



UNIVERSITAT DE
BARCELONA

Valoración de la reserva ovárica. Estudio de parámetros hormonales y ecográficos

Sara Peralta Flores

ADVERTIMENT. La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX (www.tdx.cat) i a través del Dipòsit Digital de la UB (diposit.ub.edu) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX ni al Dipòsit Digital de la UB. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX o al Dipòsit Digital de la UB (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

ADVERTENCIA. La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR (www.tdx.cat) y a través del Repositorio Digital de la UB (diposit.ub.edu) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR o al Repositorio Digital de la UB. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR o al Repositorio Digital de la UB (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

WARNING. On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX (www.tdx.cat) service and by the UB Digital Repository (diposit.ub.edu) has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized nor its spreading and availability from a site foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository is not authorized (framing). Those rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.



UNIVERSITAT DE
BARCELONA



Clínic
Barcelona



UNIVERSITAT DE
BARCELONA

Valoración de la reserva ovárica. Estudio de parámetros hormonales y ecográficos.

“Memoria de tesis doctoral presentada por Sara Peralta Flores para optar al grado de doctor por la Universidad de Barcelona”

Dirigida por Francisco José Fàbregues Gasol. Consultor Senior
Unidad de Reproducción Asistida Hospital Clínic. Profesor titular de la
Universidad de Barcelona.

Programa de Doctorado Medicina e Investigación Traslacional.

Facultad de Medicina y Ciencias de la Salud.

Universidad de Barcelona.

Septiembre 2024

Agradecimientos

A todas las personas, compañeros y amigos que me han acompañado desde que en el año 2003 inicié mi camino como médico en el Hospital Clinic.

Muchos aprendizajes, algunas enseñanzas y miles de momentos compartidos, que me han ido construyendo como profesional y como persona.

Quiero expresar mi gratitud a aquellos que han estado desde el principio, a quienes me acompañaron durante una parte del trayecto y a los que se han sumado en los últimos tiempos. Todos, sin excepción, han dejado una huella imborrable en mí.

Gracias por el camino compartido, por el cariño, por las risas, por todos los momentos buenos. Es cierto que también ha habido épocas difíciles, pero el desánimo, la frustración y el dolor son fuente de nuevas oportunidades, motivaciones y retos.

Gracias a las que compartís mi día a día, que habría sido de mí sin vosotras. US TROBARÉ A FALTAR ;

Un agradecimiento especial a mi familia, que ha estado a mi lado en todo momento, brindándome su paciencia, apoyo y motivación a partes iguales.

La aventura continúa...

TABLA DE CONTENIDO

ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS	1
FINANCIACIÓN	1
ENUMERACIÓN DE LOS ARTÍCULOS DE LA TESIS	1
ESTUDIO 1: ARTÍCULO PUBLICADO	1
<i>Autores:</i>	1
<i>Título:</i>	1
<i>Nombre de la revista:</i>	1
ESTUDIO 2: ARTÍCULO PENDIENTE DE PUBLICACIÓN	1
<i>Autores:</i>	1
<i>Título:</i>	1
INTRODUCCIÓN	3
FISIOLOGÍA DE LA GAMETOGÉNESIS FEMENINA	4
<i>Establecimiento de reserva ovárica inicial: formación folículos primordiales en vida fetal.</i>	4
<i>Agotamiento de reserva ovárica</i>	4
<i>Desarrollo folicular gonadotropina independiente</i>	5
BASES FISIOLÓGICAS DE LA HIPERESTIMULACIÓN OVÁRICA CONTROLADA EN FIV/ICSI.	8
<i>Protocolos de frenación hipofisaria: protocolo largo aGnRH vs Antagonistas</i>	8
CAMBIO EN LOS PATRONES DE FERTILIDAD: RETRASO DE LA MATERNIDAD.	10
ESTERILIDAD E INCREMENTO DE LA REPRODUCCIÓN ASISTIDA.	12
EDAD OVÁRICA Y ANEUPLOIDÍA.....	13
FERTILITY AWARENESS: IMPORTANCIA INFORMACIÓN SOBRE FERTILIDAD	14
RESERVA OVÁRICA	15
<i>Marcadores de reserva ovárica</i>	16
<i>Marcadores clínicos de reserva ovárica</i>	19
<i>Marcadores hormonales de reserva ovárica</i>	20
<i>Marcadores ecográficos de reserva ovárica</i>	25
RESUMEN DE LA EVIDENCIA EN MARCADORES DE RESERVA OVÁRICA	29
HIPÓTESIS	31
OBJETIVOS	33
MATERIAL Y MÉTODOS	35
ESTUDIO 1: ARTÍCULO PUBLICADO	35
<i>Diseño del estudio</i>	35
<i>Población del estudio</i>	35
<i>Protocolo de estimulación ovárica.</i>	36
<i>Medición del recuento de folículos antrales tras la supresión hipofisaria</i>	37
<i>Medidas de resultados.</i>	37
<i>Respuesta ovárica</i>	37
<i>Probabilidad acumulada de recién nacido vivo</i>	37
<i>Análisis estadísticos</i>	38
<i>Aprobación ética y consentimiento para participar</i>	39
ESTUDIO 2: ARTÍCULO PENDIENTE DE PUBLICACIÓN.	39
<i>Diseño del estudio</i>	39
<i>Población a estudio</i>	39

<i>Análisis hormonales, ultrasonografía y duración del ciclo menstrual</i>	40
<i>Protocolo de estimulación ovárica</i>	40
<i>Medidas de resultado</i>	41
<i>Análisis estadísticos</i>	41
<i>Aprobación ética y consentimiento para participar</i>	42
RESULTADOS	43
ESTUDIO 1: ARTÍCULO PUBLICADO	43
<i>Respuesta ovárica (objetivo 1)</i>	43
<i>Probabilidad acumulada de recién nacido vivo (objetivo 2)</i>	45
ESTUDIO 2: ARTÍCULO PENDIENTE DE PUBLICACIÓN	49
<i>Respuesta ovárica (objetivos 3 y 4)</i>	49
<i>Probabilidad acumulada de recién nacido vivo (objetivos 5 y 6)</i>	52
DISCUSIÓN	55
MARCADORES DE RESERVA OVÁRICA COMO PREDICTORES DE RESPUESTA.....	55
MARCADORES DE RESERVA OVÁRICA COMO PREDICTORES DE RECIÉN NACIDO VIVO POR CICLO.....	60
IMPLICACIONES FUTURAS DE NUESTROS RESULTADOS	64
CONCLUSIONES	69
BIBLIOGRAFÍA	71
ANEXOS	80

ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS

FIGURAS	
FIGURA 1. FASES DEL DESARROLLO FOLICULAR.....	5
FIGURA 2. REPRESENTACIÓN CICLO MENSTRUAL: OVARIO, HORMONAS HIPOFISARIAS, HORMONAS OVÁRICAS.	6
FIGURA 3. DIAGRAMA FLUJO PAUTAS ESTIMULACIÓN OVÁRICA GUÍA ESHRE	9
FIGURA 4. TASA DE FERTILIDAD MUNDIAL POR REGIONES	10
FIGURA 5. EDAD MEDIA NACIMIENTO PRIMER HIJO.....	11
FIGURA 6. TASA NATALIDAD SIN MÉTODOS ANTICONCEPTIVOS.....	11
FIGURA 7. PREVALENCIA GLOBAL DE ESTERILIDAD	12
FIGURA 8. EVOLUCIÓN TÉCNICAS REPRODUCCIÓN ASISTIDA EN EUROPA	13
FIGURA 9. PORCENTAJE BLASTOCISTOS ANEUPLOIDES EN FUNCIÓN DE LA EDAD	14
FIGURA 10. EVOLUCIÓN NÚMERO Y CALIDAD FOLÍCULOS EN FUNCIÓN DE LA EDAD.....	15
FIGURA 11. VARIABILIDAD EDAD APARICIÓN DIFERENTES HITOS REPRODUCTIVOS.....	16
FIGURA 12. MARCADORES POTENCIALES DE RESERVA OVÁRICA.....	18
FIGURA 13. FISIOLÓGÍA PRODUCCIÓN DE FSH	21
FIGURA 14. PRECISIÓN DE LA AMH EN LA PREDICCIÓN DE RESPUESTA OVÁRICA A LA ESTIMULACIÓN	25
FIGURA 15. PRECISIÓN DEL RECUENTO FOLÍCULOS ANTRALES EN LA PREDICCIÓN DE RESPUESTA A LA ESTIMULACIÓN	28
FIGURA 16. ESTUDIO 1: DIAGRAMA DE FLUJO DE PACIENTES INCLUIDAS.....	36
FIGURA 17. ESTUDIO 1: CURVAS ROC PARA LA PREDICCIÓN DE RESPUESTA DEL RECUENTO ANTRALES MEDIDO TRAS FRENACIÓN HIPOFISARIA	44
FIGURA 18. ESTUDIO 1: CURVAS ROC DE LOS MARCADORES DE RESERVA OVÁRICA EN LA PREDICCIÓN DE RESPUESTA A LA ESTIMULACIÓN.....	45
FIGURA 19. ESTUDIO 1: DIAGRAMA FLUJO PACIENTES INCLUIDAS EN ANÁLISIS DE PROBABILIDAD ACUMULADA DE RECIÉN NACIDO VIVO	46
FIGURA 20. ESTUDIO 1: CURVA ROC PARA LA PREDICCIÓN DE RECIÉN NACIDO VIVO POR CICLO DEL RECUENTO DE FOLÍCULOS ANTRALES MEDIDO TRAS FRENACIÓN HIPOFISARIA.	47
FIGURA 21. ESTUDIO 2: DÍA DEL CICLO DE MEDICIÓN DE RECUENTO DE FOLÍCULOS ANTRALES	49
FIGURA 22. ESTUDIO 2: DIAGRAMA DE FLUJO DEL RECUENTO DE FOLÍCULOS ANTRALES MEDIDO EN CUALQUIER MOMENTO DEL CICLO Y DE LA LONGITUD DEL CICLO MENSTRUAL EN RELACION A NÚMERO DE OVOCITOS OBTENIDOS	51
FIGURA 23. ESTUDIO 2: CURVAS ROC DE LOS MARCADORES DE RESERVA OVÁRICA EN LA PREDICCIÓN DE RESPUESTA A LA ESTIMULACIÓN.....	51
FIGURA 24. ESTUDIO 2: CURVAS ROC DE LOS MARCADORES DE RESERVA OVÁRICA EN LA PREDICCIÓN DE RECIÉN NACIDO VIVO ACUMULADA POR CICLO	52
TABLAS.....	
TABLA I. ESTUDIO 1: CARACTERÍSTICAS PACIENTES Y RESULTADOS CICLO EN FUNCIÓN RESPUESTA	43
TABLA II. ESTUDIO 1: CARACTERÍSTICAS PACIENTES Y RESULTADOS CICLO EN FUNCIÓN RECIÉN NACIDO VIVO POR CICLO	47
TABLA III. ESTUDIO 1: RESULTADO DEL CICLO EN FUNCIÓN DEL CUARTIL DE RECUENTO DE FOLÍCULOS ANTRALES MEDIDO TRAS FRENACIÓN HIPOFISARIA	45
TABLA IV. ESTUDIO 1: REGRESIÓN LOGÍSTICA PARA CUARTILES DE RECUENTO DE FOLÍCULOS ANTRALES MEDIDO TRAS FRENACIÓN HIPOFISARIA Y PROBABILIDAD ACUMULADA DE RECIÉN NACIDO VIVO	48
TABLA V: ESTUDI 2: CARACTERÍSTICAS PACIENTES Y RESULTADOS DEL CICLO EN FUNCIÓN RESPUESTA	50
TABLA VI: ESTUDI 2: REGRESIÓN LOGÍSTICA DIFERENTES MARCADORES DE RESERVA OVÁRICA Y RESPUESTA OVÁRICA /RECIÉN NACIDO VIVO POR CICLO	53

ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

FP: Folículos primordiales

AFP: activación de los folículos primordiales

FSH: Hormona folículo estimulante

LH: Hormona luteinizante

COC: complejo cumulo-ovocito

HCGr: Gonadotropina coriónica humana recombinante

GnRH: Hormona liberadora de gonadotropinas

aGnRH: análogos de la hormona liberadora de gonadotropinas

ESHRE: European Society of Human reproduction and Endocrinology. Sociedad europea de fertilidad

FIV/ICSI: fecundación in vitro/inyección intracitoplasmática de espermatozoides

SHO: Síndrome de Hiperestimulación Ovárica

OMS: Organización Mundial de la Salud

TRA: técnicas de reproducción asistida

RNV: recién nacido vivo

CLBR: Cumulative Live Birth Rate; tasa acumulada de nacidos vivos por ciclo

POSEIDON: Patient-Oriented Strategies Encompassing Individualized Oocyte Number. Clasificación de pacientes que se someten a FIV

AMH: Antimüllerian hormone; hormona antimülleriana

AFC: Antral follicle count; recuento de folículos antrales

AFCaps: Antral follicle count measured after pituitary suppression; recuento folículos antrales medido tras frenación hipofisaria

rAFC: random antral follicle count; recuento folículos antrales medido en cualquier momento del ciclo

LCM: longitud del ciclo menstrual

ELISA: ensayos inmunoabsorbentes ligados a enzimas

IMC: Índice de masa corporal

ET: embryo transfer; transferencia embrionaria en fresco

FET: frozen embryo transfer; transferencia de embriones criopreservados.

AUC_{ROC}: Area Under the Curve - Receiver Operating Characteristic. Área bajo la curva-ROC

OR: odds ratio; razon de probabilidades

β-HCG: subunidad beta de la gonadotropina coriónica humana; hormona de embarazo

UI: unidades internacionales IC: intervalo de confianza

FINANCIACIÓN

El proyecto no ha recibido ningún tipo de financiación

ENUMERACIÓN DE LOS ARTÍCULOS DE LA TESIS

Tesis en formato clásico con un artículo anexo, que está compuesta por dos estudios originales desarrollados en la Unidad de Reproducción Asistida del Hospital Clinic de Barcelona

La tesis consta de 6 objetivos y dos estudios. El primero publicado como artículo. El segundo en el momento de depósito de la tesis no está publicado.

ESTUDIO 1: ARTÍCULO PUBLICADO

AUTORES: Sara Peralta, Roser Solernou, Yasmina Barral, Júlia Roca, Francesc Fabregues, Dolors Manau & Francisco Carmona

TÍTULO: Antral follicle count measured at down-regulation as predictor of ovarian response and cumulative live birth: single center analysis including 2731 long agonist IVF cycles.

NOMBRE DE LA REVISTA: Gynecological Endocrinology

AÑO, VOLUMEN Y PÁGINAS: 2022, 38:12, 1079-1086.

SCIMAGO JOURNAL RANK 2022. Subject: Obstetrics & Gynecology. IF 2.0, Cuartil: Q2

ESTUDIO 2: ARTÍCULO PENDIENTE DE PUBLICACIÓN

AUTORES: Sara Peralta, Francesc Fabregues, Yasmina Barral, Marta Mendez, Anna Goday, Aina Borrás & Dolors Manau.

TÍTULO: Antral follicle count measured any day of the cycle and menstrual cycle length as reliable markers of ovarian reserve.

En el momento de depositar la presente tesis, se encuentra en "peer-review" en una revista indexada, que, en caso de ser aceptado para publicación, cumple los criterios establecidos por el Programa de doctorado Medicina e Investigación Traslacional para una tesis por compendio de publicaciones.

INTRODUCCIÓN

La cantidad y calidad de los óvulos presentes en los ovarios de una mujer en un momento dado se define como reserva ovárica. Es un concepto fundamental en el ámbito de la fertilidad, ya que determina la capacidad reproductiva de la mujer y su potencial para concebir.

Los biomarcadores en medicina se han utilizado con diversos fines: *cribado* de determinadas condiciones o patologías; *diagnóstico, estadificación y monitorización* de enfermedades; información sobre el *pronóstico*; *individualización de tratamientos* o *predicción de la respuesta* a los mismos; y *predicción de efectos adversos* a los tratamientos. Un buen marcador además de ser válido (buen predictor de un resultado clínicamente relevante), debería ser reproducible (estar sujeto escasa o nula variabilidad), práctico (no invasivo, barato y fácil de realizar) y tener resultados rápidamente disponibles. Un biomarcador ideal podría permitir al paciente su propia auto monitorización [1]

Los marcadores de reserva ovárica son parámetros clínicos, hormonales y ecográficos utilizados para evaluar la reserva ovárica. El primer paso para identificar marcadores adecuados es comprender la fisiología de la gametogénesis femenina y los factores relacionados con el establecimiento y la pérdida de la reserva ovárica.

La reserva ovárica se establece en vida fetal, alcanzando el pico máximo en la semana 20 de gestación. Ya en vida fetal se inicia la pérdida de reserva que continúa de forma incesante hasta la menopausia.

Es bien sabido que el potencial reproductivo de una mujer está determinado fundamentalmente por edad. Los cambios en los patrones de fertilidad acontecidos en las últimas décadas han condicionado un retraso en la maternidad, que ha supuesto un incremento en las tasas de esterilidad y la necesidad de recurrir a técnicas de

INTRODUCCIÓN

reproducción asistida, cuya eficacia y pronóstico también están determinados por la reserva ovárica.

FISIOLOGÍA DE LA GAMETOGÉNESIS FEMENINA

ESTABLECIMIENTO DE RESERVA OVÁRICA INICIAL: FORMACIÓN FOLÍCULOS PRIMORDIALES EN VIDA FETAL.

Durante el desarrollo embrionario, las células germinales migran a las crestas genitales, diferenciándose a ovogonias alrededor de la semana 6 de gestación. En la gónada femenina proliferan mediante mitosis durante un corto periodo de tiempo, formando nidos de ovogonias rodeados por células somáticas. A partir de la semana 11 de gestación, inician la meiosis (proceso de división para generar el ovocito haploide) que queda detenida en profase I, alcanzando así un pico de 6-7 millones de ovocitos inmaduros en la semana 19-20 de gestación. Una pequeña parte de estos ovocitos logra rodearse por células somáticas (precursores de células de la granulosa) y una fina lámina basal constituyendo los folículos primordiales (FP).

La mayor parte de ovocitos degenera durante este proceso de desarrollo, de forma que el ovario humano contiene entre 500.000 y 1.000.000 de FP en el momento del nacimiento. Diversos y complejos mecanismos regulan por tanto el tamaño del “pool” de folículos primordiales, que deben permanecer quiescentes hasta su activación a partir de la menarquía y hasta la menopausia. Esta larga quiescencia representa una estrategia evolutiva de elevado riesgo, ya que se precisan mecanismos que aseguren la viabilidad de esos ovocitos (cromosómica y funcional) durante un largo periodo de tiempo.

AGOTAMIENTO DE RESERVA OVÁRICA

Los folículos se desarrollan desde folículo primordial hasta la fase antral temprana de forma independiente al estímulo gonadotrófico. Este reclutamiento se inicia en vida fetal y continúa de forma incesante hasta la depleción de los FP, alrededor de los 50 años. En ausencia de estímulo gonadotrófico, estos folículos preantrales acaban regresando y atresándose.

El desarrollo desde folículo antral hasta folículo preovulatorio y ovulación de ovocito maduro es dependiente del estímulo de gonadotropinas, iniciándose por tanto tras la activación del eje Hipotálamo-hipófisis-ovario en la menarquia[2]. Esta fase es también la que podemos manipular mediante gonadotropinas y análogos de la GnRH administradas exógenamente, cuando realizamos una hiperestimulación ovárica controlada en un ciclo de Fecundación In Vitro.

DESARROLLO FOLICULAR GONADOPROPINA INDEPENDIENTE

La activación de los folículos primordiales (AFP) a folículos en crecimiento es independiente del estímulo hormonal. El balance entre la quiescencia y activación esta mediado por señales paracrinas intrafoliculares y a través del microambiente local, implicando diferentes procesos moleculares, celulares y bioquímicos.

