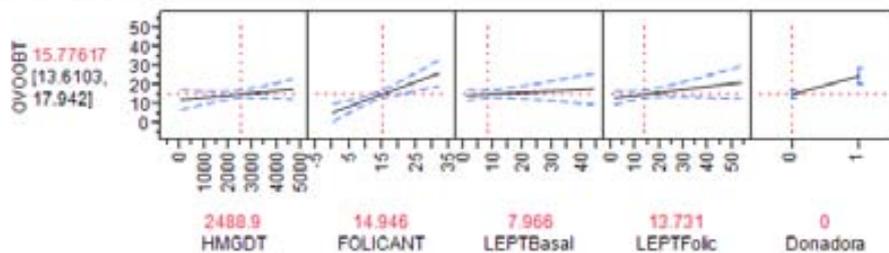
Se evaluó el efecto de HMG sobre el número de ovocitos obtenidos tanto con el modelo con casos de mujeres donadoras como con el modelo sin éstas. En la tabla 17 se presentan las asociaciones por separado entre las variables condicionantes de mujeres bajo estimulación con HMG y el número de ovocitos obtenidos incluyendo al grupo de mujeres donadoras de ovocitos. HMG no presenta asociación alguna con la variable de desenlace número de ovocitos obtenidos. En éste sentido, las variables Edad, IMC, Folículos antrales y Donadora presentaron una asociación muy altamente significativa y la asociación Leptina basal en menor nivel alcanzó a ser estadísticamente significativa. El grosor endometrial evaluado al día 7, así como los valores de leptina folicular no se asociaron significativamente con el número de ovocitos obtenidos. Al limitar el análisis en las mujeres sin recibir ovocitos donados, ninguna variable presentó a asociación estadísticamente significativa en forma separada, salvo Folículos antrales con la que se observa una asociación marginalmente significativa.

Tabla 17 Asociación por separado entre variables condicionantes de mujeres bajo estimulación con HMG y el número de ovocitos obtenidos incluyendo las mujeres donadoras de ovocitos (n=92)

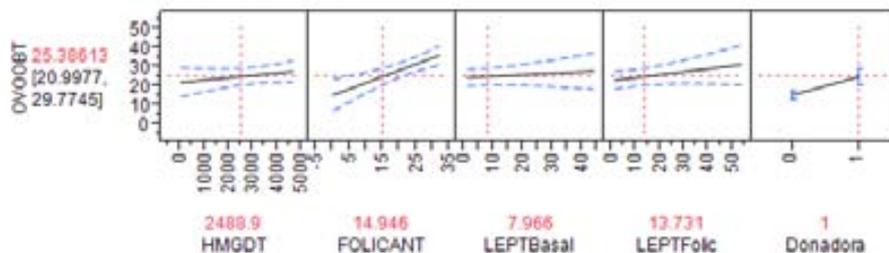
Variables	Estimador de coeficiente de regresión	Error estándar	Valor de t	Valor de p
HMG dosis total	0.0002	0.0013	0.16	0.873
Edad	-0.9369	0.1731	-5.41	<0.001
I.M.C.	-0.8317	0.2439	-3.41	0.001
Folículos antrales	0.9199	0.1358	6.77	<0.001
Leptina basal	-0.2675	0.1248	-2.14	0.035
Endometrio día 7	-0.2631	0.6326	-0.42	0.679
Leptina folicular	-0.1534	0.1177	-1.30	0.196
Donadora	-7.3188	1.0685	-6.85	<0.001

Al construir un modelo de regresión lineal múltiple, siendo la variable dependiente el número de ovocitos obtenidos y aplicando Stepwise con el mismo procedimiento realizado en los análisis anteriores para las mismas ocho variables, la edad y el IMC dejaron de presentar la asociación y la variable leptina basal perdió su significancia de efecto principal, pero presentando el efecto significativo de la interacción con Leptina folicular. En este modelo la variable dosis total de HMG no presentó ni efecto principal ni de interacción en el modelo. En la figura 20 se observa la interacción de Leptina basal*Leptina folicular sobre el número de ovocitos obtenidos, y efectos principales de otras variables.

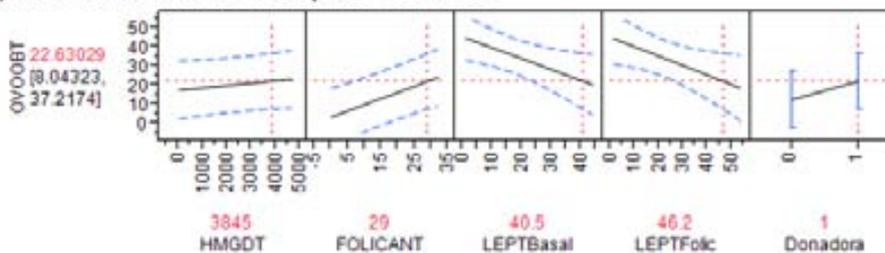
a. Casos sin donación de ovocitos



b. Casos con donación de ovocitos



c. HMG de dosis alto en casos con donación de ovocitos y foliculos antrales abundantes, y además, las dos mediciones de leptina elevadas



d. HMG de dosis alto en casos con donación de ovocitos y foliculos antrales abundantes, y además, las dos mediciones de leptina bajas

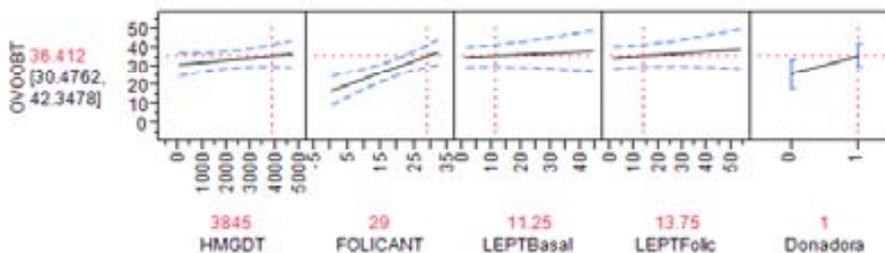


Figura 21 Interacciones observadas en el modelo obtenido para evaluar el efecto ajustado de HMG en el número de ovocitos obtenidos en el análisis que incluye los casos de mujeres donadoras de ovocitos (n=92)

Al mantener en los niveles de promedio todas las variables, por cambiar del grupo no donadoras al grupo donadoras, el valor del número esperado de ovocitos obtenidos se eleva de 15.8 a 25.8. Con respecto a la interacción de leptina basal*leptina folicular se observa que las mujeres con niveles elevados de leptina en ambas mediciones (basal y folicular), el número esperado de ovocitos obtenidos presenta valores bajos, en contraste con otras si-

tuaciones, tales como, basal alto y folicular bajo, basal bajo y folicular alto, ó ambas bajas, no presentaron diferencia entre sí con respecto al número esperado de ovocitos obtenidos. En éste sentido, ocurre una diferencia de alrededor de 20 ovocitos obtenidos en sentido negativo si ambas leptinas se encuentran elevadas; Independientemente de otras condiciones, las mujeres con mayor número de folículos antrales, presentaron mayor cantidad de ovocitos obtenidos, aumentando en una relación de 5 ovocitos obtenidos por cada 10 folículos basales.

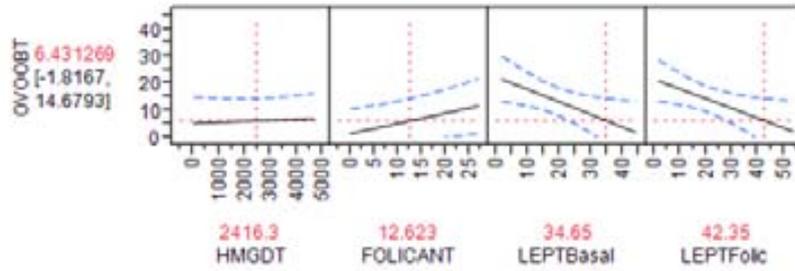
El resultado del análisis restringido al grupo de mujeres sin donadoras se presenta en la Tabla 18. El valor de P de la variable Folículos antrales se redujo ligeramente, y esta variable presentó la asociación marginalmente significativa con la variable números de ovocitos obtenidos al analizar separadamente, por el ajuste alcanzó al nivel significativo estadísticamente. En este modelo, además, se encontraron dos interacciones significativas: HMG dosis total*Folículos antrales y Leptina basal*Leptina folicular.

Tabla 18 Asociación por separado entre variables condicionantes de mujeres bajo estimulación con HMG y el número de ovocitos obtenidos excluyendo las mujeres donadoras de ovocitos (n=69)

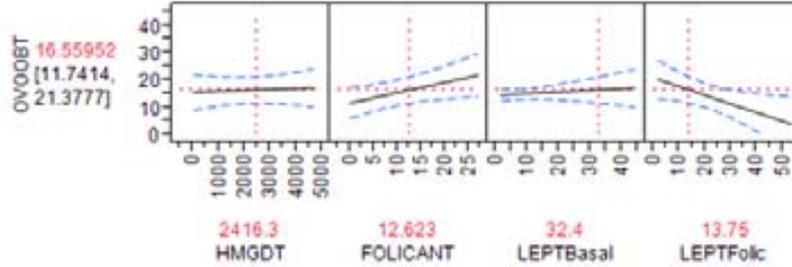
Variables	Estimador de coeficiente de regresión	Error estándar	Valor de t	Valor de p
HMG dosis total	-0.0010	0.0009	-1.14	0.257
Edad	-0.1218	0.2632	-0.84	0.402
I.M.C.	-0.1809	0.1991	-0.91	0.367
Folículos antrales	0.2906	0.1508	1.93	0.058
Leptina basal	-0.0531	0.0889	-0.60	0.550
Endometrio día 7	-0.0020	0.5224	-0.00	0.997
Leptina folicular	-0.0296	0.0925	-0.32	0.750

La interpretación se presenta en forma gráfica en la Figura 21. La interacción entre Leptina basal*Leptina folicular presenta el efecto observado en el modelo anterior: al combinar los niveles altos de leptina en las dos mediciones el número esperado de ovocitos obtenidos se reduce alrededor de 10 ante otras combinaciones de niveles de leptina. En la interacción de HMG dosis total*Folículos antrales y Leptina basal*Leptina folicular se observa que una mujer que presenta un número muy reducido de folículos antrales, la dosis total de HMG no influirá mayormente para aumentar el número de ovocitos obtenidos, mientras que una mujer con mayor número de folículos basales, presentará una asociación directa entre la dosis de HMG y la mayor cantidad de ovocitos obtenidos.

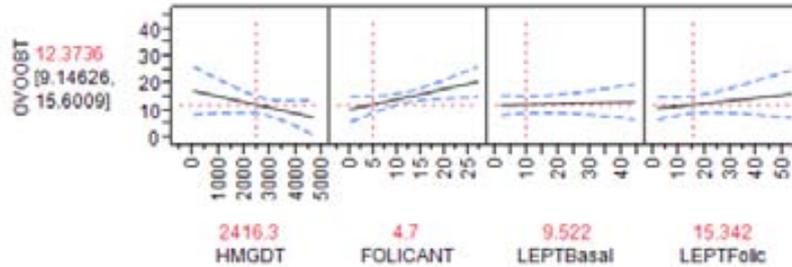
a. Las dos mediciones de leptina elevadas



b. Leptina basal alta y leptina folicular baja



c. Folículos antrales bajos y las dos mediciones de leptina bajas



d. Folículos antrales altos y las dos mediciones de leptina bajas

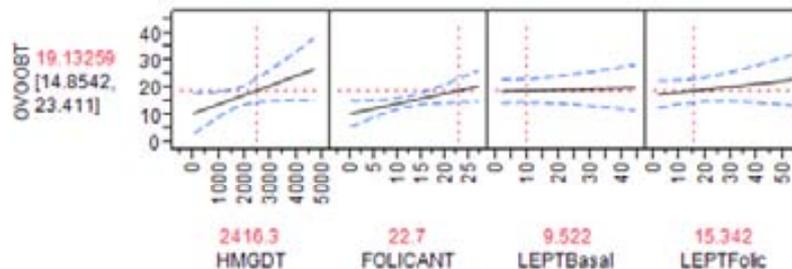


Figura 22 Interacciones observadas en el modelo obtenido para evaluar el efecto ajustado de HMG en el número de ovocitos obtenidos en el análisis sin mujeres donadoras de ovocitos (n=69)

Al construir el modelo de regresión lineal múltiple para evaluar el efecto de las variables IMC, Leptina folicular, Estradiol día 5 e interacción de todas estas variables por medio del procedimiento de stepwise hacia atrás, se obtuvo un modelo constituido por las variables IMC, Leptina folicular y la interacción de estas dos (tabla 1), siendo no significativa la variable Estradiol día 5 (Tabla 19). De acuerdo con este modelo, el efecto de IMC para la fecundación es diferente entre las mujeres con el nivel de leptina folicular bajo y alto: si el

nivel de leptina folicular es bajo (<20), mientras menor sea el IMC mayor será el número de ovocito fecundado; en caso de que el nivel de leptina folicular es alta (>20), la asociación entre IMC y número de ovocito fecundado deja de ser significativo estadísticamente (Figura 22).