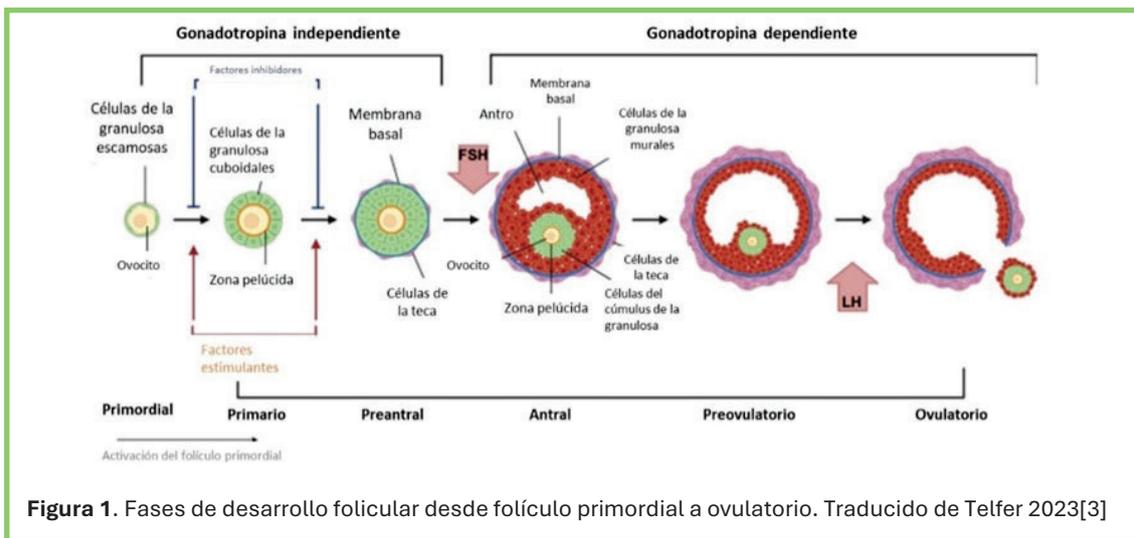


Figura 1. Fases de desarrollo folicular desde folículo primordial a ovulatorio. Traducido de Telfer 2023[3]

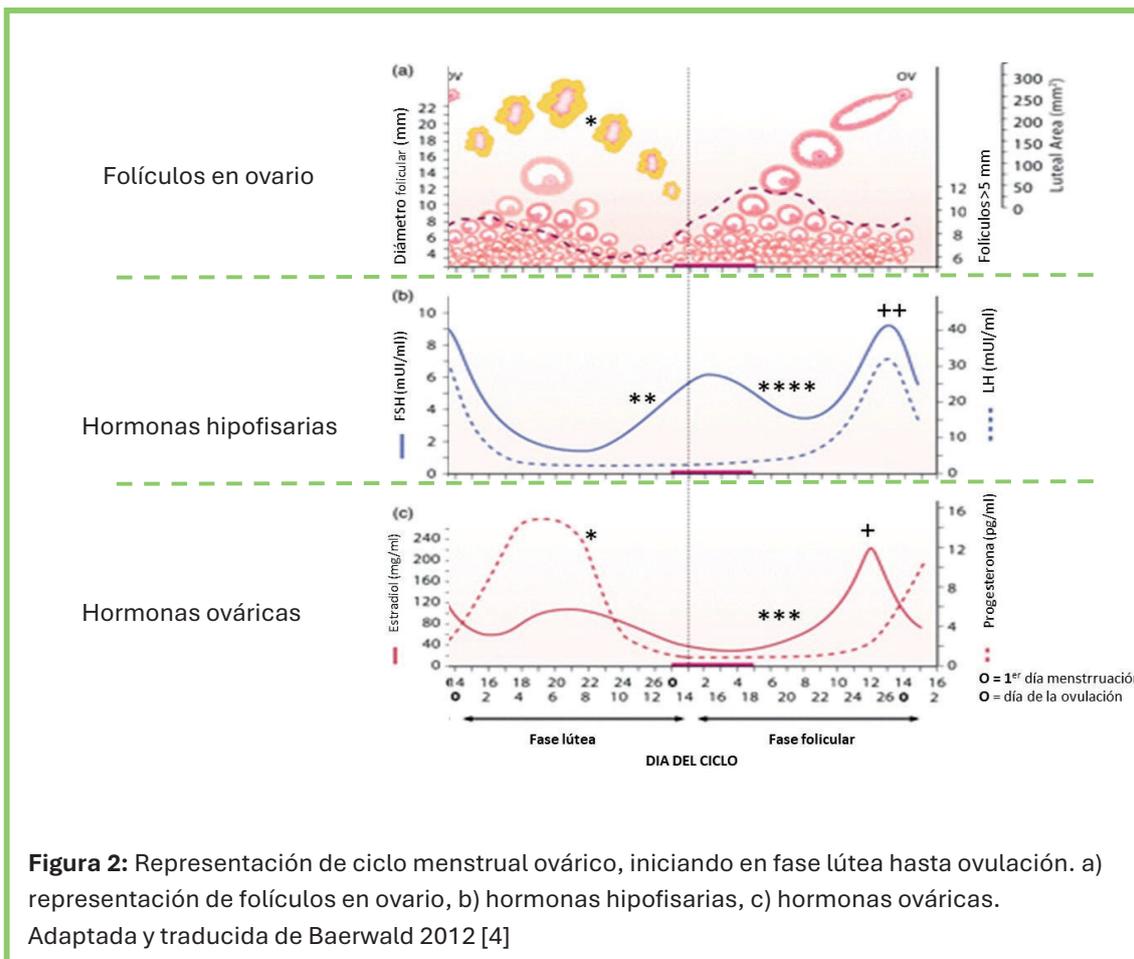
Tras la AFP, las células de la granulosa se diferencian y proliferan, formando una capa de células cuboidales que rodean el ovocito, formando así el folículo primario. En las siguientes fases del desarrollo folicular (folículo secundario/preantral, antral preovulatorio y ovulatorio), se producen cambios tanto en el ovocito como en las capas celulares que lo envuelven. El ovocito aumenta de tamaño y se desarrolla para poder reiniciar la meiosis, y se capacita para la fecundación y para aportar todo lo necesario en las primeras fases del desarrollo embrionario. Se constituye la zona pelúcida y las células de la granulosa aumentan de tamaño y proliferan formando capas.

INTRODUCCIÓN

El folículo secundario/preantral está formado por 6-7 capas de células de la granulosa y empieza a expresar receptores de FSH. Cuando alcanza 0.2-0.4 mm de diámetro, se forma una cavidad llena de líquido (antro) constituyendo el folículo antral pequeño, ya sensible a gonadotropinas y visible por ecografía transvaginal[3].

EL CICLO OVÁRICO: DESARROLLO FOLICULAR GONADOTROPIN DEPENDIENTE.

En la pubertad, la maduración del eje hipotálamo-hipófisis-ovario conduce a la liberación pulsátil de FSH y LH, que dirige el desarrollo folicular cíclico “gonadotropina dependiente”. La ovulación de un ovocito maduro a partir de un pool de folículos antrales, está orquestado endocrinológicamente por las hormonas hipofisarias (FSH y LH) y los cambios en su pulsatilidad por la retroalimentación negativa/positiva de las hormonas ováricas (estrógenos y progesterona).



En la fase lútea media, si no hay gestación, la caída de progesterona (y estrógenos) provocada por la regresión del cuerpo lúteo (*), conduce al incremento de la pulsatilidad (en frecuencia y amplitud) de producción de FSH por la hipófisis (**). Este incremento de FSH induce el desarrollo y crecimiento de la cohorte de folículos antrales presentes en el ovario en ese momento. Las células de la granulosa de esos folículos producen estrógenos (***) que ejercen un feedback negativo a nivel hipofisario, reduciendo su producción de FSH (****). Esa caída en los niveles de FSH es la responsable de la selección del folículo dominante, de forma que solo aquel folículo con una mayor sensibilidad y mayor número de receptores para la FSH podrá continuar con su desarrollo, mientras el resto de los folículos de la cohorte se atresia, en paralelo al incremento de los niveles de estradiol producidos por el folículo dominante, en el que las células de la granulosa han proliferado enormemente. El mantenimiento de los niveles de estradiol elevados durante más 4-5 horas (+) conduce a un pico de FSH y LH (++) . El pico de LH desencadena una serie de efectos en el folículo preovulatorio que conducen a la reanudación de la meiosis, expansión y dispersión de las células del cumulus (que dejan el complejo cumulo-ovocito (COC) en líquido folicular durante 3-4h, accesible a su obtención mediante punción y aspiración del líquido folicular) y rotura folicular. Una vez que el COC se libera a la trompa de Falopio, las células de la granulosa y teca se luteinizan, dando lugar al cuerpo lúteo.

El desarrollo de folículos hasta la fase antral se produce en oleadas (cohortes de folículos), de forma que en la mayoría de las mujeres se producen 2-3 oleadas de folículos antrales en un solo ciclo menstrual[4]

El número de folículos antrales que conforman estas oleadas es muy variable entre mujeres y entre diferentes grupos de edad. Por regla general, el número de folículos antrales que pueden ser estimulados con FSH en un determinado momento, se reduce de forma gradual a medida que la edad aumenta, como expresión a la reducción del pool de FP.

INTRODUCCIÓN

BASES FISIOLÓGICAS DE LA HIPERESTIMULACIÓN OVÁRICA CONTROLADA EN FIV/ICSI.

Estos cambios en el patrón de producción de hormonas hipofisarias en fase folicular y lútea del ciclo menstrual sientan las bases de la estimulación ovárica convencional.

La estimulación con gonadotropinas a dosis altas permite que la mayor parte de los folículos de la “ola folicular” puedan desarrollarse, al eliminar el efecto atrésico producido por el descenso de FSH secundario al aumento de los niveles de estradiol (**** Fig 2).

Del mismo modo, fundamentan la necesidad de administrar una frenación hipofisaria para evitar la luteinización prematura, que se desencadenaría de forma fisiológica ante el aumento de los niveles de estradiol producido por el desarrollo folicular múltiple.

También explican la necesidad de utilizar un trigger (con gonadotropina coriónica humana recombinante [hCGr], o bien generando un pico endógeno de LH inducido por un agonista de hormona liberadora de gonadotropina [aGnRH]) para la recuperación de ovocitos maduros en la punción ovárica.

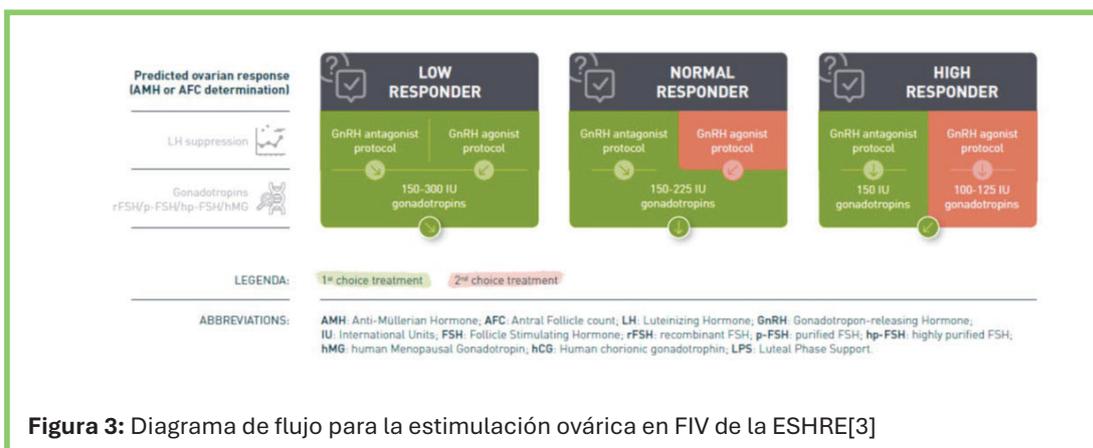
PROTOCOLOS DE FRENACIÓN HIPOFISARIA: PROTOCOLO LARGO AGNRH VS ANTAGONISTAS

Si bien la cada vez más extendida estrategia de “freeze all” (vitrificación electiva de todos los embriones) ha permitido la aparición de nuevos protocolos de estimulación (estimulación en fase lútea, duo-stim, frenación con progesterona). Los protocolos clásicamente utilizados (permiten realizar la transferencia embrionaria en fresco) para frenar la hipófisis y evitar la ovulación prematura, son el protocolo largo de agonistas de la GnRH y el protocolo corto con antagonistas

Las diferencias entre las dos pautas se justifican por el diferente mecanismo de acción de ambos análogos de la GnRH: los agonistas de la GnRH al unirse a sus receptores en la hipófisis producen una liberación de FSH/LH conocida como “flare up”, para posteriormente frenar su producción. Sin embargo, los antagonistas producen una frenación directa y rápida.

Es por ello por lo que, en el protocolo largo de agonistas, el inicio de la estimulación se realiza tras comprobar la desensibilización hipofisaria (iniciada en fase lútea media y de 12-14 días de duración). Esta frenación, basándonos en la fisiología explicada en el punto anterior (** en Figura 2), podría justificar una mayor sincronía en la respuesta folicular y la recuperación de más ovocitos maduros, al frenar la elevación de FSH interciclo que se inicia tras la caída de progesterona al no producirse implantación en la fase lútea media.

La guía de la sociedad europea de fertilidad (ESHRE) de estimulación ovárica para la fecundación in vitro/inyección intracitoplasmática de espermatozoides (FIV/ICSI) recomienda el protocolo de antagonistas de GnRH como primera línea de tratamiento en pacientes con previsión de alta respuesta y respuesta normal, dado su perfil más seguro al reducir el riesgo de Síndrome de Hiperestimulación Ovárica (SHO), al permitir el trigger con agonista y freeze all en caso de hiperrespuesta [5]. Dejando ambos protocolos como primera línea en pacientes con baja reserva ovárica.



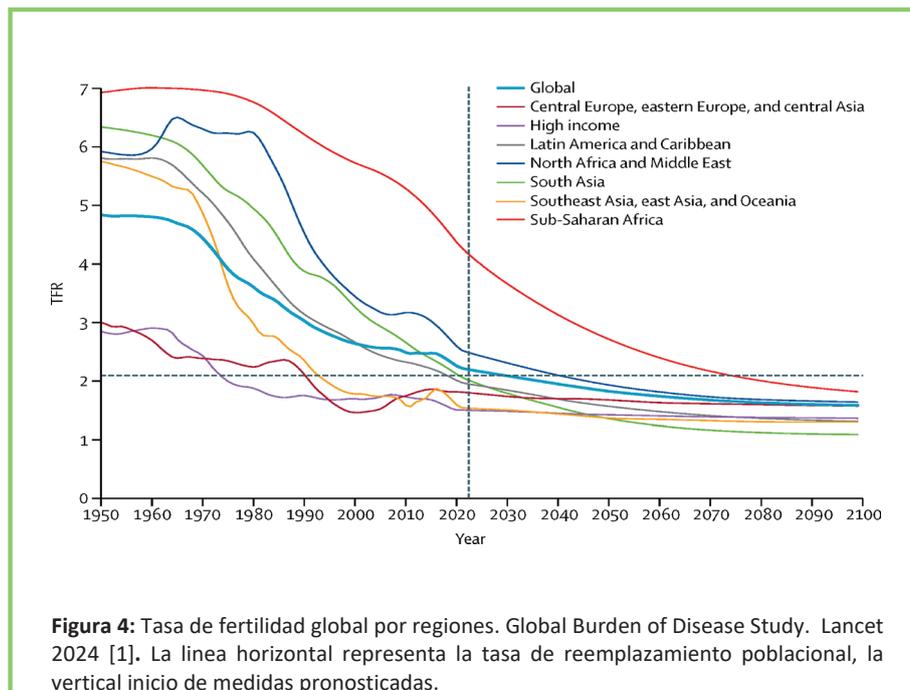
Sin embargo, desde el punto de vista de la eficacia, el debate sigue abierto: el metaanálisis de Lambalk concluyó que, en población general de FIV/ICSI, el tratamiento con antagonistas conseguía un embarazo evolutivo menos por cada 28 mujeres tratadas [6]. El mismo año, un ensayo controlado aleatorio en población no seleccionada concluyó que se recuperaban significativamente más ovocitos en el protocolo largo con agonistas, y que algunos subgrupos de pacientes podrían seguir beneficiándose de este protocolo [7]. Además, el protocolo largo ofrece una planificación logística más sencilla.

INTRODUCCIÓN

Todos estos argumentos justifican que el protocolo largo con agonistas de GnRH aún se utilice en pacientes con baja reserva ovárica y en algunos casos de pacientes con reserva ovárica normal, en las que, de entrada, se plantea transferir en fresco.

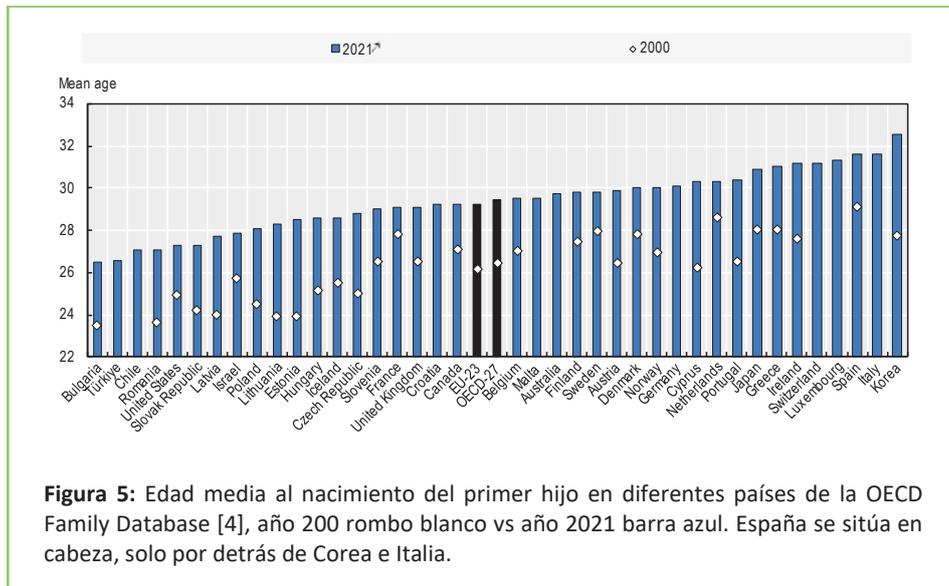
CAMBIO EN LOS PATRONES DE FERTILIDAD: RETRASO DE LA MATERNIDAD.

La tasa de fertilidad global, definida como el número de hijos por mujer en edad reproductiva (15-49 años) se ha reducido de forma drástica en las últimas décadas. Entre 1950 y 2021, el número medio de hijos/mujer se ha reducido a menos de la mitad. Se estima que en el 2100 el 93% de los países desarrollados tendrán una tasa de fertilidad inferior a 2,1, por debajo del nivel de reemplazo poblacional [8].

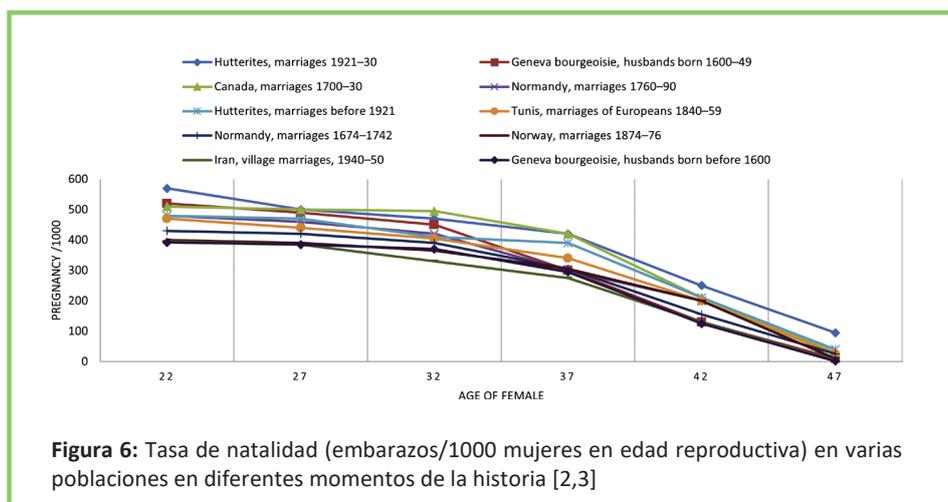


Son muchos los factores responsables de esta reducción en la natalidad que incluyen: cambios en el estilo de vida, implementación y generalización de métodos anticonceptivos eficaces, igualdad de género tras la incorporación de la mujer a un alto nivel académico y profesional, dificultad para encontrar la estabilidad económica y sentimental, falta de medidas sociales que promuevan la maternidad, falta de ayuda familiar para cuidado de menores (abuelos trabajadores) [9,10]

Uno de los factores relacionados con este descenso de la tasa de fertilidad es el retraso en la maternidad, más evidente en países desarrollados. La edad media de las mujeres al nacimiento de su primer hijo se ha incrementado en un año por década desde 1970, estando por encima de 28 en la mayor parte de países del OECD (Organization for Economic Co-operation and Development).