Tabla 19 Modelo de regresión lineal múltiple obtenido por el procedimiento de selección de variables stepwise hacia atrás, iniciando por el modelo completo constituido por IMC, Leptina folicular, Estradiol día 5 e interacción de todas estas variables

	Estimador de coeficiente de regresión	Error estándar	Razón de t	Valor de P
Intercepto	25.10	4.35	5.77	<0.001
IMC	-0.61	0.19	-3.12	0.002
Leptina folicular	0.02	0.07	0.22	0.826
IMC*Leptina folicular	0.04	0.02	2.14	0.035

El modelo global fue estadísticamente significativo (p=0.004, R cuadrado=0.14)

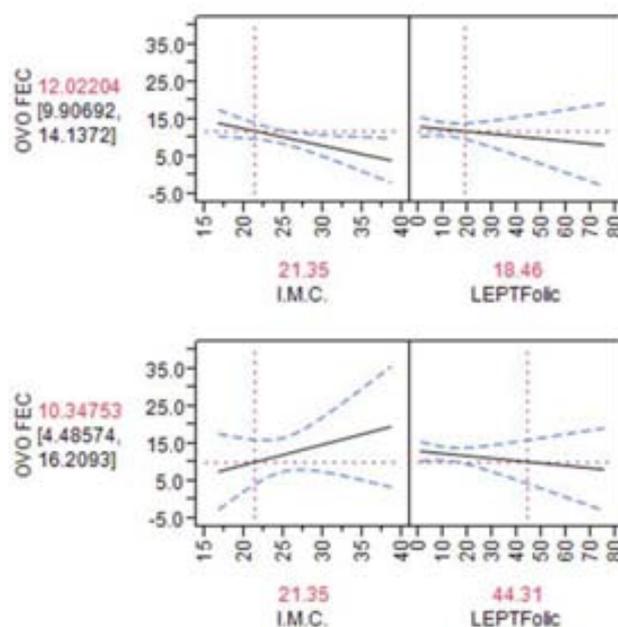


Figura 23 Interacción entre las variable IMC y Leptina folicular sobre el número de ovocitos fecundados

Se analizó la influencia de los valores de leptina folicular, IMC, estradiol en el del disparo y sus interacciones sobre el número de ovocitos fecundados. Se obtuvo un modelo con nivel de significancia muy elevada por medio del procedimiento de stepwise con el uso de Criterio de Información Akaike como referencia de la selección de variables. El efecto de la interacción entre leptina folicular y estradiol del disparo, así como el efecto principal estradiol del día del disparo fue significativo; el efecto de IMC fue marginalmente significativo. El efecto per sé de leptina folicular no fue significativo. El perfil de interacción puede interpretarse de la siguiente forma: en las mujeres con niveles de leptina folicular baja, un valor elevado de estradiol se asocia con aumento en el número de ovocitos fecundados, pero si los niveles de leptina folicular eran elevados, entonces el valor de estradiol deja de ser relevante. El aumento en el IMC influye reduciendo el número de ovocitos fecundados, independientemente del comportamiento de otras variables. (Tabla 20 y figura 23)

Tabla 20 Coeficientes de regresión estimado de las variables leptina folicular, IMC, E2 y sus interacciones para la variable dependiente número de ovocitos fecundados

	Coeficiente de regresión (error estándar)	P
Leptina folicular	0.038 (0.065)	0.502
IMC	-0.352 (0.187)	0.072
E2 (disparo)	0.002 (0.0004)	0.001
Leptina folicular*E2	-0.0001 (0.00005)	0.056

Modelo total: Razón de F=10.66; P<0.001; R²=0.34

La significancia estadística del modelo completo y de cada uno de los términos que constituyen el modelo está determinada por la aplicación de transformación de Box-Cox para satisfacer el supuesto de normalidad.

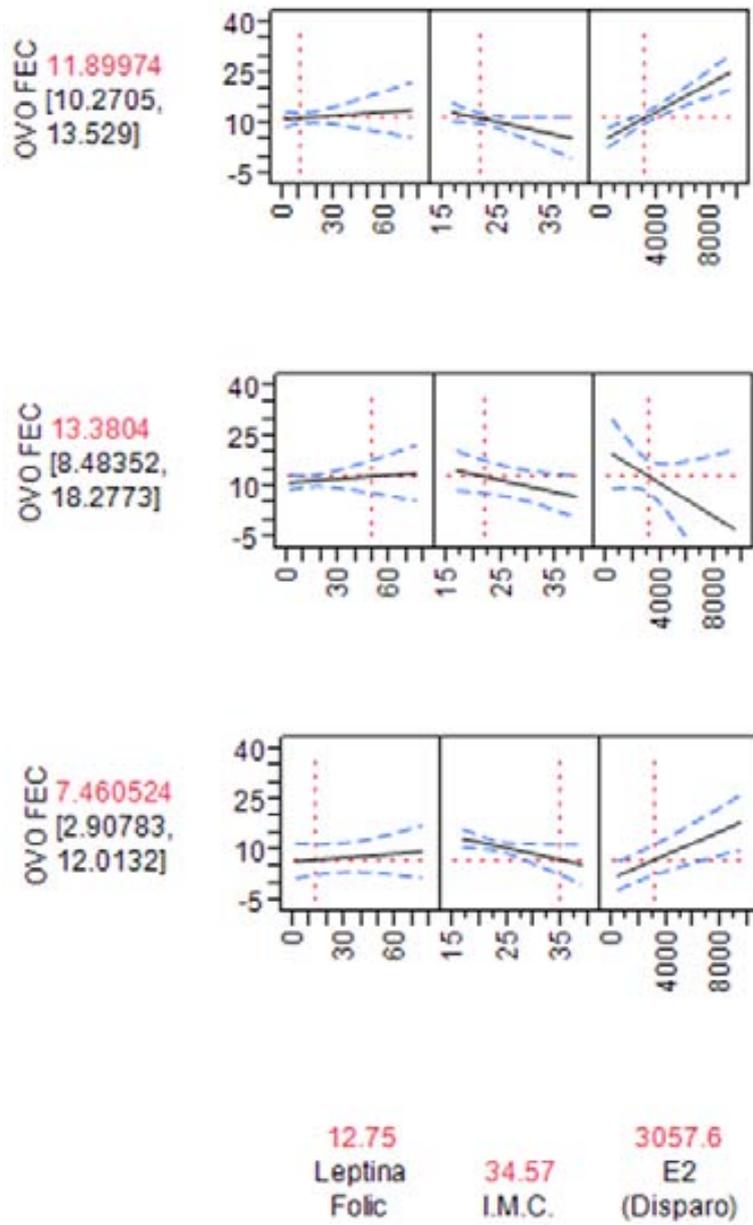


Figura 24 Perfil de interacción en el modelo que representa la influencia de leptina folicular, IMC, estradiol disparado y sus interacciones sobre el número de ovocitos obtenidos

En la tabla 21, se muestra una matriz de correlación entre las variables que potencialmente influyen en el éxito de embarazo. Se muestra con un asterisco el nivel de significancia en cuanto a su correlación. Como se puede observar en la matriz, casi todas las variables presentan correlación estadísticamente significativa con la edad, con IMC y con la cantidad de folículos antrales.

Tabla 21 Matriz de correlación de Spearman entre las variables incluyendo a los grupos de factor de esterilidad y calidad ovocitaria

	Edad	IMC	Dosis HMG	Factor Endocrino-Ovárico	Factor Tubárico	Factor Uterino	Factor Desconocido	Endometriosis I y II	SOPQ	Donadora	Factor Masculino	Foliculos Antrales	Foliculos Obtenidos	Endometrio D7	Ovocitos Obtenidos	Ovocitos Oscuros	Ovocitos Expandidos	Leptina Serica	Leptina Folicular	Num. Embriones			
Edad		0.53***	0.06	0.39***	0.31***	0.06	-0.05	0.18*	0.01	-0.74***	0.09	-0.58***	-0.57***	-0.02	-0.47***	-0.43***	-0.34***	0.39***	0.37***	-0.42***			
IMC			-0.04	0.3***	0.21**	0.03	-0.02	-0.12	0.23**	-0.51***	0.08	-0.3***	-0.37***	0.02	-0.53***	-0.42***	-0.34***	0.49***	0.41***	-0.3***			
Dosis HMG				0.04	0.06	0.01	-0.22**	0.02	-0.17*	0.17	-0.01	-0.26**	-0.02	-0.04	0.03	0.16	0.01	-0.09	-0.18*	-0.06			
F. End-ovárico					-0.13	-0.05	-0.07	-0.15	-0.11	-0.16	-0.1	-0.29***	-0.25**	0.09	-0.23**	-0.3***	-0.12	0.14***	0.23**	-0.2*			
F. Tubárico						-0.08	-0.11	-0.21**	-0.18*	-0.16**	-0.16	-0.22**	-0.15	-0.16	-0.04	-0.02	0.02	0.21**	0.02	-0.05			
F. Uterino							-0.04	-0.08	-0.07	-0.1	-0.07	-0.19*	-0.25**	0.06	-0.15	-0.06	-0.1	0.1	-0.01	-0.15			
F. Desconocido								-0.11	-0.09	-0.13	-0.09	-0.01	-0.06	0.15	-0.08	-0.12	-0.15	-0.11	0.11	-0.16			
Endometriosis									-0.18*	-0.26**	-0.16	-0.17	-0.06	0.02	-0.12	0.07	-0.02	0.03	0.16	-0.13*			
SOPQ										-0.23**	-0.15	0.21**	0.04	-0.26**	-0.05	-0.07	-0.21**	0.09	0.09	0.01			
Donadora											-0.21**	0.55***	0.57***	0.04	0.51***	0.45***	0.43***	-0.41***	-0.58***	0.46***			
F. Masculino													-0.17	-0.19*	0.19*	-0.12	-0.23**	-0.14	0.09	-0.06	0		
Folic. Antrales															0.63***	-0.18*	0.58***	0.44***	0.39***	-0.33***	-0.13	0.58***	
Folic. Obtenidos																-0.02	0.87***	0.61***	0.61***	-0.29***	-0.09	0.7***	
Endometrio D7																		-0.05	-0.17	0	0.08	-0.01	-0.02
Ovocitos Obt.																			0.68***	0.76***	-0.25**	-0.15	0.81***
Ovocitos Osc.																				0.5***	-0.21**	-0.16	0.51***
Ovocitos Exp.																					-0.11	-0.18*	0.73***
Leptina Serica																						0.4***	-0.25**
Leptina Folicular																							-0.21**

* Marginalmente significativa (0.1-0.05)
 ** Medianamente significativa (0.05-0.01)
 *** Altamente significativa (<0.01)

Se analizó la influencia de los valores de leptina basal, folicular y su interacción sobre la cantidad y la calidad de los ovocitos obtenidos. Como se puede ver en las tablas 22-24, únicamente se obtuvo el modelo estadísticamente significativo para la cantidad de ovocitos obtenidos, pero no así para ovocitos oscuros ni para ovocitos expandidos. En el modelo significativo (tabla 22) donde la variable dependiente es la cantidad de ovocitos obtenidos, la interacción de leptina basal y folicular fue significativa. Si el nivel de leptina basal es bajo, los niveles de leptina folicular resultan irrelevantes para efectos de producción de ovocitos, pero si los niveles basales de leptina son altos, entonces cualquier elevación en los niveles de leptina folicular presentan un efecto deletéreo sobre la cantidad de ovocitos obtenidos.

Tabla 22 Coeficiente de regresión estimado de las variables leptina basal, leptina folicular y sus interacciones para la variable dependiente ovocitos obtenidos.

	Coeficiente de regresión (error estándar)	P
Leptina basal	-0.281 (0.142)	0.038
Leptina folicular	0.298 (0.107)	0.054
Leptina basal*folicular	-0.023 (0.009)	0.051

Modelo total: Razón de F=4.12; P=0.009

La significancia estadística del modelo completo y de cada uno de los términos que constituyen el modelo está determinada por la aplicación de transformación de Box-Cox para satisfacer el supuesto de normalidad.

Tabla 23 Coeficiente de regresión estimado de las variables leptina basal, leptina folicular y sus interacciones para la variable dependiente ovocitos oscuros.

	Coeficiente de regresión (error estándar)	P
Leptina basal	-0.058 (0.040)	0.088
Leptina folicular	-0.008 (0.030)	0.971
Leptina basal*folicular	-0.003 (0.003)	0.314

Modelo total: Razón de F=1.99; P=0.121

La significancia estadística del modelo completo y de cada uno de los términos que constituyen el modelo está determinada por la aplicación de transformación de Box-Cox para satisfacer el supuesto de normalidad.

Tabla 24 Coeficiente de regresión estimado de las variables leptina basal, leptina folicular y sus interacciones para la variable dependiente ovocitos expandidos

	Coeficiente de regresión	P
Leptina basal	-0.025 (0.083)	0.780
Leptina folicular	-0.050 (0.063)	0.542
Leptina basal*folicular	<0.001 (0.006)	0.792

Modelo total: Razón de F=0.18; P=0.907

La significancia estadística del modelo completo y de cada uno de los términos que constituyen el modelo está determinada por la aplicación de transformación de Box-Cox para satisfacer el supuesto de normalidad.

Se obtuvo el modelo significativo para determinar la influencia de leptina basal, folicular e IMC y la interacción entre estas variables siendo la variable dependiente el número de células contabilizadas al tercer día post-fecundación ($p=0.010$). Como se observa en la tabla 25 y figura 25, el efecto principal de IMC e interacción de leptina basal y folicular fueron significativos mientras que el efecto principal de leptina basal y leptina folicular no lo fueron. Cuando los niveles basales de leptina fueron bajos, los niveles de leptina folicular resultaron ser irrelevantes, sin embargo cuando se observan niveles de leptina basal altos, la elevación en la leptina folicular se asocia con mayor cantidad de células al día 3. Con respecto al IMC, se asocia de manera negativa con el número de células, es decir, al aumentar éste, se espera una reducción en el número de células, independientemente de otras variables.

Tabla 25 Coeficiente de regresión estimado de las variables leptina basal, leptina folicular, I.M.C. y sus interacciones para la variable dependiente número de células en embriones de día 3 post-fecundación.

	Coeficiente de regresión	P
Leptina basal	-0.003 (0.014)	0.808
Leptina folicular	0.012 (0.010)	0.243
I.M.C.	-0.062 (0.001)	0.028
Leptina basal*folicular	0.002 (0.006)	0.792

Modelo total: Razón de F=3.54; P=0.010

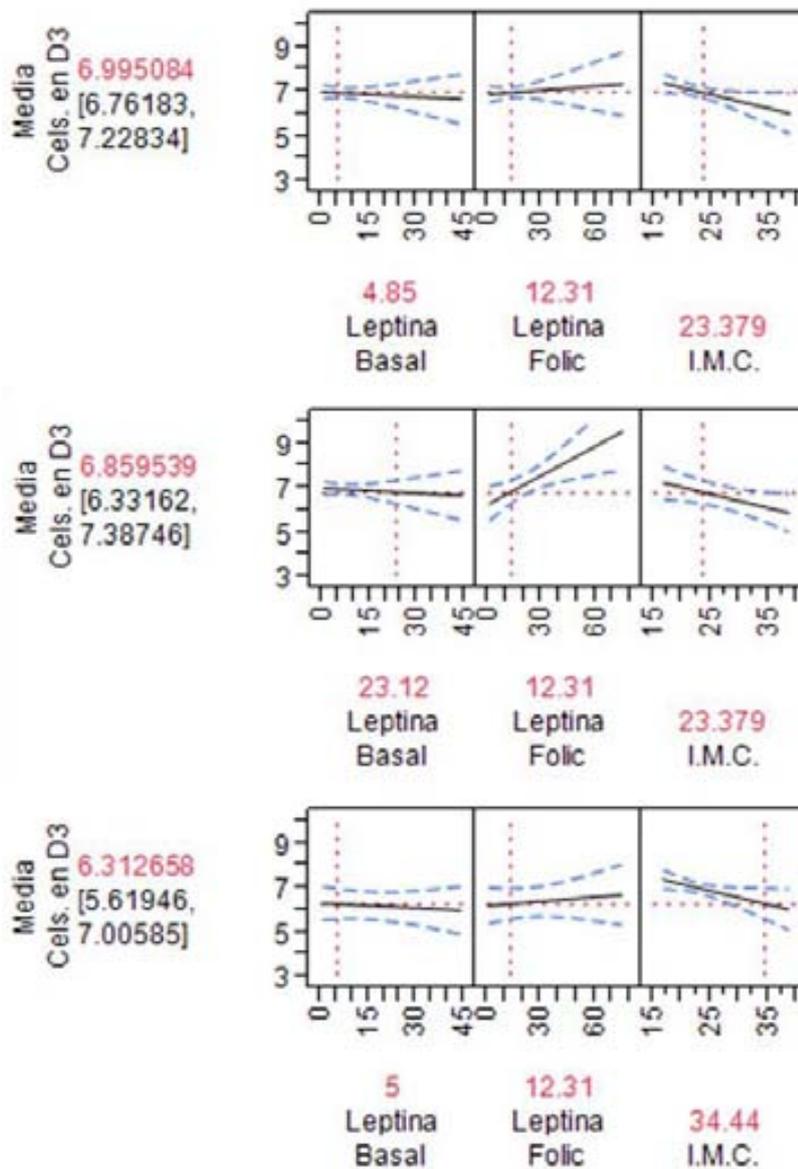


Figura 25 Perfil de interacción en el modelo que representa la influencia de leptina basal, folicular, IMC y sus inter-acciones sobre el número de células obtenidas en embriones del día 3.

Se analizó el efecto de leptina basal, leptina folicular, IMC y sus interacciones sobre el porcentaje de fragmentación de las células embrionarias en día 3, (Tabla 26) sin embargo no se encontró ninguna asociación.

Tabla 26 Coeficiente de regresión estimado de las variables leptina basal, leptina folicular, I.M.C. y sus interacciones para la variable dependiente porcentaje de fragmentación celular embrionaria en día 3 post-fecundación.

	Coeficiente de regresión	P
Leptina basal	0.023 (0.059)	0.697
Leptina folicular	-0.007 (0.045)	0.882
I.M.C.	0.018 (0.120)	0.884

Modelo total: Razón de F=0.08; P=0.973. Ninguna interacción fue significativa

Se establecieron variables categóricas para calidad embrionaria, de acuerdo con criterios de ASEBIR de valoración morfológica de oocitos, embriones tempranos y blastocistos humanos (número de células embrionarias al día 3 post-fecundación ≥ 8 y con fragmentación $< 10\%$) y se buscó asociación con todas las variables estudiadas, sin embargo no se encontró asociación alguna.

Una vez obtenidos los ovocitos, se analizó la asociación entre el porcentaje y el número absoluto de ovocitos oscuros y expandidos con la presencia de latido cardiaco fetal. Como podemos apreciar en la tabla 27 ni el porcentaje ni el número absoluto de ovocitos oscuros presentó una asociación, en contraste, con el número absoluto de ovocitos expandidos, el cual si fue significativo (Razón de momios 12.26 [IC95%: 1.52-133.52], $p=0.016$).

Tabla 27 La asociación del porcentaje y número de ovocitos oscuros y de expandidos con la presencia de latido cardiaco fetal (n=92)

Términos del modelo	Razón de momios (IC 95%)	P
Porcentaje de ovocitos oscuros	0.54 (0.09-3.28)	0.506
Porcentaje de ovocitos expandidos	2.58 (0.21-37.80)	0.460
Número de ovocitos oscuros	1.08 (0.95-1.23)	0.272
Número de ovocitos expandidos	12.26 (1.52-133.52)	0.016

Análisis de regresión logística. El valor de p se determina de acuerdo con χ^2 calculado por razón de verosimilitud

Se analizaron las asociaciones entre la variable dosis total de HMG y otras como: edad, IMC, folículos antrales, leptina basal, endometrio día 7, leptina folicular y Donadora con la variable de desenlace presencia de latido cardiaco fetal. Las variables, dosis total de HMG, Leptina basal y Endometrio día 7 no presentaron una asociación significativa, mientras que todas las demás variables se asociaron significativamente (Tabla 28).

Tabla 28 Asociación por separado entre variables condicionantes de mujeres bajo estimulación con HMG y presencia de latido cardiaco fetal incluyendo las mujeres donadoras de ovocitos (n=92)

Variables	Razón de momios (Intervalo de confianza de 95%)	χ^2	P
HMG dosis total	1.00 (1.00-1.00)	0.21	0.645
Edad	0.91 (0.83-0.98)	5.88	0.015
IMC	0.86 (0.77-0.95)	8.27	0.004
Folículos antrales	1.07 (1.00-1.14)	3.94	0.047
Leptina basal	0.96 (0.91-1.01)	2.31	0.128
Endometrio día 7	0.97 (0.77-1.22)	0.09	0.765
Leptina folicular	0.95 (0.91-1.00)	3.81	0.051
Donadora	5.18 (1.74-19.29)	7.50	0.006

La prueba de Ward con la aproximación de χ^2 con g.l.=1

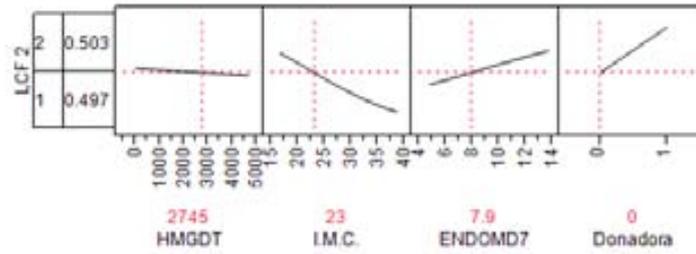
Al excluir del análisis a las mujeres donadoras de ovocitos (Tabla 29), todas las variables dejaron de ser significativas.

Tabla 29 Asociación por separado entre variables condicionantes de mujeres bajo estimulación con presencia de latido cardíaco fetal excluyendo las mujeres donadoras de ovocitos (n=69)

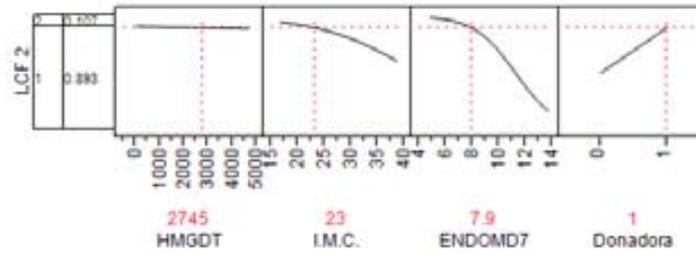
Variables	Razón de momios (Intervalo de confianza de 95%)	χ^2	P
HMG dosis total	1.00 (1.00-1.00)	0.14	0.707
Edad	0.93 (0.80-1.08)	0.82	0.364
IMC	0.92 (0.81-1.03)	2.15	0.142
Folículos antrales	1.00 (0.92-1.09)	0.01	0.917
Leptina basal	0.98 (0.94-1.04)	0.31	0.579
Endometrio día 7	1.12(0.84-1.51)	0.62	0.433
Leptina folicular	0.97 (0.91-1.02)	1.50	0.220

La interpretación se presenta en la Figura 26. En este modelo, en donde se incluye al universo total de mujeres sean o no donadoras, al aumentar el grosor endometrial del día 7, se eleva la probabilidad de encontrar latido cardíaco fetal, como se puede apreciar en el subgrupo c, mientras que en los casos con donación de ovocitos, por tanto mujeres receptoras, paradójicamente, a menor grosor de endometrio al día 7 se asocia con la probabilidad mayor de latido cardíaco fetal. En el grupo de las mujeres excluyendo a donadoras, la condición que optimiza la probabilidad de presentar latido cardíaco fetal es Endometrio día 7 mayor e IMC baja. En el grupo de casos con ovocitos donados Endometrio día 7 menor e IMC baja optimiza la condición reproductiva.

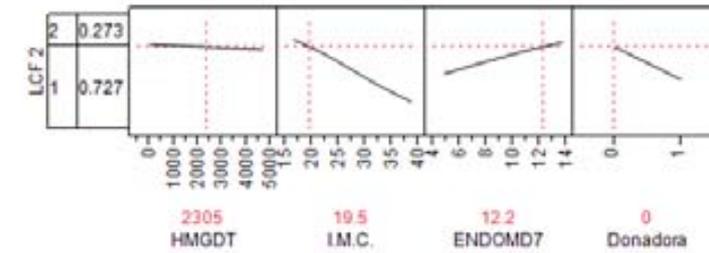
a. Casos sin donación de ovocitos



b. Casos con donación de ovocitos



c. Endometrio mayor en mujeres sin donación de ovocitos



d. Endometrio menor en mujeres con donación de ovocitos

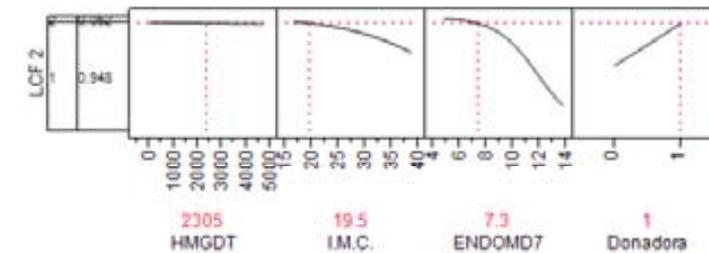
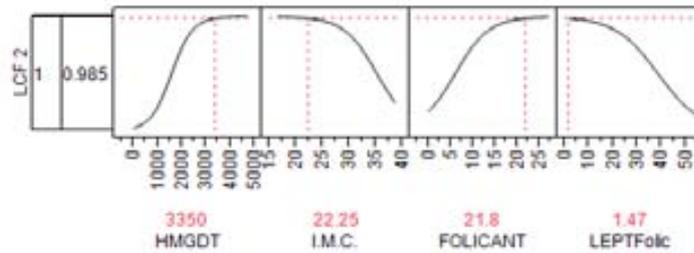


Figura 26 Interacciones observadas en el modelo obtenido para evaluar el efecto ajustado de HMG en la presencia de latido cardiaco en el análisis de regresión logística múltiple que incluye los casos de mujeres donadoras de ovocitos (n=92)

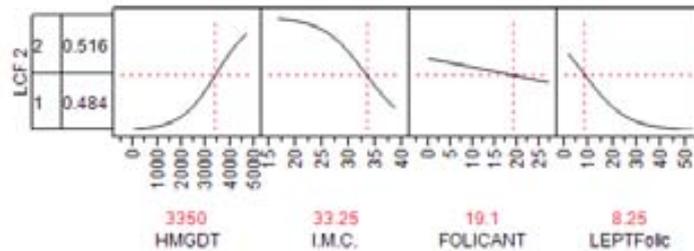
En la Figura 27, excluyendo ahora a las mujeres del grupo donadoras, se aprecia la siguiente interacción: Entre mujeres con IMC bajo y alto la influencia del número de folículos antrales es diferente. En las mujeres con bajo IMC el aumento de folículos antrales se asocia con la elevación muy importante de la probabilidad de encontrar latido cardiaco fetal, mientras que en las mujeres con mayor IMC el aumento de número de folículos antrales no repercute en aumentar la probabilidad de esta variable de desenlace. En ambos casos, sin embargo, el aumento de la dosis de HMG se asocia muy fuertemente con la presencia de latido cardiaco fetal.

Entre las mujeres con leptina folicular alta y baja, la asociación de la dosis total de HMG y la probabilidad de presentar latido cardiaco es diferente. En las mujeres que presentan niveles de leptina folicular alto, el aumento de dosis de HMG no repercute en la elevación de la probabilidad de obtener latido cardiaco fetal, y de manera contrastante, en mujeres con nivel bajo de leptina folicular, mientras mayor sea la dosis de HMG, mayor será la probabilidad de presentar latido cardiaco fetal.

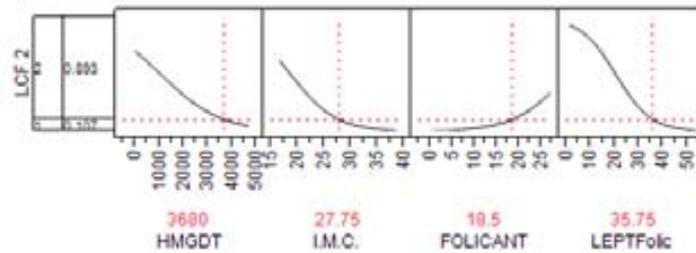
a. Folículos antrales mayores y leptina folicular baja en mujeres con IMC normal



b. Folículos antrales mayores y leptina folicular baja en mujeres con IMC elevado



c. Folículos antrales relativamente mayores y leptina folicular elevada



d. Folículos antrales relativamente mayores y leptina folicular baja

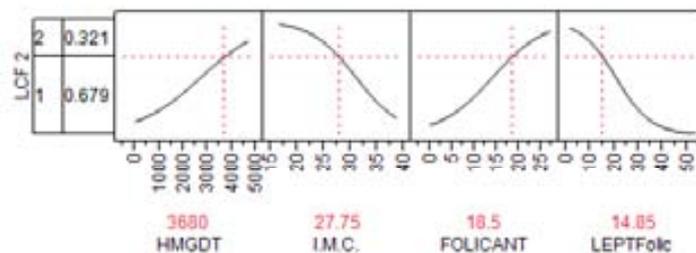
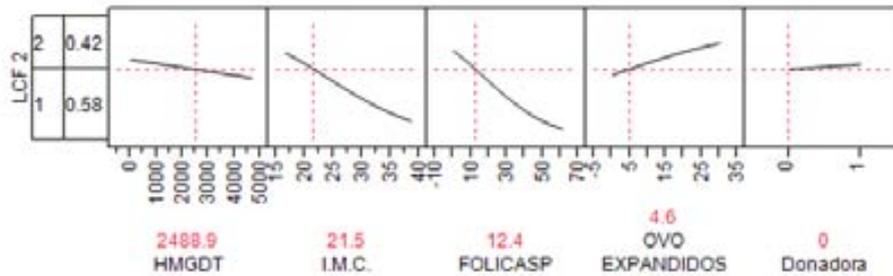


Figura 27 Interacciones observadas en el modelo obtenido para evaluar el efecto ajustado de HMG en la presencia de latido cardiaco en el análisis de regresión logística múltiple que excluyendo los casos de mujeres donadoras de ovocitos (n=69)

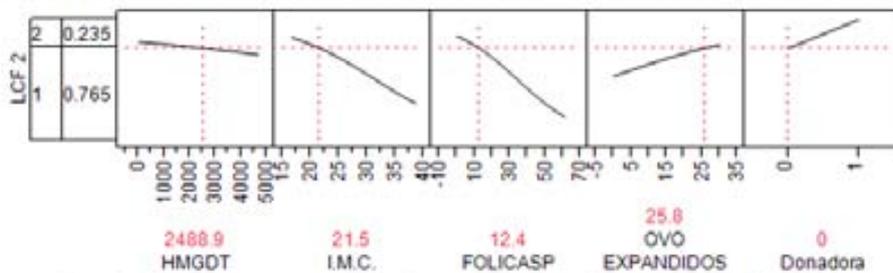
Retomando los resultados obtenidos anteriormente, pero ahora prestando atención a los ovocitos expandidos, tal como se aprecia en la figura 28, se puede observar una asociación significativa entre los ovocitos expandidos y la presencia final de latido cardiaco fetal en

pacientes donadoras estimuladas con HMG. Para las demás variables, obtenidas por análisis de regresión múltiple por Stepwise tales como, IMC, folículos aspirados, incluyendo al grupo de pacientes no donadoras, el hecho de tener ovocitos oscuros o expandidos, no resultó estadísticamente significativa.