Una mayor edad cuando se inicia la búsqueda gestacional incrementa el riesgo de esterilidad. La probabilidad de conseguir gestación mensualmente (fecundabilidad) es óptima hasta los 31 años, reduciéndose a la mitad a la edad de 40 años. La edad media del último nacimiento en la población general se sitúa entre los 40-41 años [11].



INTRODUCCIÓN

ESTERILIDAD E INCREMENTO DE LA REPRODUCCIÓN ASISTIDA.

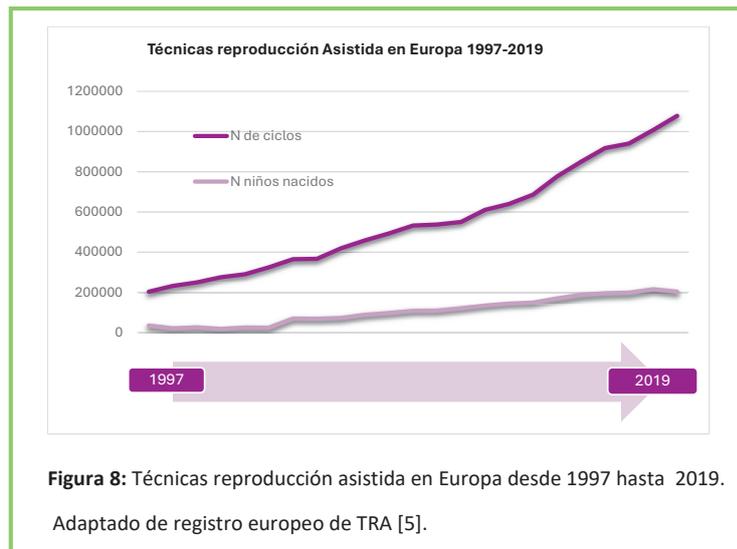
La esterilidad, definida como la incapacidad de concebir tras 12 meses de relaciones desprotegidas, está presente, según datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS [12]), en el 17,6% de los adultos (alrededor de 1 de cada 6).



La alta prevalencia de la enfermedad ha llevado a la OMS a etiquetar esta patología como ‘un grave problema de salud pública’ que ‘afecta a millones de personas’ , dicho informe construido en base a datos recogidos entre 1990 y 2021 obtenidos de un total de 133 estudios, no se registraron grandes diferencias en relación con la prevalencia de la esterilidad entre regiones, con tasas similares en los países de ingresos altos, medianos y bajos, lo cual demuestra que se trata de un problema de salud pública global[13]

Postponer la maternidad contribuye a la reducción de fertilidad, a tener menos hijos de los deseados, al incremento en la necesidad de técnicas de reproducción asistida (TRA) e incremento de la morbilidad y costes tanto para madres como para niños.

Esto explica el constatado incremento en el número de tratamientos y de niños nacidos por TRA en países desarrollados, en los que hasta un 10% de los recién nacidos vivos son gracias a tratamientos reproductivos.



La TRA prínceps, que se acaba indicando en la mayoría de las parejas estériles es la FIV/ICSI, que va precedida de una estimulación ovárica con el fin de obtener más ovocitos e incrementar la rentabilidad de la técnica.

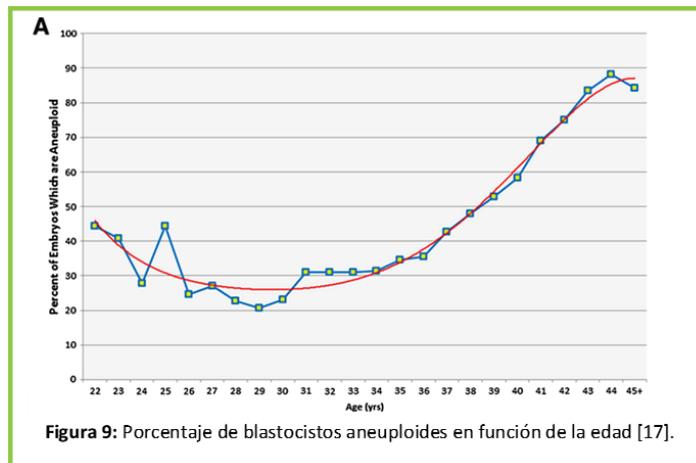
EDAD OVÁRICA Y ANEUPLOIDÍA

Se estima que solo un 30% de los óvulos fecundados in vivo serán capaces de implantar y dar lugar a un recién nacido vivo, mientras que un 10% darán lugar a un aborto clínico. Hasta el 30% de los embriones no logran implantar y el otro 30% se pierden de forma temprana (antes de diagnosticarse el embarazo clínico). La mayoría de estas pérdidas embrionarias tanto pre como postimplantacionales están asociadas con anomalías cromosómicas en los gametos y el embrión[14]

La pérdida embrionaria secundaria a la aneuploidía no solo se limita a la fertilidad natural humana, sino que también determina las tasas máximas de éxito alcanzables con la fecundación in vitro. Recientes publicaciones confirman que la implantación depende principalmente de factores embrionarios; cuando se transfieren tres o más blastocistos euploides, el fallo recurrente de implantación es prácticamente inexistente [15,16], alcanzando tasas acumuladas de recién nacido vivo del 92,6% tras tres transferencias de embrión euploide y 98,1% tras cinco.

INTRODUCCIÓN

La tasa de aneuploidía embrionaria aumenta de forma exponencial a partir de los 30 años, siendo superior al 80% a partir de los 42 años [17]



El porcentaje de blastos euploides en los diferentes grupos de edad permanece constante independientemente de la respuesta obtenida, por tanto, la posibilidad de conseguir al menos un blastocisto euploide depende del número de ovocitos obtenidos[18,19].

Toda esta evidencia permite llegar a la conclusión de que, a mayor número de ovocitos obtenidos, mayor es la probabilidad de tener algún blastocisto euploide y por tanto, de conseguir una gestación evolutiva [20].

FERTILITY AWARENESS: IMPORTANCIA INFORMACIÓN SOBRE FERTILIDAD

Evidencia reciente ha puesto de manifiesto el gran desconocimiento sobre la fertilidad, factores de riesgo de esterilidad y consecuencias de retrasar la búsqueda gestacional[21]. Esta percepción incorrecta sobre la fertilidad femenina podría conllevar de forma involuntaria a no tener hijos o a tener menos de los planeados.

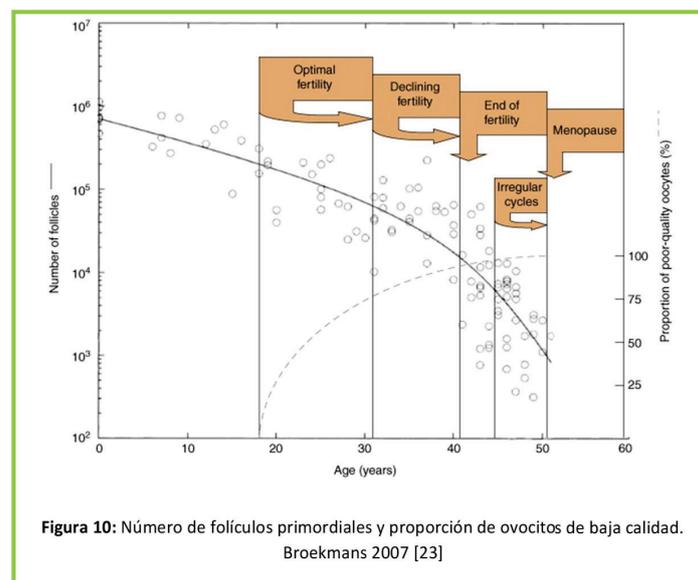
Existen datos que sugieren que, si las mujeres sienten que su potencial reproductivo es limitado, podrían cambiar sus planes reproductivos, incluyendo avanzar la maternidad y realizar técnicas de preservación de la fertilidad [22]

La existencia de marcadores de reserva ovárica eficaces, robustos, sencillos y económicos; acompañada de una adecuada educación en fertilidad tanto a pacientes como a profesionales de la salud (médicos de familia /ginecólogos de atención primaria), podría tener un importante impacto en la fertilidad poblacional.

RESERVA OVARICA

La reserva ovárica esta compuesta por folículos primordiales quiescentes. Se estima que todo el proceso de maduración folicular, de activación de folículo primordial a folículo preovulatorio dura >200 días y que la mayor parte de la reserva ovárica no dará lugar a un ovocito maduro (>99% de FP se perderá durante el proceso de maduración folicular).

La reducción en la cantidad de folículos primordiales iniciada en vida fetal es incesante, pero la velocidad de pérdida se incrementa de forma importante a partir de los 30 años, en la que estima que el número de folículos se reduce a la mitad cada 5 años [23]. Por lo tanto, los factores determinantes de la reserva ovárica en un determinado momento no solo dependen de la dotación inicial, sino también de la velocidad de pérdida.



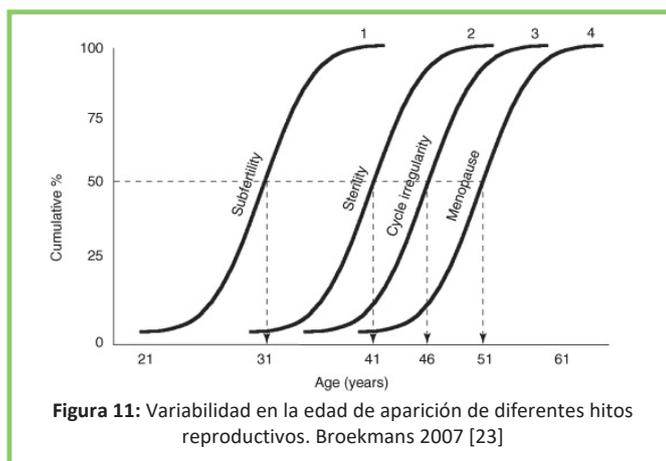
Esta reducción en cantidad de ovocitos a medida que la edad avanza va acompañada de una reducción de la calidad ovocitaria. El envejecimiento ovárico se asocia a errores en el proceso de meiosis, daño en el DNA mitocondrial, acortamiento en los telómeros...