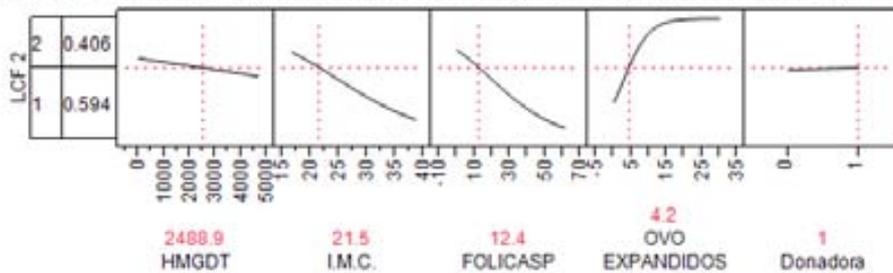
a. Número reducido de ovocitos expandidos en el grupo de pacientes no donadoras



b. Número elevado de ovocitos expandidos en el grupo de pacientes no donadoras



c. Número reducido de ovocitos expandidos en el grupo de pacientes donadoras



d. Número elevado de ovocitos expandidos en el grupo de pacientes donadoras

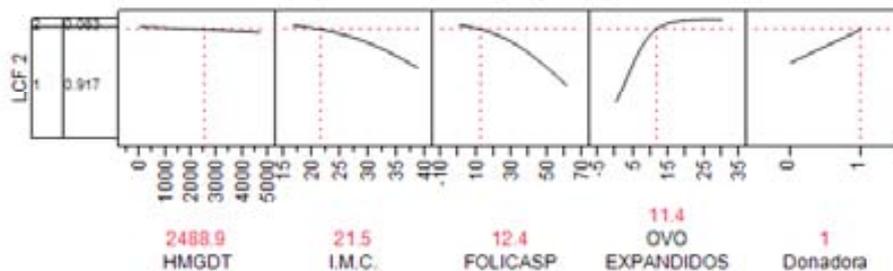


Figura 28 Interacciones observadas en el modelo de regresión logística múltiple obtenido para evaluar el efecto ajustado de HMG en la presencia de latido cardiaco fetal ajustado por las variables I.M.C., folículos aspirados, número de ovocitos expandidos y donadora (n=92)

10 Discusión

Si bien tanto el sobrepeso, como la leptina son factores que ya han sido estudiados por separado por diferentes autores y quienes han demostrado su influencia en reproducción, se decidió evaluar la influencia de ambos factores pero ahora en cuanto a la estimulación ovárica controlada en reproducción asistida. Son varios los estudios en donde se ha demostrado que en las mujeres con sobrepeso se obtienen menor cantidad de ovocitos a pesar de requerir mayores dosis de gonadotropinas, junto con una elevada tasa de abortos. El presente estudio corroboró lo anteriormente expuesto, toda vez que las pacientes con sobrepeso presentaron menores tasas de embarazo que las mujeres con peso normal y las mujeres delgadas. (64)

Es conveniente aclarar que en el momento de la elaboración del estudio, se tomaron como valores de índice de masa corporal a los que habían utilizado los nutriólogos de manera tradicional, aunque en la actualidad y en particular desde 2007, la OMS ha replanteado y modificado discretamente algunos valores, en particular en lo que concierne a las pacientes consideradas delgadas, llevándolas del antiguo límite inferior de 20 al de 18. (63) El grueso de las pacientes osciló en un índice de masa corporal entre 18 y 30.

Debido a que el propósito del estudio era el evaluar la influencia de la leptina y el IMC, se dividió en grupos de estudio a las diferentes pacientes, de acuerdo con su diagnóstico de factor de esterilidad. Es importante hacer notar que no todos los factores tienen una repercusión sobre la ovulación de las pacientes y su calidad ovocitaria, por lo tanto no es lo mismo el estatus hormonal de las pacientes con factor endócrino-ovárico que el de las pacientes con factor tubárico o el de factor masculino. En este sentido, resulta de interés mencionar que se incluyó el grupo de pacientes donadoras, el cual por fortuna resultó ser el de mayor número de casos, con un 24%, lo cual presupuso que estas pacientes al ser seleccionadas para fines reproductivos, estaban sanas.

Únicamente el 7% de las pacientes presentaron como diagnóstico de infertilidad factor endócrino-ovárico, diagnóstico que por su misma naturaleza pudo haber afectado la pro-

ducción ovocitaria y por ende las tasas de embarazo, no obstante el 93% restante fueron encasilladas dentro de otros factores o grupos que permitieron que los resultados del estudio no se vieran influenciados.

La edad, sin duda es una variable importante como pronóstico de factibilidad de embarazo debido al mayor conteo ovocitario de los ovarios de una mujer joven, en contraste con una mujer de más de 37 años de edad. Como es de esperarse, la mayoría de las pacientes (66%), resultaron las ubicadas entre los 30 y los 39 años de edad, debido a que es en esta década en la que las pacientes suelen acudir a este tipo de servicios reproductivos por diferentes razones tales como retardo en el inicio de su vida reproductiva, enfermedad reproductiva *per se* o bien por segundas nupcias posterior a método anticonceptivo quirúrgico previo.

En los resultados se expuso la asociación entre las causas de esterilidad y la edad. Para éste fin excluimos al grupo de “donadoras” ya que éste grupo se presume que son pacientes sanas y jóvenes, captadas en el filtro de selección de las mismas. En el grupo de síndrome de ovarios poliquísticos, más de tres cuartas partes de las pacientes correspondió a mujeres menores de 35 años de edad; Las mujeres con falla ovárica lógicamente se ven agrupadas en aquellas con más de 37 años de edad. Los factores masculino, uterino y desconocido son indistintos en términos de edad, en contraste el factor tubárico, el cual se aprecia más en las mujeres por encima de los 30 años de edad, explicable por dos factores: uno, por el retraso en el inicio de la vida reproductiva de las mujeres incorporadas a la vida laboral; y dos, por aquellas pacientes en segundas nupcias que se habían realizado una oclusión tubárica bilateral. (Figura 4)

Resulta natural lo observado en la figura 3, 8 y la tabla 7; Hay una clara correlación directa entre la edad y el recuento de folículos basales, debido a que la reserva folicular en los ovarios de una mujer joven es sin duda mayor que el de una mujer de mayor edad. El aumento del IMC se correlacionó con la edad en el estudio sin encontrar una causa clara en éste sentido.

También relacionado con la edad, en el estudio se observó que la probabilidad de presentar síndrome de ovarios poliquísticos y esterilidad por causa desconocida ocurre más en mujeres jóvenes que en mujeres de más edad. En las pacientes de mayor edad se observó mayor posibilidad de presentar esterilidad por factor endócrino-ovárico y tubárico, explicable tanto por el agotamiento del recuento folicular, como por obstrucción tubárica por antecedente

tes de oclusión tubárica bilateral. En cuanto al promedio de edad y las causas de esterilidad, como se observa en la figura 5, se constata el hecho de que el grupo denominado donadoras fue el de menor edad, debido a que las pacientes jóvenes son las que habitualmente son seleccionadas para éstos fines.

Sobre el IMC, en los resultados se demuestra como en la medida en la que se incrementa el mismo, aumenta también la probabilidad de que una paciente presente ovarios poliquísticos y/o factor endócrino ovárico. Vrbikova y Hainer (65) en un interesante artículo hacen referencia a la relación IMC-Síndrome de ovarios poliquísticos en un 30-70% en donde a juicio de las autoras, es primordial el componente androgénico, como causante del síndrome y que un factor pronóstico importante es el aumento de peso en conjunción con el aumento de edad como pronóstico de poliquistosis ovárica en el futuro, independientemente que se ha identificado al FTO (gen asociado a la obesidad) e intolerancia a la glucosa y/o hiperinsulinemia y resistencia a la insulina. En éste sentido, el aumento en ambos rubros podría, aunque sea de una manera no tan sólida, explicar la esterilidad de varias de las pacientes estudiadas. En referencia a las pacientes con factor endócrino-ovárico, en opinión de Grodstein *et al* (66), en un estudio con un abordaje similar al nuestro en 597 mujeres, concluyó que las pacientes que presentaron disfunción ovulatoria fueron las del grupo denominadas obesas y que en las pacientes con IMC normal y bajo la disfunción se eleva en una menor proporción. Grodstein menciona que la citada disfunción se relaciona con una disminución en la capacidad de unión del estrógeno con las proteínas de unión de hormonas sexuales.

Está claro, de acuerdo a los resultados obtenidos, como a lo reportado en la literatura, que a menor edad y a menor IMC mayor cantidad de folículos basales.

Existe una asociación entre las mujeres con IMC aumentado con el factor de reproducción endócrino-ovárico y el grupo con ovarios poliquísticos, esto en concordancia con lo reportado en la literatura. No es de extrañar que las mujeres con un IMC bajo, asocien a las pacientes donadoras, toda vez que se trata de pacientes jóvenes en su mayoría.

Indiscutiblemente, las pacientes jóvenes donadoras representan la mayor proporción en el grupo estudiado por lo anteriormente explicado, pero entre todas las otras, vemos que el factor endócrino-ovárico, seguido del tubárico se ven más frecuentemente mientras más edad presentan las pacientes. (Figura 5 y Tabla 7). Es de llamar la atención, como mientras

menor es el índice de masa corporal, más se observó la presencia de endometriosis y por lo contrario, éste disminuye mientras más índice de masa corporal presenta. Estos hallazgos que coinciden con los reportados por Ferrero et al en Génova, Italia. (67)

Volviendo con el recuento de folículos basales, no es de extrañar que el grupo de pacientes donadoras presente un mayor conteo en comparación con los demás grupos, dado a que las pacientes donadoras usualmente son mujeres jóvenes, al igual que el grupo de pacientes con ovarios poliquísticos por la misma naturaleza de ésta condición. El estudio demuestra como a mayor edad, menor cantidad de folículos basales, encontrando una reducción magra de 7 folículos por cada 10 años de edad transcurridos y por lo que respecta a la relación índice de masa corporal versus número de folículos basales, se encontró una diferencia significativa en la cual por cada unidad de índice de masa, ocurrirá una reducción de unos 4 folículos basales, lo cual es consistente con las menores tasas de embarazo en las pacientes con sobrepeso/obesas.

Si bien las mujeres obesas presentaron una asociación con poliquistosis ovárica, por el contrario, las mujeres delgadas se asociaron más con factor uterino, masculino y desconocido, excluyendo al grupo de donadoras, debido al sesgo que lo seleccionado de éste grupo podría hacer.

Otro de los objetivos fue el evaluar la influencia de la leptina y del IMC sobre la respuesta ovárica a la estimulación ovárica controlada, la cual en la mayoría de los ciclos se realizó con menotropinas urinarias purificadas (HMG). Para éste propósito se construyeron modelos de regresión múltiple para evaluar el efecto de la dosis de HMG con el número de folículos aspirados y los ovocitos obtenidos, ajustados por las variables IMC, folículos antrales, niveles séricos y foliculares de leptina y el grosor endometrial al día 7, analizando a todas las mujeres y posteriormente excluyendo los casos con ovocitos donados. Sobre todo al analizar el éxito en términos de frecuencia cardíaca fetal, toda vez que se trataba de pacientes receptoras no estimuladas con HMG.

En éste modelo de correlación se vuelve a demostrar como definitivamente la respuesta va en razón directa al número de folículos antrales, existiendo una obvia diferencia entre el grupo de las mujeres donadoras de ovocitos, en las cuales la dosis de HMG está relacionada directamente con el número de folículos estimulados; En cambio, en el resto de las pacientes, la dosis de HMG no tiene repercusión en la producción folicular. Más aún, las

concentraciones de leptina elevadas, reducen el número de folículos estimulados indistintamente del número del recuento de folículos antrales previos; el aumento de la dosis de HMG, en estas pacientes aumenta la selección folicular.

Más específicamente, se determinó la asociación del número de folículos aspirados con las concentraciones de estradiol sérico al día cinco de estimulación y al día de disparo folicular, así como con la leptina sérica basal e intrafolicular mediante un modelo de regresión lineal múltiple en donde resultó, que en las pacientes delgadas ocurrió una mejor respuesta ovárica observándose un aumento en la cantidad de folículos aspirados y en concordancia con una elevación en las cifras de estradiol entre el día 5 y el día del disparo con independencia de los niveles de leptina. En el grupo de las pacientes obesas, ocurrió que a mayor cantidad de leptina intrafolicular, y sin guardar una relación estadística con niveles de leptina sérica, se observó una clara disminución en la cantidad de folículos obtenidos y aspirados; sin embargo, si los niveles de estradiol el día del disparo fueron elevados, la cantidad de folículos fue mayor, resultando irrelevante los niveles de ésta hormona el día 5 del ciclo, lo cual habla de una adecuada acción de las menotropinas durante la estimulación ovárica controlada. No es de extrañar que en las pacientes obesas ocurriera un aumento en la cantidad de folículos si los niveles de estradiol se elevaron adecuadamente, de hecho Geber y cols (68) estudiaron la interacción estradiol – leptina y concluyen que ambos interactúan de manera positiva, actuando el estradiol como pistón sobre la elevación de leptina, pero teniendo definitivamente una mayor acción el estradiol persé sobre la producción folicular y en obvia relación con los niveles de FSH ó menotropinas.

Sobre la cantidad de ovocitos fecundados, resultó que mientras menor sean los niveles de leptina folicular, se traduce en un mayor número de ovocitos fecundados, especialmente si las concentraciones séricas de estradiol al día del disparo fueron elevadas. En el caso del IMC, sucede lo mismo aunque de manera marginal, mientras mayor sea el IMC, menor cantidad de ovocitos fecundados habrán. De Placido et al (69) coinciden con éstos hallazgos e incluso sugieren que los valores de leptina folicular son más importante como valor predictivo de fertilización in vitro que la medición del tamaño folicular.

La dosis de HMG no demostró afectar directamente la cantidad, o calidad de los ovocitos obtenidos tanto en el grupo de pacientes donadoras como en el resto de las pacientes. Esto hace sentido, ya que la obtención ovocitaria deriva supuestamente de la cantidad de

ovocitos primarios que de manera intrínseca tiene cada paciente. No obstante la premisa anterior, las variables edad, índice de masa corporal, el grupo donadoras y en menor escala la concentración de leptina basal si presentaron una asociación, sin embargo al aplicar un análisis de regresión múltiple, se observa que a mayor concentración de leptina sérica y folicular, menor fue la cantidad de ovocitos obtenidos. Analizando el grupo, restringiendo a las donadoras, resultó en una reducción de unos 10 ovocitos si las pacientes presentaron concentraciones séricas y foliculares de leptina por encima de 72.4 ng/ml. Loh y colaboradores (70) coinciden con lo presentado en éste estudio en el sentido de que para ellos un IMC alterado en resultó en una respuesta ovárica ineficiente, aumentando el número de cancelaciones, pero que una vez regulando la estimulación aumentando la dosis de FSH/HMG entonces tanto la producción folicular como ovocitaria mejoran en perspectiva.

Sobre la calidad ovocitaria, tenemos una coincidencia sobre lo ya conocido. Los ovocitos expandidos utilizados para la fecundación in vitro, versus los ovocitos oscuros arrojaron un porcentaje absoluto mayor de embarazos exitosos (12.26%), expresados en latido cardiaco fetal. Es oportuno señalar que no únicamente el grado de maduración ovocitaria y su calidad son necesariamente las únicas condiciones que permitirán la fecundación; Testart y cols (71) demuestran como la calidad del semen es igualmente importante, coinciden con que los ovocitos expandidos presentaron una fecundación más exitosa (87.0 vs 58.3%, $p < 0.02$). La condición del semen para fines de éste punto en particular no fue evaluado, pero sin duda es un punto relevante. Los resultados obtenidos en relación al éxito de fecundación y de latido cardiaco sobre si los ovocitos eran oscuros o expandidos y las demás variables no tuvieron una asociación clara.

El presente estudio evaluó la calidad embrionaria, resulta útil mencionar que Anifandis y cols (72) en Grecia, en un estudio en 100 pacientes, evaluaron la calidad embrionaria con las concentraciones intrafoliculares de leptina y reportan una asociación en donde a mayor concentración de leptina intrafolicular (56.7 ± 4.27 ng/ml), peor será la calidad del embrión. El criterio de calidad fue evaluado en el tercer día de acuerdo al número de blastómeros (< 5 y > 5) y el grado de fragmentación en escala del 1 al 4 en A (4-3 como buena calidad) y en B (1-2 como mala calidad). En el estudio se observó una asociación similar, solo que directamente asociada a los niveles basales de leptina en donde al ocurrir niveles basales elevados de leptina, en conjunto con leptina folicular alta, ocurre un claro efecto

negativo sobre la calidad embrionaria, en términos del número de células. Llama la atención como en cuanto a lo que a fragmentación se refiere como el otro parámetro que evalúa calidad embrionaria, en el estudio no se encontró ninguna asociación ni con niveles de leptina, ni con los grupos de IMC, quedaría en el terreno de la especulación si es que existen factores externos en la manipulación in vitro que pudieran provocar mayor o menor fragmentación. Cabe la posibilidad de que alguno de éstos cambios deletéreos sean de origen meiótico o citoplasmico, tal como lo propone Arias-Álvarez y cols (73) en un estudio realizado en conejos en donde intentó determinar 1) si la leptina influencia en la meiosis y la maduración ovocitaria y si STAT3 y MAPK medían los efectos de la leptina y 2) si la leptina modula la secreción esteroidea por complejos cumulus-ovocito (CCO) durante la maduración in vitro. Arias-Álvarez corroboró que la leptina es mediadora de las vías JAK2/STAT3 y MEK 1/2 en el núcleo ovocitario, pero que ni la maduración citoplasmática ovocitaria, ni la respuesta esteroidea del CCO se vio afectada en el modelo del conejo.

La presencia del latido cardiaco como evidencia de gestación en términos generales no dependió de los niveles de leptina ni de las dosis de HMG. Como ya es sabido, el grosor del endometrio sí presentó un efecto en la población estudiada, recordando que en el caso especial del grupo donadoras, la paciente receptora estuvo estimulada con estrógenos y progesterona y en diferentes circunstancias de peso, leptina, etc; Lo reportado en resultados sobre el hecho de que mejoraron las tasas de latido cardiaco a menor grosor endometrial en mujeres donadoras se explica porque a éstas pacientes no se les efectuó la transferencia, sino a las receptoras. Aun así, excluyendo al grupo donadoras/receptoras, apreciamos que las pacientes con índices de masa corporal bajo presentaron mayor probabilidad de encontrar latido cardiaco fetal, por parte del grupo de pacientes obesas, no repercutió éste factor de manera relevante. Matalliotakis y cols., encontraron en un estudio similar en 140 mujeres y 291 ciclos, aunque únicamente estudiando el impacto del IMC en los resultados de FIV e ICSI demostraron una disminución significativa en el número de folículos obtenidos y número de embriones en las pacientes con $IMC > 24 \text{ Kg/m}^2$. (74)

En lo que respecta a la leptina, independientemente si se encuentra aumentada a nivel folicular o en la sangre, resulta que en pacientes delgadas ocurre una mejor respuesta al aumento de HMG, traduciéndose esto en mayores tasas de embarazo y una vez más evidenciándose que una concentración alta de leptina resulta irrelevante ante dosis mayores de HMG en términos de éxito de embarazo. No obstante lo anterior, resulta interesante el hecho de

que únicamente las concentraciones altas de leptina intrafolicular resultaron tener cierta influencia negativa tanto en la obtención de folículos, como en las tasas de embarazo, esto coincide tanto en el presente estudio, como en el estudio realizado por Mantzoros y cols (75) en 2895 ciclos de un total de 1244 parejas con y sin ovarios poliquísticos, en donde después de ajustar la edad, el IMC observaron que las mujeres con ovarios poliquísticos que lograron embarazarse tendían a presentar valores de leptina intrafolicular menores que las pacientes que no consiguieron embarazarse.

Indudablemente existen mecanismos intrafoliculares hasta el momento no del todo entendidos, además se conocen algunas interacciones entre la concentración de leptina intrafolicular con las hormonas esteroideas y otros péptidos hormonales, como el sistema GH-IGF-1, estudiados apenas en la última década. Silva y cols. (76) estudiaron el comportamiento de GH sobre la foliculogénesis, en donde IGF-1 no presenta efecto alguno en el folículo primordial, pero si en el folículo secundario influyendo de manera directa en el crecimiento del mismo.

Si bien el estudio está enfocado en los aspectos estrictamente ovocitarios, debemos tener siempre en consideración el factor de implantación embrionaria, la cual está más que demostrada que se ve afectada en pacientes obesas, que también afecta el resultado de los tratamientos de reproducción asistida y que también puede revertirse en sentido positivo si la paciente consigue bajar de peso mediante cirugía bariátrica, dieta, o modificando su estilo de vida, mejorando sus tasas reproductivas, aspecto estudiado por Brewer y colaboradores (77). Por otro lado y de manera paradójica, en ciclos de IVSI en especies inferiores, se han utilizado preparados con leptina para producir cerdos transgénicos de mejor calidad en términos de calidad ovocitaria e implantacional, de acuerdo con los hallazgos de Li y colaboradores (78).

Considero importante que se propongan otras líneas de estudio con la finalidad de dilucidar los diversos mecanismos intrafoliculares que podrían incluso modificar los protocolos de estimulación ovárica controlada, haciendo más eficaces los mismos a menores dosis de medicamentos estimulantes de la ovulación.

11 Conclusiones

11.1 Objetivo principal

Existe una asociación entre los niveles de leptina tanto en la producción folicular, la obtención de ovocitos y en las tasas de embarazo. Dicha asociación no afecta de manera dramática los anteriores parámetros, más bien la afecta de manera sutil de la siguiente manera:

- Los niveles de leptina intrafolicular aumentados inciden de manera parcial tanto sobre la producción folicular como sobre la ovocitaria reduciendo el número de los mismos. En éste sentido la influencia de la leptina no pareciera ser tan importante, toda vez que el ajuste en la dosis durante la estimulación ovárica con menotropinas o con rFSH pudiera compensar éste déficit.
- Los niveles de leptina intrafolicular afectaron discretamente la calidad ovocitaria.

11.2 Objetivos secundarios

- 1) Existe una asociación entre el índice de masa corporal (IMC) y los valores séricos de leptina de las pacientes que serán sometidas a protocolos de reproducción asistida de la siguiente manera:
 - Se observó una asociación directa entre el índice de masa corporal y los niveles de leptina séricos e intrafoliculares. Mientras mayor sea el IMC, mayor será la cantidad de leptina.
- 2) El efecto de IMC para efectos de fecundación, parece jugar un papel preponderante sobre la concentración de leptina basal o folicular, en el sentido en que mientras más bajo sea el IMC mayor cantidad de ovocitos fecundados habrán, con independencia de los niveles de leptina.

- 3) Existe una asociación entre los niveles basales de leptina en relación estrecha con los niveles de leptina en sentido negativo y presentando mayor importancia los valores de leptina folicular sobre los de leptina basal bajando así la cantidad de folículos obtenidos durante la estimulación ovárica controlada. No obstante, los niveles de estradiol obtenidos el día del disparo con HCG presentan mayor peso sobre la cantidad de folículos que los de leptina basal o folicular. Los valores de estradiol al día 5 resultaron ser irrelevantes.
- 4) Los niveles basales de leptina han demostrado que ejercen un efecto sine qua non sobre la concentración de leptina folicular y su efecto final tanto sobre la estimulación ovárica controlada, como sobre la producción de ovocitos y la calidad de los mismos. Por su parte y a manera de hallazgo, el IMC guarda una estrecha relación mayor sobre los niveles foliculares de leptina, ocurriendo sin la misma intensidad, al menos clínicamente sobre la leptina basal.
- 5) Los niveles de leptina tanto basal, como folicular resultó significativa en términos del número de ovocitos obtenidos, especialmente la combinación leptina basal elevada en conjunto con leptina folicular elevada. No se demostró que los niveles de leptina influyeran en cuanto a la obtención de ovocitos oscuros ó expandidos.
- 6) La correlación entre la calidad embrionaria y el que la paciente presente niveles de leptina basales e intrafoliculares elevados queda parcialmente respondida en virtud de que únicamente el parámetro de conteo celular demostró presentar una afectación cuando se presentan niveles elevados en los dos tipos de leptina, lo cual suele ir directamente relacionado con un índice de masa corporal por encima de 25. La fragmentación en contraste, permanece ajena a éstos factores, quedándose como parte de algún futuro estudio que ahonde más en esto.

11.3 Generales

- La obesidad es considerada una enfermedad pandémica derivada del sedentarismo, en combinación con malos hábitos alimenticios, la anorexia y la bulimia por su parte son trastornos psicológico-alimenticios que conllevan trastornos endocrinológicos e incluso en grados mayores la muerte.

- La incorporación de la mujer al mundo laboral actual, en conjunto con la dinámica social actual, ha ocasionado que muchas mujeres aplacen la edad de su primer embarazo. Actualmente se establece que a partir de los 37 años de edad disminuye de manera drástica la posibilidad de que una mujer quede embarazada de manera espontánea, sin embargo los tratamientos de reproducción asistida ofrecen una alternativa real para éste grupo de parejas.
- La edad es un factor importante ya que mientras más joven es la paciente, se presume que su conteo folicular basal será mayor, demostrándose una clara correlación entre éstas dos variables.

12 Referencias

1. WHO. *Obesity*. Preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation of obesity. Geneva: World Health Organization, 1998.
2. Bjornturp P. Thrifty genes and human obesity. Are we chasing ghosts? *Lancet*. 2001;358:1006-8.
3. Barsh G, Farouqi I, O'Rahilly S. Genetic of body-weight regulation. *Nature*. 2000;404:644-51.
4. SSA. *Programa de acción específico: riesgo cardiovascular 2007-2012*. México: Secretaría de Salud, Subsecretaria de prevención y promoción de la salud, 2007.
5. SS-SEP. *Acuerdo Nacional para la salud alimentaria*. México: SS-SEP, 2010.
6. Morales-Ruán M, Hernández-Prado B. Obesity, overweight, screen time and physical activity in Mexican adolescents. *Salud Pública Mex*. 2009;51(4).
7. Hu F. Television watching and other sedentary behaviors in relation to risk of obesity and type 2 diabetes mellitus in women. *JAMA*. 2003;289:1785-91.
8. Barry D, Grilo C, Masheb R. Gender differences in patients with binge eating disorder. *Int J Eat Disord*. 2002;31(1):63-70.
9. Canovas B, Ruperto M, Mendoza E. Concordancia entre la autopercepción corporal y el IMC calculado en una población voluntaria captada el IV día nacional de la persona obesa. *Nutr Hosp*. 2001;16(4):116-20.
10. Gómez G, Saucedo-Molina T, Unikel C. Psicología social en el campo de la salud: imagen corporal en los trastornos de la alimentación. México: Fondo de Cultura Económica; 2001. 267-306 p.
11. Pike K, Dohm F, Striegel-Moore R, Wilfley D, Fairburn C. A Comparison of black and white women with binge eating disorder. *Am J Psychiatry*. 2001;158(9):1455-60.
12. Stice M, Shaw H. Role of body dissatisfaction in the onset and maintenance of eating pathology: a synthesis of research findings. *J Psychosom Res*. 2002;53(5):985-93.