INTRODUCCIÓN

Estos errores son los causantes de la relación edad-aneuploidía explicados anteriormente.

Sin embargo, existe una variabilidad importante en cuanto al potencial fértil en mujeres de una misma edad [24]. Se estima que la diferencia en el número de folículos entre dos mujeres de la misma edad puede ser múltiplo de 100, esto puede tener importantes efectos en el potencial reproductivo de una mujer concreta[25,26].

A modo de ejemplo, podemos encontrar mujeres 36 años que consiguen gestación espontánea de forma rápida, otras que consiguen gestación tras muchos meses de búsqueda o que presentan un fallo ovárico/menopausia precoz. De aquí surge la necesidad de disponer de parámetros capaces de medir la reserva ovárica independientemente de la edad.



Un buen marcador de reserva ovárica sería aquel que nos permitiera estimar la cantidad y calidad de los ovocitos presentes en los ovarios de una mujer en un determinado momento.

MARCADORES DE RESERVA OVÁRICA

Los marcadores de reserva ovárica como biomarcadores podrían ser útiles para: *screening de fertilidad*, si fueran capaces de evaluar el potencial fértil presente y/o futuro, lo que permitiría a las mujeres decidir cuándo y cómo proceder con la planificación familiar, el tratamiento de fertilidad o la preservación de la fertilidad; *valorar el pronóstico* de los tratamientos de reproducción asistida, que permitiría asesorar a las pacientes basándose en la predicción de la respuesta ovárica y la probabilidad de conseguir el nacimiento de un niño sano; *estadificar y monitorizar* la reserva ovárica tras tratamientos gonadotóxicos, o en pacientes con condiciones que las ponen en riesgo de fallo ovárico

prematureo; *individualizar los tratamientos* de estimulación para optimizar la respuesta y minimizar los riesgos: *predecir los efectos adversos* a la estimulación.

Los marcadores de reserva ovárica han fracasado como predictores de fertilidad natural. Evidenciar baja reserva ovárica no se relaciona con una menor posibilidad de gestación espontánea a corto[27], ni largo plazo[28]. Tampoco se ha evidenciado una menor tasa de embarazo o recién nacido vivo (RNV) cuando se realizan inseminaciones artificiales con donante de semen, mujeres potencialmente fértiles con baja reserva ovárica[29]. Es por ello, que no existe evidencia que avale el uso de marcadores de reserva ovárica como evaluadores de capacidad reproductiva.

Los marcadores de reserva ovárica también han fracasado como predictores de gestación / RNV con FIV/ICSI, si bien, esta conclusión se ha basado a estudios que solo evaluaban una transferencia embrionaria. Teniendo en cuenta que un porcentaje de embriones, variable en función de la edad, serán aneuploides y no darán lugar a un embarazo evolutivo, cuando se evalúa el éxito en los resultados de TRA, debería tenerse en cuenta no solo la probabilidad de embarazo de cada transferencia, si no la acumulada por ciclo.

Reportar el éxito de la FIV/ICSI con tasas acumuladas de nacidos vivos por ciclo (CLBR) se ha convertido en el estándar en la era de la vitrificación, pero existe la necesidad de un consenso para definir las tasas de éxito [30]. Cuando el objetivo es dilucidar el resultado de un ciclo de FIV/ICSI, deben analizarse todos los ciclos iniciados (no solo los aspirados) e incluirse solo los ciclos finalizados (todos los embriones transferidos hasta un RNV o hasta que no queden más embriones disponibles).

La **CLBR** guarda una significativa relación con la respuesta ovárica [31,32], pero las escasas publicaciones que han evaluado si los **marcadores de reserva ovárica son capaces de predecir este resultado no son concluyentes** [33]

Por este motivo, universalmente se acepta que los marcadores de reserva ovárica NO son eficaces para evaluar la CALIDAD ovocitaria, SOLO la CANTIDAD, por tanto, su utilidad se enfoca cuando se van a indicar TRA para: informar del pronóstico de la

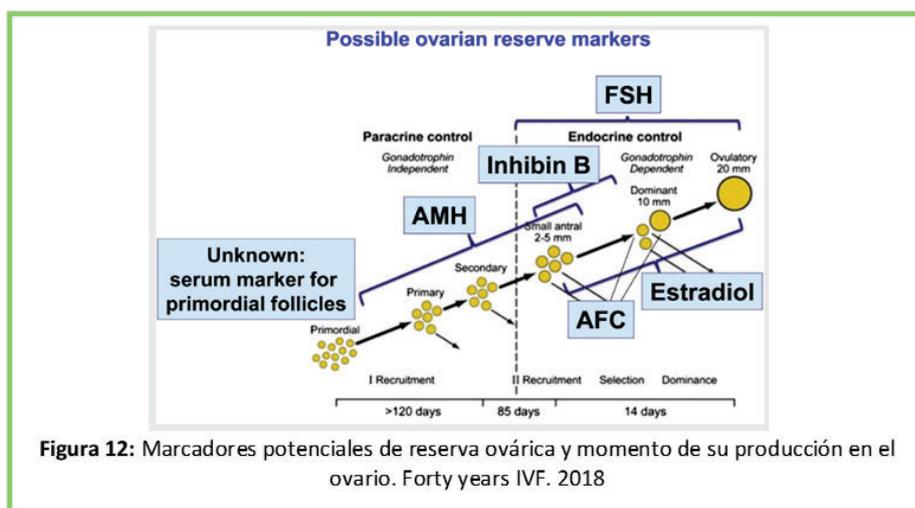
INTRODUCCIÓN

FIV/ICSI, predecir la respuesta a la estimulación y sus complicaciones e individualizar el tratamiento. Por tanto, un buen marcador de reserva ovárica será el que sea capaz de predecir la respuesta a la estimulación ovárica en un ciclo de FIV/ICSI.

Para evaluar la eficacia de los marcadores de reserva ovárica como predictores de respuesta ovárica, es necesario estandarizar puntos de corte para definir respuesta baja, normal y alta. Desde el consenso de la sociedad europea fraguado en Bologna para definir la paciente “baja respondedora”, que se ha mantenido en posteriores clasificaciones de pacientes (POSEIDON)[34] y consensos (ESHRE Guideline Ovarian Stimulation)[5], la baja respuesta se define como la cancelación del ciclo, o la obtención en la punción de 3 o menos ovocitos bajo un protocolo estándar de estimulación.

Respecto a la alta respuesta, el punto de corte no está tan claro. Los expertos que conformaron la guía europea de estimulación ovárica en el 2019 [5] propusieron más de 18 ovocitos obtenidos en punción. En el 2023 un grupo de 28 expertos, que incluía la mayoría de los autores de la guía europea de estimulación, publicaron un Delphi Consensus [35], en el que la definición de alta respuesta a la estimulación ovárica establecía como punto de corte la obtención de 15 o más ovocitos en la punción.

Son numerosos los marcadores de reserva ovárica descritos, tanto hormonales [FSH basal, E2 basal, hormona antimülleriana (AMH), inhibina B] como ecográficos [recuento de folículos antrales (AFC), volumen ovárico, Doppler ovárico] y test dinámicos (test de clomifeno, test de FSH, test de aGnRH).



Revisaremos los más utilizados en la práctica clínica, que son los que han sido evaluados en los trabajos que conforman esta tesis: longitud del ciclo menstrual (LCM), FSH/E2 basal, AMH y AFC. No solo en lo que respecta a su validez, si no en su practicidad (variabilidad de sus medidas, facilidad de realizarlos, precio, rapidez en obtener resultados...)

MARCADORES CLÍNICOS DE RESERVA OVÁRICA

En la anamnesis inicial de la pareja estéril podemos obtener sustancial información que nos orienta sobre la reserva ovárica de la paciente.

LONGITUD DEL CICLO MENSTRUAL

FISIOLOGÍA

El 85 % de las variaciones en la longitud de los ciclos menstruales son debidas a variaciones de la fase folicular; la fase lútea tiene una longitud fija de entre 12-14 días.

El acortamiento del ciclo menstrual es un hecho fisiológico, que ocurre en las mujeres en los años previos a la entrada en menopausia. A medida que la edad de la mujer avanza, la longitud de su ciclo menstrual (LCM) se acorta, a consecuencia de un acortamiento de la fase folicular. El envejecimiento ovárico se asocia a una reducción progresiva del pool de folículos primordiales y una reducción en la cohorte de folículos antrales sensibles a la acción gonadotropa. A medida que la edad avanza, los niveles de FSH son más elevados (se explicará en la fisiología de este marcador), lo que produce el inicio del reclutamiento folicular en fase lútea de ciclo previo, un desarrollo folicular más rápido y una ovulación más temprana, acortándose por tanto la fase folicular y la LCM [36,37].

Así en estudios clásicos longitudinales se ha observado que la LCM a los 20 años es de 30,1 días, reduciéndose a 27,3 a los 40 años, alcanzándose el punto más bajo a los 42 años, cuando se inician los ciclos irregulares y alargados [38,39].

Aunque existe una amplia variabilidad entre la LCM entre las mujeres en edad reproductiva, se consideran ciclos regulares y ovulatorios entre los que tienen una longitud entre 21 y 35 días[40].

INTRODUCCIÓN

EFICACIA

Existe cierta evidencia que apunta en mujeres con ciclos cortos a peores tasas de gestación tanto espontánea como tras TRA [41]

La LCM en mujeres con ciclos regulares ha demostrado estar relacionada con los marcadores de reserva ovárica. Las mujeres con ciclos cortos tienen marcadores de reserva ovárica (AMH y AFC) significativamente inferiores[41] y las pacientes con niveles de AMH/AFC elevados tienen ciclos más largos[42]. Estudios realizados en FIV/ICSI, han identificado una relación lineal entre LCM y la respuesta ovárica [43,44]. Sin embargo, **ningún estudio ha evaluado la capacidad predictiva de la LCM como predictor de baja y alta respuesta, con sus definiciones estandarizadas.**

PRACTICIDAD

La LCM es un marcador individual, simple y universal que podría ser utilizado como una señal de sutil y temprano envejecimiento ovárico. En caso de detectarse ciclos cortos, la paciente debería ser referida a un especialista en reproducción para realizar un asesoramiento reproductivo adecuado en caso de confirmarse la baja reserva ovárica.