13. Rieder S, Ruderman A. Cognitive factors associated with binge and purge eating behaviors: The interaction of body dissatisfaction and body image importance. *Cognit Ther Res.* 2001;26(6):801-12.
14. Casanueva E. Nutrición en la mujer adulta. Casanueva E, Kaufer M, Pérez A, Arroyo P, editors. México: Ed. Panamericana; 2001.
15. Pfeffer F, Kaufer-Horwitz M. Nutrición del adulto. Casanueva E, Kaufer M, Pérez A, Arroyo P, editors. México: Ed. Panamericana; 2001.
16. Stewart T, Williamson D, White M. Rigid vs flexible dieting: Association with eating disorder symptoms in nonobese women. *Appetite.* 2002;38(1):39-44.
17. Lora-Cortez C, Saucedo-Molina T. Conductas alimentarias de riesgo e imagen corporal de acuerdo al índice de masa corporal en una muestra de mujeres adultas de la Ciudad de México. *Salud Ment (Mex).* 2006;29(3):60-7.
18. Jimerson D, Mantzoros C, Wolfe B, Metzger E. Decreased serum leptin in bulimia nervosa. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000;85:4511-4.
19. Magni P, Martini L, Motta M. Leptin Actions on the Reproductive Axis. *Endocrine Soc;* 2001. p. 946-7.
20. Sanjay KA, Klara V. Leptin antagonizes the insulin-like growth factor-1 augmentation of steroidogenesis in granulosa and theca cells of the human ovary [J]. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999;84(3):1072-6.
21. Greisen S, Ledet T, Moller N, Jorgensen JOL, Christiansen JS, Petersen K, et al. Effects of leptin on basal and FSH stimulated steroidogenesis in human granulosa luteal cells. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2000;79(11):931-5.
22. Duggal PS, Van der Hoek KH, Milner CR, Ryan NK, Armstrong DT, Magoffin DA, et al. The in Vivo and in Vitro Effects of Exogenous Leptin on Ovulation in the Rat 1. *Endocrinology.* 2000;141(6):1971-6.
23. Messinis IE. Leptin concentrations in the follicular phase of spontaneous cycles and cycles superovulated with follicle stimulating hormone. *Hum Reprod.* 1998;13(5):1152-6.
24. Stock SM, Sande EM, Bremme KA. Leptin levels vary significantly during the menstrual cycle, pregnancy, and in vitro fertilization treatment: possible relation to estradiol. *Fertil Steril.* 1999;72(4):657-62.

25. Welt CK, Chan JL, Bullen J, Murphy R, Smith P, DePaoli AM, et al. Recombinant human leptin in women with hypothalamic amenorrhea. *N Engl J Med.* 2004;351(10):987-97.
26. Chen EC, Brzyski RG. Exercise and reproductive dysfunction. *Fertil Steril.* 1999;71(1):1-6.
27. Chapman IM, Wittert GA, Norman RJ. Circulating leptin concentrations in polycystic ovary syndrome: relation to anthropometric and metabolic parameters. *Clin Endocrinol.* 1997;46(2):175-81.
28. Cortet-Rudelli C, Pigny P, Decanter C, Leroy M, Maunoury-Lefebvre C, Thomas-Desrousseaux P, et al. Obesity and serum luteinizing hormone level have an independent and opposite effect on the serum inhibin B level in patients with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril.* 2002;77(2):281-7.
29. Acien P, Quereda F, Matalln P, Villarroya E, Lopez-Fernandez JA, Acien M, et al. Insulin, androgens, and obesity in women with and without polycystic ovary syndrome: a heterogeneous group of disorders-apparent relative impairment of 17, 20-lyase activity. *Fertil Steril.* 1999;72(1):32-40.
30. Escobar-Morreale HF, Serrano-Gotarredona J, Varela C, Garcia-Robles R, Sancho JM. Circulating leptin concentrations in women with hirsutism. *Fertil Steril.* 1997;68(5):898-906.
31. Tsai EM, Yang CH, Chen SC, Liu YH, Chen HS, Hsu SC, et al. Leptin Affects Pregnancy Outcome of In Vitro Fertilization and Steroidogenesis of Human Granulosa Cells. *J Assist Reprod Genet.* 2002;19(4):169-76.
32. Castracane VD, Gimpel TL, Padilla S. Serum Leptin Levels in Controlled Ovarian Hyperstimulation Cycles. *Fertil Steril.* 1997;1997(1001):199-200.
33. S. Mantzoros C, W. Cramer D, F. Liberman R, L. Barbieri R. Predictive value of serum and follicular fluid leptin concentrations during assisted reproductive cycles in normal women and in women with the polycystic ovarian syndrome. *Hum Reprod.* 2000;15(3):539-44.
34. Kratzsch J, Höckel M, Kiess W. Leptin and pregnancy outcome. *Curr Opin in Obstet Gynecol.* 2000;12(6):501.
35. Barroso G, Barrionuevo M, Rao P, Graham L, Danforth D, Huey S, et al. Vascular endothelial growth factor, nitric oxide, and leptin follicular fluid levels correlate negatively with embryo quality in IVF patients. *Fertil Steril.* 1999;72(6):1024-6.

36. Butzow TL, Moilanen JM, Lehtovirta M, Tuomi T, Hovatta O, Sieberg R, et al. Serum and Follicular Fluid Leptin during in Vitro Fertilization: Relationship among Leptin Increase, Body Fat Mass, and Reduced Ovarian Response. *Endocrine Soc*; 1999. p. 3135-9.
37. Lindheim SR, Sauer MV, Carmina E, Chang PL, Zimmerman R, Lobo RA. Circulating leptin levels during ovulation induction: relation to adiposity and ovarian morphology. *Fertil Steril*. 2000;73(3):493-8.
38. Seidman DS, Kreiser D, Sivan E, Horowitz A, Rabinovici J, Shine S. Leptin Concentrations in Serum and Follicular Fluid of Patients Undergoing IVF Treatment. *Fertil Steril*. 1998;70.
39. Poretsky L, Cataldo N, Rosenwaks Zea. The insulin related ovarian regulatory system in health and disease. *Endocrinol Rev*. 1999;20:535-82.
40. Moschos S, Chan J, Mantzoros C. Leptin and reproduction: a review. *Fertil Steril*. 2002;77:434-44.
41. Tanbo T. The role of body weight on the outcome of assisted reproduction. In: Editore M, editor. *Advances in infertility treatment 2002*.
42. Carrell D, Jones K, Peterson C. Body mass index is inversely related to intrafollicular HCG concentrations, embryo quality and IVF outcome. *Reprod Biomed Online*. 2001;3:109-11.
43. Loveland J, McClamrock H, Malinow A. *Assisted Reproduction and Genetics 2001*.
44. Mulders A, Laven J, Eijkemans M. Patient predictors for outcome of gonadotrophin ovulation induction in women with normogonadotropic anovulatory infertility: a meta-analysis. *Hum Reprod Update*. 2003;9:429-49.
45. Nichols J, Crane M, Higdon III H. Extremes of body mass index reduce in-vitro fertilization pregnancy rates. *Fertil Steril*. 2003;79:645-57.
46. Wass P, Waldenstrom U, Rossner S. An android body fat distribution in females impairs the pregnancy rate of in-vitro fertilization-embryo transfer. *Hum Reprod*. 1997;12:2057-60.
47. Veeck L. Oocyte assessment and biological performance. *Ann NY Acad Sci*. 1988;541:259-74.

48. Veeck L, editor. An atlas of human gametes and conceptuses: Parthenon Publisher; 1988.
49. Laufer N, Tarlatzis B, DeCherney A, Masters J, Haseltine F, MacLusky N, et al. Asynchrony between human cumulus-corona cell complex and oocyte maturation after human menopausal gonadotropin treatment for in vitro fertilization. *Fertil Steril*. 1984;42:366-72.
50. De Vos A, Van de Velde H, Joris H, Van Steirteghem A. In-vitro matured metaphase-I oocytes have a lower fertilization rate but similar embryo quality as mature metaphase-II oocytes after intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod*. 1999;14:1859-63.
51. Ebner T, Yaman C, Moser M, Sommergruber M, Feichtinger O, Tews G. Prognostic value of first polar body morphology on fertilization rate and embryo quality in intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod*. 2000;15:427-30.
52. Hassan-Ali H, Hishham-Saleh A, El-Gezeiry D, Baghdady I, Ismaeil I, Mandelbaum J. Perivitelline space granularity: a sign of human menopausal gonadotrophin overdose in intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod*. 1998;13:3425-30.
53. Loutradis D, Drakakis M, Kallianidis K, Milingos S, Michalas S. Oocytes morphology correlates with embryo quality and pregnancy rate after intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril*. 1999;72:240-4.
54. Xia P. Intracytoplasmic sperm injection: Correlation of oocyte grade based on polar body, perivitelline space and cytoplasmic inclusions with fertilization rate and embryo quality. *Hum Reprod*. 1997;12:1750-5.
55. Ebner T, Moser M, Sommergruber M, Yaman C, Pfleger U, Tews G. First polar body morphology and blastocyst formation rate in ICSI patients. *Hum Reprod*. 2002;17:2415-8.
56. Serhal P, Ranieri D, Kinis A, Marchant S, Davies M, Khadum I. Oocyte morphology predicts outcome predicts outcome of intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod*. 1997;12:1267-70.
57. Kahraman S, Yakin K, Donmez E, Samli H, Bahce M, Cengiz G, et al. Relationship between granular cytoplasm of oocytes and pregnancy outcome following intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod*. 2000;15:2390-3.
58. Balaban B, Urman B, Sertac A, Alatas C, Aksoy S, Mercan R. Oocyte morphology does not affect fertilization rate, embryo quality and implantation rate after intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod*. 1998;13:3431-3.

59. Ebner T, Moser M, Sommergruber M, Tews G. Selection based on morphological assessment of oocytes and embryos at different stages of preimplantation development: a review. *Hum Reprod.* 2003;9:251-62.
60. Ebner T, Moser M, Sommergruber M, Puchner M, Wiesinger R, Tews G. Developmental competence of oocytes showing increased cytoplasmic viscosity. *Hum Reprod.* 2003;18:1294-8.
61. Meriano J, Alexis J, Visram-Zaver S, Crz M, Casper R. Tracking of oocytes dysmorphisms for ICSI may prove relevant to the outcome in subsequent patient cycles. *Hum Reprod.* 2001;16:2118-23.
62. Reproducción Asistida. Abordaje en la práctica clínica Parte III. Cuaderno de embriología clínica: Editorial Panamericana ASEBIR; 2011.
63. WHO. Clinical guidelines on the identification, evaluation and treatment of overweight and obesity in adults: Medstar physician partners/Medstar family choice; 2007 [cited 2007]. Clinical guidelines].
64. Maheshwari A, Stofberg L, Bhattacharya S. Effect of overweight and obesity on assisted reproductive technology - a systematic review. *Hum Reprod Update.* 2007;13(5):433-44.
65. Vrbikova J, Hainer V. Obesity and Polycystic Ovary Syndrome. *Obes Facts.* 2009;2:26-35.
66. Grodstein F, Goldman M, Cramer D. Body mass index and ovulatory infertility. *Epidemiology.* 1994;5(2):247-50.
67. Ferrero S, Anserini P, Remorgida V, Ragni N. Body Mass Index in Endometriosis. *Eur J of Obs & Gyn and Repr Biol.* 2005;121(1):94-8.
68. Geber S, Brandao AHF, Sampaio M. Effects of estradiol and FSH on leptin levels in women with suppressed pituitary. *Reprod Biol Endocrinol.* 2012;10:45-.
69. De Placido G, Alviggi C, Clarizia R, Mollo A. Intra-follicular leptin concentration as a predictive factor for in vitro oocyte fertilization in assisted reproductive techniques. *J Endocrinol Invest.* 2006;29(8):719-26.
70. Loh S, Wang JX, Matthews CD. The influence of body mass index, basal FSH and age on the response to gonadotrophin stimulation in non-polycystic ovarian syndrome patients. *Hum Reprod.* 2002;17(5):1207-11.

71. Testart J, Lassalle B, Frydman R, Belaisch J. A study of factors affecting the success of human fertilization in vitro. II. Influence of semen quality and oocyte maturity on fertilization and cleavage. *Biol Reprod.* 1983;28:425-31.
72. Anifandis G, Koutselini E, Stefanidis I, Liakopoulos V, Leivaditis C, Mantzavinos T, et al. Serum and follicular fluid leptin levels are correlated with human embryo quality. *Reproduction.* 2005;130:917-21.
73. Arias-Alvarez M, Garcia-Garcia RM, Torres-Rovira L, Gonzalez-Bulnes A, Rebollar PG, Lorenzo PL. Influence of leptin on in vitro maturation and steroidogenic secretion of cumulus-oocyte complexes through JAK2/STAT3 and MEK 1/2 pathways in the rabbit model. *Reproduction.* 2010;139(3):523-32.
74. Matalliotakis I, Cakmak H, Sakkas D, Mahutte N, Koumantakis G, Arici A. Impact of body mass index on IVF and ICSI outcome: a retrospective study. *Reprod Biomed Online.* 2008.
75. Mantzoros C, Cramer D, Liberman R, Barbieri R. Predictive value of serum and follicular fluid leptin concentrations during assisted reproductive cycles in normal women and in women with the polycystic ovarian syndrome. *Hum Reprod.* 2000;15(3):539-44.
76. Silva J, Figueiredo J, Van der Hurk R. Involvement of growth hormone (GH) and insulin-like growth factor (IGF) system in ovarian folliculogenesis. *Theriogenology.* 2008;71(8):1193-208.
77. Brewer CJ, Balen AH. The adverse effects of obesity on conception and implantation. *Reproduction.* 2010;140(3):347-64.
78. Li XX, Lee DS, Kim KJ, Lee JH, Kim EY, Park JY, et al. Leptin and nonessential amino acids enhance porcine preimplantation embryo development in vitro by intracytoplasmic sperm injection. *Theriogenology.* 2013;79(2):291-8.

13 Índice de figuras

Figura 1 Clasificación de embriones	22
Figura 2 Distribución de índice de masa corporal en los 94 ciclos estudiados.....	40
Figura 3 Correlación entre edad, IMC, leptina basal y recuento de folículos antrales.....	42
Figura 4 Probabilidad de causas de esterilidad asociada a la edad, excluyendo al grupo “donadoras”	43
Figura 5 Comparación entre el promedio de edad y causas de esterilidad.....	43
Figura 6 Comparación entre el promedio de edad y causas de esterilidad.....	44
Figura 7 Probabilidad de causas de esterilidad asociada al IMC, excluyendo al grupo “donadoras”	46
Figura 8 Comparación de los promedios de IMC entre las causas de esterilidad	47
Figura 9 Comparación de los promedios de recuento de folículos basales entre las causas de esterilidad	49
Figura 10 Análisis de regresión lineal simple: edad y recuento folicular basal.....	51
Figura 11 Análisis de regresión lineal simple: índice de masa corporal y recuento folicular basal.....	52
Figura 12 Asociación entre grupos categorizados de IMC y causas de esterilidad por análisis de correspondencia: A. Análisis con mujeres donadoras de ovocitos; B. Análisis sin donadoras de ovocitos	53
Figura 13 Interacciones observadas en el modelo obtenido para evaluar el efecto ajustado de HMG en el número de folículos aspirados en el análisis que incluye los casos de mujeres donadoras de ovocitos (n=92).....	58

Figura 14 Interacciones observadas en el modelo obtenido para evaluar el efecto ajustado de HMG en el número de folículos aspirados en el análisis sin mujeres donadoras de ovocitos (n=69).....	60
Figura 15 Interacciones observadas en el modelo de regresión lineal múltiple obtenido para evaluar el efecto ajustado de folículos obtenidos en estimulación ovárica controlada en la presencia de aumento de los niveles de estradiol en día 5 y al día de la punción, ajustado por las variables I.M.C., leptina basal y leptina intra-folicular (n=94)	62
Figura 16 Correlación entre folículos aspirados con niveles de leptina basal, leptina folicular, estradiol día 5 y estradiol día 7.....	63
Figura 17 Interacciones observadas entre nivel de leptina basal y folicular, y el nivel de estradiol día 7 y leptina folicular sobre la variable dependiente número de folículos aspirados.....	65
Figura 18 Correlación entre IMC y valores de leptina basal y leptina folicular	66
Figura 19 Efecto de la interacción entre las variable <i>Leptina basal</i> y <i>Leptina folicular</i> sobre el número de ovocitos fecundados y el efecto principal de estradiol disparo.....	68
Figura 20 Interacción entre IMC y valores de leptina basal sobre los niveles de leptina folicular.....	69
Figura 21 Interacciones observadas en el modelo obtenido para evaluar el efecto ajustado de HMG en el número de ovocitos obtenidos en el análisis que incluye los casos de mujeres donadoras de ovocitos (n=92)	72
Figura 22 Interacciones observadas en el modelo obtenido para evaluar el efecto ajustado de HMG en el número de ovocitos obtenidos en el análisis sin mujeres donadoras de ovocitos (n=69).....	75
Figura 23 Interacción entre las variable IMC y Leptina folicular sobre el número de ovocitos fecundados	76
Figura 24 Perfil de interacción en el modelo que representa la influencia de leptina folicular, IMC, estradiol disparado y sus interacciones sobre el número de ovocitos obtenidos	78

Figura 25 Perfil de interacción en el modelo que representa la influencia de leptina basal, folicular, IMC y sus inter-acciones sobre el número de células obtenidas en embriones del día 3.....	83
Figura 26 Interacciones observadas en el modelo obtenido para evaluar el efecto ajustado de HMG en la presencia de latido cardiaco en el análisis de regresión logística múltiple que incluye los casos de mujeres donadoras de ovocitos (n=92).....	87
Figura 27 Interacciones observadas en el modelo obtenido para evaluar el efecto ajustado de HMG en la presencia de latido cardiaco en el análisis de regresión logística múltiple que excluyendo los casos de mujeres donadoras de ovocitos (n=69)	89
Figura 28 Interacciones observadas en el modelo de regresión logística múltiple obtenido para evaluar el efecto ajustado de HMG en la presencia de latido cardiaco fetal ajustado por las variables I.M.C., folículos aspirados, número de ovocitos expandidos y donadora (n=92)	90

14 Índice de tablas

Tabla 1 Análisis de Leptina (Valores del laboratorio Biomédica de Referencia).....	32
Tabla 2 Valores de Referencia	32
Tabla 3 Medidas de tendencia central de las variables del estudio	39
Tabla 4. Frecuencias de causas de esterilidad (incluyendo al grupo “donadoras”).....	39
Tabla 5. Frecuencias de las pacientes agrupadas por índice de masa corporal.....	40
Tabla 6 Frecuencias de las pacientes por grupos de edad.....	41
Tabla 7 Comparación entre el promedio de edad y causas de esterilidad por el análisis de varianza con el procedimiento de comparación múltiple de Tukey-Kramer HSD.....	45
Tabla 8 Comparación entre el promedio de IMC y causas de esterilidad por el análisis de varianza con el procedimiento de la comparación múltiple de Tukey-Kramer HSD.....	48
Tabla 9 Comparación entre el promedio del recuento de folículos basales y causas de esterilidad por el análisis de varianza con el procedimiento de comparación múltiple de Tukey-Kramer HSD	50
Tabla 10 Comparación entre el promedio de recuento de folículos basales y causas de esterilidad por el análisis de varianza con el procedimiento de la comparación múltiple de Tukey-Kramer HSD	55
Tabla 11 Asociación por separado entre variables condicionantes de mujeres bajo estimulación con HMG y el número de folículos aspirados excluyendo las mujeres donadoras de ovocitos (n=69).....	56

Tabla 12 Los términos que constituyen el modelo de regresión lineal múltiple que evalúa el efecto ajustados de del efecto de HMG dosis total en el número de folículos aspirados con las mujeres donadoras de ovocitos (n=92).....	57
Tabla 13 Los términos que constituyen el modelo de regresión lineal múltiple que evalúa el efecto ajustados de del efecto de HMG dosis total en el número de folículos aspirados sin las mujeres donadoras de ovocitos (n=69).....	59
Tabla 14 Coeficiente de regresión del modelo donde el número de folículos aspirados es la variable dependiente y la leptina basal, Leptina folicular, Estradiol día 5 y Estradiol día 7 son las variables independientes	64
Tabla 15 Modelo de regresión lineal múltiple obtenido por el procedimiento de selección de variables <i>stepwise</i> hacia atrás, iniciando por el modelo constituido por <i>Leptina basal</i> , <i>Leptina folicular</i> , <i>Estradiol disparo</i> e interacción triple de todas las variables.....	67
Tabla 16 Coeficiente de regresión del modelo donde el nivel de leptina folicular es la variable dependiente y el IMC es independiente, siendo los valores de leptina basal covariable.	69
Tabla 17 Asociación por separado entre variables condicionantes de mujeres bajo estimulación con HMG y el número de ovocitos obtenidos incluyendo las mujeres donadoras de ovocitos (n=92).....	71
Tabla 18 Asociación por separado entre variables condicionantes de mujeres bajo estimulación con HMG y el número de ovocitos obtenidos excluyendo las mujeres donadoras de ovocitos (n=69).....	73
Tabla 19 Modelo de regresión lineal múltiple obtenido por el procedimiento de selección de variables <i>stepwise</i> hacia atrás, iniciando por el modelo completo constituido por IMC, Leptina folicular, Estradiol día 5 e interacción de todas estas variables	76
Tabla 20 Coeficientes de regresión estimado de las variables leptina folicular, IMC, E2 y sus interacciones para la variable dependiente número de ovocitos fecundados	77
Tabla 21 Matriz de correlación de Spearman entre las variables incluyendo a los grupos de factor de esterilidad y calidad ovocitaria.....	79

Tabla 22 Coeficiente de regresión estimado de las variables leptina basal, leptina folicular y sus interacciones para la variable dependiente ovocitos obtenidos.....	80
Tabla 23 Coeficiente de regresión estimado de las variables leptina basal, leptina folicular y sus interacciones para la variable dependiente ovocitos oscuros.....	80
Tabla 24 Coeficiente de regresión estimado de las variables leptina basal, leptina folicular y sus interacciones para la variable dependiente ovocitos expandidos	81
Tabla 25 Coeficiente de regresión estimado de las variables leptina basal, leptina folicular, I.M.C. y sus interacciones para la variable dependiente número de células en embriones de día 3 post-fecundación.	82
Tabla 26 Coeficiente de regresión estimado de las variables leptina basal, leptina folicular, I.M.C. y sus interacciones para la variable dependiente porcentaje de fragmentación celular embrionaria en día 3 post-fecundación.	84
Tabla 27 La asociación del porcentaje y número de ovocitos oscuros y de expandidos con la presencia de latido cardíaco fetal (n=92).....	84
Tabla 28 Asociación por separado entre variables condicionantes de mujeres bajo estimulación con HMG y presencia de latido cardíaco fetal incluyendo las mujeres donadoras de ovocitos (n=92).....	85
Tabla 29 Asociación por separado entre variables condicionantes de mujeres bajo estimulación con presencia de latido cardíaco fetal excluyendo las mujeres donadoras de ovocitos (n=69).....	86

15Glosario

ESTERILIDAD PRIMARIA: Incapacidad de lograr un embarazo espontáneamente desde el inicio de las relaciones sexuales sin que, al menos durante un año, se hayan utilizado métodos anticonceptivos.

ESTERILIDAD SECUNDARIA: Incapacidad de lograr una gestación espontánea tras la consecución previa de un embarazo a término.

INFERTILIDAD PRIMARIA: Incapacidad de lograr un feto viable con antecedentes previos de algún aborto.

INFERTILIDAD SECUNDARIA: Incapacidad de lograr un feto viable después de haber concebido previamente. 15

FERTILIZACIÓN IN VITRO: Procedimiento en cuatro fases 1) hiperestimulación ovárica controlada, recuperación de ovocitos mediante guía ultrasonográfica, fertilización con espermatozoides in vitro y recolección del embrión en el útero.

INYECCIÓN INTRACITOPLASMÁTICA DE ESPERMATOZOIDEOS: Un solo espermatozoide se inyecta directamente en el ovocito para facilitar la fertilización, por lo menos debe haber algunos espermatozoides viables en la eyaculación, en el epidídimo o en el testículo.

EXTRACCIÓN DE ESPERMATOZOIDEOS DEL TESTÍCULO: Tratamiento de la azoospermia obstructiva y no obstructiva cuando no se encuentran espermatozoides en la eyaculación o en el epidídimo; los espermatozoides se obtienen directamente del testículo mediante biopsia.

16 Lista de abreviaturas

β -hCG	Fracción beta de gonadotropina coriónica humana
CP	Corpúsculo polar
E2	Estradiol
EBSS	Earle's balanced salt solution
EOC	Estimulación ovárica controlada
FIV	Fertilización in vitro
FSH	Follicle stimulating hormone "Hormona folículo estimulante"
GNRH	Gonadotropin releasing hormone "Hormona liberadora de Gonadotropina"
hCG	Human Chorionic Gonadotropin "Gonadotropina coriónica humana"
hMG	Human Menopausal Gonadotropin "Gonadotropinas Menopáusicas Humanas"
HTF	Human tubal fluid
ICSI	Inyección intracitoplasmática de esperma
ILGF-1	Insulin like growing factor 1 "Factor de crecimiento parecido a la insulina 1"
IMC	Índice de masa corporal
IMSS	Instituto Mexicano del Seguro Social
LCF	Latido cardíaco fetal
LH	Hormona luteinizante
M1	Meiosis 1
M2	Meiosis 2
MC	Medio de cultivo
NPY	Neuropéptido Y
Ob-Rb	Receptor de leptina humana
OMS	Organización Mundial de la Salud
P1	Preimplantation stage one
PN	Pronúcleo
PROST	Fertilización in vitro con transferencia embrionaria en estado de pronúcleo en la trompa
r-FSH	Recombinant follicle stimulating hormone "Hormona folículo estimulante huma-

	na recombinante”
SOPQ	Síndrome de ovarios poliquísticos
TGF-2	Tumoral growing factor 2 “Factor de crecimiento tumoral 2”

17 Hoja de recolección de datos

INSTITUTO DE INFERTILIDAD Y GENETICA INGENES (MEXICO)

CICLOS DE ESTIMULACION OVARICA CONTROLADA

E T I Q U E T A (Nombre de la paciente)
--

EDAD: _____ años

PESO: _____ Kgs
mts.

TALLA: _____

I.M.C.: _____

CAUSA DE ESTERILIDAD: _____

AÑOS DE ESTERILIDAD: _____

FECHA DE INICIO DEL CICLO: ____/____/____

NÚMERO DE CICLO FIV/ICSI: _____

FIV:

ICSI:

PRIMER ULTRASONIDO. (Primer Día Ciclo) (Basal)

Ovario Derecho (# folículos)	
Ovario Izquierdo (# folículos)	
Total (# folículos >16 mm)	
Endometrio (mm grosor endometrial y tipo)	
FSH	
LH	
Estradiol	
Leptina Sérica	

ESQUEMA SELECCIONADO. (Fármaco y dosis)

MEDICAMENTO	DOSIS	TOTAL AMPOLLAS	TOTAL DIAS DE TX	COSTO TOTAL
Cetrorelix	0.25			
rFSH	50 u (x)			
rFHS	75 u (x)			
rFSH	100 u (x)			
rFSH	150 u (x)			
Menotropinas	75 u (x)			

ULTRASONIDO DE SEGUIMIENTO FOLICULAR. (DIA 5)

Ovario Derecho (# folículos > 16 mm)	
Ovario Izquierdo (# folículos > 16 mm)	
Total (# folículos >16 mm)	
Endometrio (mm grosor endometrial y tipo)	
Estradiol	

ULTRASONIDO DE SEGUIMIENTO FOLICULAR. (DIA 8)

Ovario Derecho (# folículos > 16 mm)	
Ovario Izquierdo (# folículos > 16 mm)	
Total (# folículos >16 mm)	
Endometrio (mm grosor endometrial y tipo)	
Estradiol	

ULTRASONIDO DE SEGUIMIENTO FOLICULAR. (Día del Disparo)

Ovario Derecho (# folículos > 16 mm)	
Ovario Izquierdo (# folículos > 16 mm)	
Total (# folículos >16 mm)	
Endometrio (mm grosor endometrial y tipo)	
Estradiol	

ULTRASONIDO DE SEGUIMIENTO FOLICULAR. (Día de la Punción)

Ovario Derecho (# folículos > 16 mm)	
Ovario Izquierdo (# folículos > 16 mm)	
Total (# folículos >16 mm)	
Endometrio (mm grosor endometrial y tipo)	
Estradiol	
Leptina intrafolicular	

DISPARO

HCG: DIA ___/___/___ HORA _____

PUNCION FOLICULAR

Número de folículos aspirados	
Leptina intrafolicular	
Número de ovocitos obtenidos	
Número de ovocitos oscuros	
Número de ovocitos expandidos	
Número de ciclos cancelados	

EMBARAZO

β -HCG (+)	
Diagnóstico por USG	
Mayor de 12 semanas	

18 Resumen de la tesis doctoral

INFLUENCIA DE LA RELACION LEPTINA/INDICE DE MASA CORPORAL EN ESTIMULACION OVARICA CONTROLADA EN REPRODUCCION ASISTIDA.