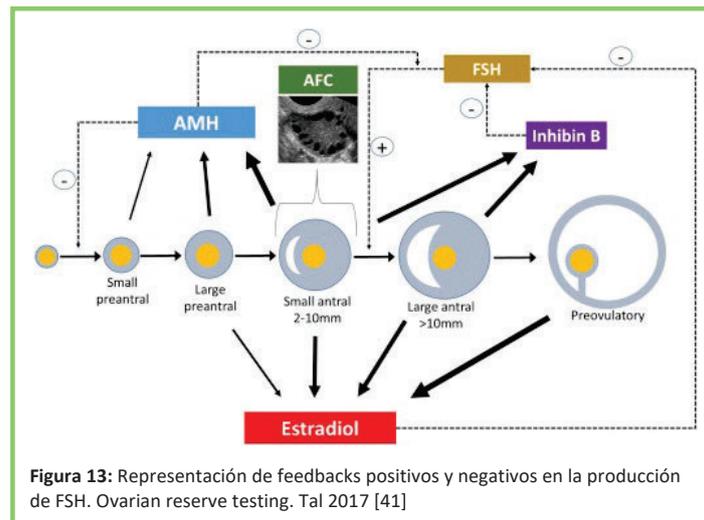
MARCADORES HORMONALES DE RESERVA OVÁRICA

FSH/E2 BASAL (2-5º DÍA DEL CICLO)

Las determinaciones hormonales de FSH y E2 en situación basal (antes de haberse iniciado el reclutamiento/dominancia folicular) fueron los primeros marcadores de reserva ovárica descritos en los inicios de la estimulación ovárica hace más de 30 años [45].

FISIOLOGÍA

La FSH producida en la hipófisis estimula el crecimiento y maduración del *pool* de folículos antrales/preantrales presentes en ese momento en los ovarios. La FSH también induce la producción de estradiol en las células de la granulosa.



La elevación de la FSH basal es consecuencia de la disminución del *feedback* negativo realizado por activina e inhibina B, producidas por el *pool* de folículos preantrales/antrales. A menor tamaño del *pool* de folículos, mayor FSH basal.

Cuando empieza a producirse E2, este ejerce una retroalimentación negativa en la hipófisis. Por tanto, detectar un nivel de E2 > 50pg/ml en un tercer/cuarto día del ciclo indica que el proceso de desarrollo/selección folicular ya se ha iniciado (ciclo corto) y que, por tanto, el nivel de FSH que encontremos no será valorable (será más bajo que el verdadero valor basal).

PRACTICIDAD

Las determinaciones deben de realizarse en fase folicular precoz (2-5º día del ciclo) e idealmente repetirlas en caso de encontrar el E2 alto de forma más precoz.

Estas determinaciones tienen una importante variabilidad interciclo (cuando se repite medida en varios ciclos) y requieren normofunción del eje hipotálamo-hipófisis-ovario (no pueden determinarse en pacientes que están tomando anticonceptivos, situación de embarazo, hipogonadismo-hipogonadotropo...).

EFICACIA

Estudios iniciales, apuntaban a que un resultado de FSH elevada era predictor de baja respuesta y peores tasas de gestación en FIV/ICSI. La combinación de FSH basal con E2 mejoraba la sensibilidad y especificidad del marcador [46].

INTRODUCCIÓN

Sin embargo, numerosos estudios adicionales retrospectivos y prospectivos permitieron llegar a la conclusión de este marcador era buen predictor de baja respuesta SOLO en pacientes con niveles umbral muy elevados, que además de encontrarse en un porcentaje muy bajo de pacientes, tiene una tasa de falsos positivos del 5%, un resultado anormal único en mujeres menores de 40 años puede no predecir una mala respuesta o un fracaso para concebir. Un valor de FSH basal anormalmente alto tiene un alto valor predictivo de una respuesta ovárica disminuida, pero un valor normal tiene un bajo valor predictivo negativo para una mala respuesta[47].

Además, la FSH basal no tiene valor en la predicción de la alta respuesta, ni del síndrome de hiperestimulación ovárica (SHO).

Las marcadas deficiencias del nivel de FSH basal como marcador predictivo fueron un motor en la búsqueda y el desarrollo de nuevos marcadores de reserva ovárica, que, no obstante, no se inició hasta comenzó hasta la segunda y tercera década de la historia de la FIV/ICSI[48].

AMH

FISIOLOGÍA

Una vez el folículo primordial ha sido seleccionado para iniciar su desarrollo, las células de la granulosa del folículo primario empiezan a producir AMH. Esta expresión continúa hasta la fase de folículo antral pequeño, dejándose de producir cuando el folículo se dominante se selecciona.

Inhibe la transición de folículo primordial a folículo primario, regulando por tanto el pool de folículos en crecimiento, y también ejerce un efecto negativo en la selección folicular mediada por la FSH y en la actividad aromatasa. Por tanto, la AMH es reflejo de la foliculogénesis inicial independiente de las gonadotrofinas (de folículo primario a folículo antral), por lo que es un marcador más “cercano” y directo al pool de folículos primordiales (reserva ovárica)

El ovario empieza a producir AMH a las 36 semanas de gestación, los niveles se van incrementando en la infancia para llegar a un plateau durante la adolescencia. A partir

de los 25 años empiezan a descender, relacionándose de forma inversa con la edad. Es por este motivo por el que la AMH solo debiera utilizarse como marcador de reserva ovárica a partir de los 25 años[49].

PRACTICIDAD

La producción de AMH es en su mayor proporción, es independiente de la FSH, lo que determina que sus medidas se mantengan relativamente estables a lo largo del ciclo menstrual y también entre diferentes ciclos. Esta estabilidad en sus medidas postuló esta hormona como el marcador de reserva ovárica Gold Standard[48] y es comúnmente aceptado que la determinación de la AMH puede realizarse independientemente de la fase del ciclo menstrual [50].

No obstante, con el desarrollo de kits automáticos dotados de una mejor sensibilidad y precisión, los estudios sobre la estabilidad de los niveles de AMH durante el ciclo menstrual arrojaron resultados contradictorios. Así, un reciente metaanálisis que evaluaba la variabilidad entre los niveles de AMH valorados en fase folicular y fase lútea concluía que los niveles de AMH eran significativamente superiores en fase lútea, aunque la magnitud de la diferencia era escasa 0,12ng/ml [51].

Aunque solo una pequeña producción de AMH depende de folículos en crecimiento dependientes de la FSH, existen situaciones clínicas en las que los niveles de AMH, a consecuencia de niveles persistentemente bajos de FSH, pueden estar “falsamente bajos”.

- a) En casos de hipogonadismo hipogonadotropo primario[52].
- b) Tratamientos prolongados con análogos de la GnRH, embarazo.
- c) Uso de anticonceptivos.

Los estudios han demostrado una disminución de hasta el 50% en tan solo 9 semanas con el uso continuo de anticonceptivos hormonales combinados[53] . Una revisión sistemática confirmó una reducción en los niveles de AMH de entre el 14% y el 55%, según el tipo de anticonceptivo hormonal y la duración de su uso [54]

INTRODUCCIÓN

Dado que la AMH se está utilizando cada vez más para evaluar la fertilidad y guiar recomendaciones de tratamiento, como la preservación de óvulos, es importante considerar la reversibilidad de esta supresión [55] y la posible necesidad de un período de lavado (de dos meses) antes de realizar una evaluación precisa y/o una estimulación máxima [55]

La principal limitación de la hormona antimülleriana (AMH) son los métodos de análisis utilizados para su medición. Inicialmente, la AMH se midió con dos kits diferentes de ensayos inmunoabsorbentes ligados a enzimas (ELISA) (Diagnostic Systems Laboratories e Immunotech) posteriormente fueron adquiridos por Beckman Coulter, que desarrolló una segunda generación de ELISA bajo el nombre de "AMH Gen II ELISA". Debido a las diferencias en los anticuerpos y la sensibilidad de los ensayos, además de las variaciones entre laboratorios, se encontraron diferencias considerables entre los diferentes ensayos, especialmente en valores bajos de AMH, lo que complicaba la interpretación de los valores y sus implicaciones clínicas.

Los ensayos automatizados de AMH, Access AMH (Beckman-Coulter Diagnostics) y el Elecsys® AMH Immunoassay (Roche Diagnostics International) altamente sensibles y disponibles desde 2014, han reemplazado a los antiguos ELISA, proporcionando resultados más rápidos y mejorando la confiabilidad entre observadores. Sin embargo, existen otros kits disponibles en el mercado, no se ha identificado un factor de conversión confiable y no se han acordado estándares internacionales para los ensayos. Por lo tanto, los puntos de corte desarrollados y reportados para un ensayo comercial de AMH no son generalizables a otros [56].

EFICACIA

En el año 2002 se sugirió su utilidad como marcador de reserva ovárica [57], desde entonces, múltiples estudios han investigado el papel de la AMH en la predicción de la respuesta ovárica a la estimulación ovárica. La mayoría de estos estudios cuentan con un número limitado de pacientes y han utilizado diferentes ensayos para medir los valores de AMH. La AMH ha sido estudiada tanto en ciclos con agonistas como con antagonistas de GnRH, así como en pacientes estimuladas con diferentes dosis y protocolos de FSH. Además, la definición de una respuesta baja o alta no ha sido

uniforme. Además, se han escrito varias revisiones narrativas junto a diferentes metaanálisis sobre el tema.