El estudio fue basado en la observación de que las mujeres que tienen sobrepeso ó lo contrario, quienes son muy bajas de peso, tienen dificultad para embarazarse. Existen evidencias que demuestran que los niveles leptina interactúan con el eje reproductivo de los animales y recientemente los nutriólogos han encontrado diferencias significativas entre los niveles de leptina de mujeres anoréxicas/bulímicas y los de las obesas; De esta manera la presente tesis pretendió demostrar que existe una relación directa entre el peso corporal de las pacientes, los niveles de leptina y el desarrollo folicular en las pacientes sometidas a estimulación ovárica controlada.

El estudio se llevó a cabo en 94 ciclos de un total de 88 pacientes sometidas a fertilización in vitro ó de ICSI, entre Marzo de 2008 y Marzo de 2012 en el Instituto de Infertilidad y Genética Ingenes (México). Las causas de esterilidad/infertilidad fueron categorizadas como factor masculino, factor tubárico, endometriosis por laparoscopia, factor endócrino-ovárico por perfiles hormonales y/o 2 de los siguientes datos: oligo/amenorrea, hirsutismo e hiperandrogenismo, ovarios poliquísticos (ultrasonografía) y por último otras causas específicas como edad avanzada y esterilidad de causa inexplicable tras realizar las pruebas diagnósticas y ser todas ellas normales. Las pacientes fueron pesadas y medidas y así se formaron 3 grupos de forma secuencial y de acuerdo al IMC cuyo valor se encontró entre 20 y 25, otro para pacientes cuyo IMC fue inferior a 20 y otro más cuyo IMC fue superior a 25.

Fueron incluidas:

- Pacientes de 21 – 40 años de edad.

- Pacientes candidatas al programa de fertilización in vitro con transferencia embrionaria con alguno de los siguientes diagnósticos.
 - Factor endócrino-ovárico. (Falla ovárica, fase lútea deficiente)
 - Factor tubárico de esterilidad.
 - Factor uterino.
 - Factor desconocido.
 - Endometriosis I y II AFS.
 - Síndrome de ovarios poliquísticos.
 - Pacientes sanas donadoras en programa de donación de ovocitos.
 - Pacientes presumiblemente sanas con factor masculino de esterilidad.

Fueron considerados criterios de exclusión:

- Pacientes en las que no se realizó captura ovular.
- Pacientes en las que se canceló el ciclo por mala respuesta.
- Pacientes con riesgo de Síndrome de Hiperestimulación Ovárica.

No se incluyeron a:

- Pacientes con factor endócrino-ovárico de esterilidad.
- Pacientes con Hipo ó Hipertiroidismo.
- Pacientes con contraindicación para el uso de gonadotrofinas.
- Pacientes que no estén dispuestas a firmar el consentimiento informado.
- Pacientes con endometriosis III y IV AFS.

Se tomaron muestras de estradiol y LH sérico en cada visita de la paciente, desde el primer día de consulta y luego durante la estimulación con menotropinas, los días 5 y 8 del ciclo de

estimulación, durante los ultrasonidos de seguimiento folicular, además del día del disparo con HCG y el día de la punción folicular, muestras que fueron enviadas al laboratorio del Instituto Ingenes. Se tomaron muestra de sangre para obtener niveles séricos de leptina basal y de líquido de aspiración folicular mediante técnica de ELISA, muestras enviadas y procesadas en el laboratorio de referencia clínica-científica Biomédica de Referencia para la cuantificación de leptina.

Se realizaron ecografías a todas las pacientes los días de estimulación 3, 5 y 8, con el fin de medir y contar los folículos presentes en ambos ovarios, así como medir el grosor endometrial, antes y después de la estimulación.

Los resultados fueron interpretados con ayuda del paquete estadístico JMP 10 (S.A.S. Institute 2012, Carolina del Norte, USA)

Conclusiones

Existe una asociación entre los niveles de leptina tanto en la producción folicular, la obtención de ovocitos y en las tasas de embarazo. Los niveles de leptina intrafolicular aumentados inciden de manera parcial tanto sobre la producción folicular como sobre la ovocitaria reduciendo el número de los mismos. En éste sentido la influencia de la leptina no pareciera ser tan importante, toda vez que el ajuste en la dosis durante la estimulación ovárica con menotropinas o con rFSH pudiera compensar éste déficit. Los niveles de leptina intrafolicular por su parte, afectaron discretamente la calidad ovocitaria.

Se observó una asociación directa entre el índice de masa corporal y los niveles de leptina séricos e intrafoliculares. Mientras mayor sea el IMC, mayor será la cantidad de leptina.

El efecto de IMC para efectos de fecundación, parece jugar un papel preponderante sobre la concentración de leptina basal o folicular, en el sentido en que mientras más bajo sea el IMC mayor cantidad de ovocitos fecundados habrán, con independencia de los niveles de leptina.

Existe una asociación entre los niveles basales de leptina en relación estrecha con los niveles de leptina en sentido negativo y presentando mayor importancia los valores de leptina folicular sobre los de leptina basal bajando así la cantidad de folículos obtenidos durante la estimulación ovárica controlada. No obstante, los niveles de estradiol obtenidos el día del

disparo con HCG presentan mayor peso sobre la cantidad de folículos que los de leptina basal o folicular. Los valores de estradiol al día 5 resultaron ser irrelevantes.

Los niveles basales de leptina han demostrado que ejercen un efecto sine qua non sobre la concentración de leptina folicular y su efecto final tanto sobre la estimulación ovárica controlada, como sobre la producción de ovocitos y la calidad de los mismos. Por su parte y a manera de hallazgo, el IMC guarda una estrecha relación mayor sobre los niveles foliculares de leptina, ocurriendo sin la misma intensidad, al menos clínicamente sobre la leptina basal.

Los niveles de leptina tanto basal, como folicular resultó significativa en términos del número de ovocitos obtenidos, especialmente la combinación leptina basal elevada en conjunto con leptina folicular elevada. No se demostró que los niveles de leptina influyeran en cuanto a la obtención de ovocitos oscuros ó expandidos.

La correlación entre la calidad embrionaria y el que la paciente presente niveles de leptina basales e intrafoliculares elevados queda parcialmente respondida en virtud de que únicamente el parámetro de conteo celular demostró presentar una afectación cuando se presentan niveles elevados en los dos tipos de leptina, lo cual suele ir directamente relacionado con un índice de masa corporal por encima de 25. La fragmentación en contraste, permanece ajena a éstos factores, quedándose como parte de algún futuro estudio que ahonde más en esto.

En términos generales, se concluyó:

La obesidad es considerada una enfermedad pandémica derivada del sedentarismo, en combinación con malos hábitos alimenticios, la anorexia y la bulimia por su parte son trastornos psicológico-alimenticios que conllevan trastornos endocrinológicos e incluso en grados mayores la muerte.

La incorporación de la mujer al mundo laboral actual, en conjunto con la dinámica social actual, ha ocasionado que muchas mujeres aplacen la edad de su primer embarazo. Actualmente se establece que a partir de los 37 años de edad disminuye de manera drástica la posibilidad de que una mujer quede embarazada de manera espontánea, sin embargo los tratamientos de reproducción asistida ofrecen una alternativa real para éste grupo de parejas.

La edad es un factor importante ya que mientras más joven es la paciente, se presume que su conteo folicular basal será mayor, demostrándose una clara correlación entre éstas dos variables.

19 Doctoral thesis summary

INFLUENCE OF THE LEPTINE / BODY MASS INDEX RELATIONSHIP IN CONTROLLED OVARIAN STIMULATION IN ASSISTED REPRODUCTION

The study was based on the observation that overweighted women or women with the opposite condition, that is those with low weight, have difficulties to get pregnant. There is evidence showing that leptin levels interact in the reproductive axis of animals; nutritionists recently have found significant differences between the levels of leptin of anorexic / bulimic women and obese women. Thus, this thesis intends to prove that there is a direct relationship between corporal overweight of patients and the levels of leptin in follicular development in patients subject to controlled ovarian stimulation.

The study was performed in 94 cycles out of 88 patients subject to in vitro fertilization or ICSI, between March, 2008 and March, 2013 at the Instituto Ingenu de Infertilidad y Genética (México). The causes of sterility / infertility were categorized as male factor, tubal factor, endometriosis, ovarian - endocrine factor, by hormonal profiles and 1 / or 2 of the following conditions: oligo/amenorrhea, hirsutism, and hyperandrogenism, polycystic ovaries (ultrasonography) and lastly, other specific causes such as advanced age and unexplained sterility after performing diagnose tests with normal results. After having measured and weighed patients, they arranged in 3 groups according to their body mass index (BMI); those which value scored between 20 and 25, another for patients which BMI score was lower than 20 and the third one for those with a BMI score higher than 25.

The following were included:

- Patients of 21 to 40 years of age.
- Patients candidates to the in vitro fertilization program with embryo transfer with any of the following diagnoses:

- Ovarian endocrine factor. (Ovarian failure, deficient luteal phase)
- Tubal factor.
- Uterine factor.
- Unknown factor.
- Endometriosis I and II AFS.
- Polycystic Ovary Syndrome.
- Healthy donor patients in the oocytes donation program.
- Allegedly healthy patients with male sterility factor.

The following were considered exclusion criteria:

- Patients to whom ovular capturing was not performed.
- Patients to whom the cycle was canceled due to bad response.
- Patients with Ovarian Hyperstimulation Syndrome.

The following were not included:

- Patients with ovarian-endocrine sterility factor.
- Patients with Hypo or Hyper thyroidism.
- Patients to whom the use of gonadotropins is counterindicated.
- Patients not willing to sign the informed consent.
- Patients with endometriosis III and IV AFS.

Estradiol and serum LH samples were taken at each visit of the patient as of the first day of consultation and then during the stimulation with menotropins on the 5th and 8th days of the stimulation cycle, during the follicular follow-up ultrasounds, and also on the HCG triggering shot day and on the follicular aspiration day, the samples were sent to the Image

Institute laboratory. A blood sample was taken to obtain the serum levels of basal leptin and of follicular aspiration liquid through the ELISA technique; the samples were sent out and processed at the Biomedical Reference clinical-scientific reference laboratory to count leptin.

Ultrasounds were performed to all the patients on stimulation days 3, 5 and 8 in order to measure and count the follicles present in both ovaries, as well as to measure the endometrial thickness before and after stimulation.

The results were interpreted using the statistics software JMP 10 (S.A.S. Institute 2012, North Carolina, USA)

Conclusions

There is an association between the levels of leptin in the follicular production, the obtaining of oocytes and in the pregnancy rates. The increased levels of intrafollicular leptin have a partial effect on the follicular and ovocyte production reducing their number. To this regard, the influence of leptin seems not to be so important since the adjustment of the dosage during ovarian stimulation with menotropins or with rFSH may compensate such deficit. On the other hand, the levels of intrafollicular leptin discreetly affected the oocyte quality.

A direct relationship was observed between BMI and both serum and intrafollicular levels. The higher the BMI the higher will be the amount of leptin.

The effect of the BMI for fecundation purposes seems to play a major role on the concentration of basal or follicular leptin, since the lower the BMI is, the more fecundated oocytes will be, regardless of the levels of leptin.

There is an association between the levels of leptin with a close relationship with the levels of leptin in a negative direction while the values of follicular leptin show more importance than the basal leptin values lowering in this way the amount of follicles obtained during the controlled ovarian stimulation. However, the levels of estradiol obtained on the HCG triggering day show a higher weight on the amount of follicles than those of basal of follicular leptin. The values of estradiol on the 5th day were irrelevant.

It has been demonstrated that the basal levels of leptin have a definitive effect on the concentration of follicular leptin and that they have a final effect on the controlled ovarian stimulation and the production of oocytes and in their quality. On the other hand, and as a finding, the BMI has a close relationship with the follicular levels of leptin, which take place without the same intensity, at least clinically-speaking on the basal leptin.

The basal and follicular levels of leptin were significant on the number of oocytes, especially as for the combination of high basal leptin with high follicular leptin. It was not demonstrated that the levels of leptin had any influence on obtaining dark or expanded oocytes.

The correlation between the embryonic quality and that a patient presented high basal and intrafollicular levels is partially responded since it was only demonstrated that the cellular count parameter was affected when high levels are present in the two types of leptin, which is usually directly related to a corporal mass index above 25. On the other hand, fragmentation is unrelated to these factors which may be addressed in some future study that goes deeper on this matter.

In general, the following was concluded:

Obesity is considered a pandemic disease resulted from a sedentary lifestyle, in combination with bad feeding habits, while anorexia and bulimia are psychological eating disorders that result in endocrinological disorders and even in serious cases, in death.

Women's role in the modern world, along with the current social environment has caused that many women postpone the age for their first pregnancy. At this time, it is established that as of the age of 37, the possibility that women get spontaneously pregnant decreases dramatically, however, the assisted reproduction treatments offer a real alternative for this group of couples.

Age is a major factor since the younger the patient is; it is alleged that her basal follicular count will be higher, and thus, a clear correlation between these two variables is demonstrated.