AMH Study	Cohort (n)	High ovarian response		Poor ovarian response		Remark
		Criterion	ROC-AUC	Criterion	ROC-AUC	
Broer 2013a/b	4786/5705	>15 oocytes	0.82	≤4 oocytes	0.81	
Other studies:						
Elgindy 2008	33			<4 oocytes	0.90	
Jayaprakasan 2010	150			≤3 oocytes	0.91	
Andersen 2011	442	>18 oocytes	0.77	<6 oocytes	0.84	
Tolikas 2011	90			<4 oocytes	0.70	
Arce 2013	374	≥15 oocytes	0.77	≤3 oocytes	0.78	hMG stimulation
Arce 2013	375	≥15 oocytes	0.81	≤3 oocytes	0.90	rFSH stimulation
Lan 2013	382	>20 oocytes	0.76	≤3 oocytes	0.88	
Mutlu 2013	192			<4 oocytes	0.86	
Tsakos 2014	105	>12 oocytes	0.66	<4 oocytes	0.63	
Heidar 2015	188	>12 oocytes	0.69	≤3 oocytes	0.76	
Oehninger 2015	686	>18 oocytes	0.86	<6 oocytes	0.87	
Li 2016	615	>15 oocytes	0.76	≤5 oocytes	0.70	

Figura 14: Precisión de la AMH en la predicción de baja y alta respuesta. ESHRE Guideline Ovarian Stimulation 2020[5]

A pesar de la heterogeneidad de los estudios, la AMH ha demostrado ser un buen predictor de la respuesta ovárica y así la guía de estimulación de la sociedad europea recomienda con un grado de evidencia fuerte que se utilice la AMH para la predicción de baja y alta respuesta [5]

En 2023 se publicó un metaanálisis que analizaba la eficacia de AMH como predictor de CLBR en FIV/ICSI [33], en el análisis inicial que incluía 4 estudios no se encontraron diferencias, pero tras excluir dos estudios con alto riesgo de sesgos, la AMH fue significativamente más alta en mujeres con al menos RNV que, en aquellas sin RNV, sin heterogeneidad. No hubo suficientes datos para evaluar la capacidad de la AMH en la predicción de la tasa de recién nacidos vivos acumulados.

MARCADORES ECOGRÁFICOS DE RESERVA OVÁRICA

La evolución de la Fecundación In Vitro y de la ecografía transvaginal están íntimamente conectadas. En el año 1982 se describió el control ecográfico por vía abdominal para

INTRODUCCIÓN

realizar un seguimiento del desarrollo folicular[58] y realizar la punción ovárica [59], previamente realizada por minilaparotomía/laparoscopia.

El desarrollo de sondas vaginales de alta resolución, hizo que en los años 90, se adoptara para la monitorización de los ciclos de FIV/ICSI y para guiar la punción ovárica. Siendo el volumen ovárico el primer marcador de reserva ovárica propuesto [60].

RECUESTO DE FOLÍCULOS ANTRALES

FISIOLOGÍA

Los folículos antrales son sensibles a la acción gonadotropa y son los que entran en acción durante la segunda fase de desarrollo folicular (gonadotropina dependiente), la fase cíclica que mensualmente se inicia si no hay gestación tras la menarquia.

Los pequeños folículos antrales inician su crecimiento y producción de E2; este ascenso de E2 provoca un *feedback* negativo en la hipófisis que hace descender la producción de FSH, siendo este descenso el responsable de la selección del folículo dominante

El AFC es el resultado de contabilizar todos los folículos antrales (2-10mm) visibles en la ecografía transvaginal.

PRACTICIDAD

El AFC presenta mayor variabilidad intraciclo que la AMH, por lo que la medida estandarizada debe realizarse en fase folicular precoz (2-4º día del ciclo)[61,62]. Si bien algunos de los autores que han evaluado esta variabilidad en diferentes fases del ciclo apuntan a que esta variabilidad probablemente tenga poca relevancia clínica [63,64]. Los 4 estudios que han evaluado la relación entre el recuento de folículos antrales en cualquier momento del ciclo (rAFC) y los resultados de la FIV/ICSI, han mostrado una relación entre rAFC y respuesta ovárica, pero **ninguno ha evaluado su poder predictivo para la baja / alta respuesta con sus definiciones estandarizadas.**

También se ha observado variabilidad en las medidas del AFC interciclo [65], esta variabilidad puede explicarse por la fisiológica diferencia en el tamaño de la cohorte de folículos (oleada) mes a mes, no obstante, esta variabilidad es superior a la observada en las medidas de AMH [65–67]. Si bien es cierto, que estudios publicados 10 años después a estos iniciales, han mostrado una menor variabilidad interciclo (probablemente en relación con la mejora en la resolución de los ecógrafos)[68] e incluso una fluctuación paralela a las fluctuaciones intraciclo de la AMH [69].

Otro aspecto que puede afectar a la validez del AFC es la variabilidad interobservador, pero la concordancia entre observadores en centros con experiencia es alta[62]

La ecografía transvaginal 2D en tiempo real es adecuada para el AFC en la práctica clínica diaria pese a que los recuentos automáticos en volúmenes 3D (sonoAVC) mejoran la reproducibilidad, aumentan la complejidad y el tiempo de análisis (requiere postprocesado de imagen), por lo que no se han incorporado a la práctica clínica.

Las medidas de AFC también se ven afectadas por todas aquellas situaciones/tratamientos en las que existe un descenso/ausencia de FSH: uso de anticonceptivos orales, agonistas de la GnRH...

Sin embargo, el recuento de folículos antrales valorado tras la frenación hipofisaria en un protocolo largo de agonistas (AFCaps), no parece verse reducido de forma significativa [70–72]. **La capacidad predictiva del AFCaps en la predicción de baja respuesta ha sido evaluada en cohortes con escasas pacientes y en la predicción de la alta respuesta y recién nacido vivo/ciclo (CLB) no ha sido evaluada** [72–74], hasta la publicación del primer artículo de la presente tesis.

Al tratarse de un parámetro ecográfico, su valoración también está limitada en pacientes con peor visibilidad de los ovarios (sobrepeso/obesas, úteros polimiomatosos, ovarios altos...) y hay que tener en cuenta también la resolución del ecógrafo con la que se realiza para definir los *cut-off* utilizados.

INTRODUCCIÓN

EFICACIA

Un gran número de estudios ha investigado el papel del recuento de folículos antrales en la predicción de la respuesta ovárica a la estimulación ovárica. La mayoría de estos estudios cuentan con un número limitado de pacientes, y la definición de respuesta baja y alta no ha sido uniforme. El AFC ha sido estudiado en ciclos con agonistas y antagonistas de GnRH y en pacientes estimuladas con diferentes dosis y protocolos de FSH. Además, se han realizado varias revisiones narrativas y metaanálisis sobre el tema.

AFC Study	Cohort (n)	High ovarian response		Poor ovarian response		Remark
		Criterion	ROC-AUC	Criterion	ROC-AUC	
Broer 2013a/b	4786/5705	>15 oocytes	0.73	≤4 oocytes	0.73	
Other studies:						
Bancsi 2002	120			<4 oocytes	0.87	
Bancsi 2004	130			<4 oocytes	0.87	
Kwee 2007	110	>20 oocytes	0.92	<6 oocytes	0.83	
Soldevila 2007	327			≤5 oocytes	0.73	
Elgindy 2008	33			<4 oocytes	0.94	
Khairy 2008	148			<4 oocytes	0.79	
Jayaprakasan 2009	141			<4 oocytes	0.89	
Jayaprakasan 2010	150			≤3 oocytes	0.94	
Penarrubia 2010	98			≤3 oocytes	0.90	
Tolikas 2011	90			<4 oocytes	0.81	
Arce 2013	374	≥15 oocytes	0.65	≤3 oocytes	0.67	hMG stimulation
Arce 2013	375	≥15 oocytes	0.64	≤3 oocytes	0.74	rFSH stimulation
Lan 2013	382	>20 oocytes	0.81	≤3 oocytes	0.80	
Mutlu 2013	192			<4 oocytes	0.93	
Tsakos 2014	105	>12 oocytes	0.86	<4 oocytes	0.86	
Oehninger 2015	686	>18 oocytes	0.88	<6 oocytes	0.88	

Figura 15: Precisión del AFC en la predicción de baja y alta respuesta. ESHRE Guideline Ovarian Stimulation 2020[5]

A pesar de la heterogeneidad de los estudios, el AFC ha demostrado ser un buen predictor de la respuesta ovárica y así la reciente guía de la sociedad europea recomienda con un grado de evidencia fuerte que se utilice para la predicción de baja y alta respuesta [5].

Los escasos estudios previos que han evaluado el poder predictivo del AFC para la CLBR han encontrado una relación positiva entre ambas variables, si bien el AFC presentaba un poder predictivo modesto [75–78]

RESUMEN DE LA EVIDENCIA EN MARCADORES DE RESERVA OVÁRICA

Los marcadores de reserva ovárica son excelentes predictores de respuesta ovárica, pronóstico y riesgo de complicaciones en FIV/ICSI, aunque no son predictores de fertilidad natural.

La determinación de AMH y el AFC son los marcadores recomendados para predecir la baja / alta respuesta a la estimulación.

La determinación de AMH puede realizarse en cualquier momento del ciclo, aunque no es valorable en situaciones/tratamientos con hipofunción gonadotropa hipofisaria y existe variabilidad en función del kit utilizado en su determinación.

El AFC debe realizarse en fase folicular precoz, aunque existe cierta evidencia que apunta a que la variabilidad en diferentes fases del ciclo y su medida tras frenación hipofisaria con agonistas de la GnRH en un protocolo largo de FIV/ICSI, no reduciría su validez clínica. Es operador y ecógrafo dependiente, pero en manos especializadas esta variabilidad es escasa. Hoy en día la ecografía transvaginal está ampliamente disponible en las consultas ginecológicas.

La longitud del ciclo menstrual es un marcador muy sencillo, que se correlaciona con los marcadores estandarizados de reserva ovárica, aunque la evidencia en su poder predictivo para la baja y alta respuesta es limitada.

La posibilidad de conseguir al menos un recién nacido vivo por ciclo de FIV/ICSI, guarda una significativa relación con la respuesta, pero las escasas publicaciones que han evaluado si los marcadores de reserva ovárica (FSHbasal, AFC basal y AMH) son capaces de predecir este resultado no son concluyentes.

La edad es el único marcador de fertilidad natural y el retraso en la búsqueda gestacional, corriente establecida a nivel mundial, ha supuesto un incremento en las tasas de esterilidad y la necesidad de recurrir a técnicas de reproducción asistida.

Es por ello importante impulsar la educación e información en salud reproductiva, para tratar de prevenir la esterilidad / infertilidad y realizar su tratamiento a tiempo.

INTRODUCCIÓN

Sería de gran utilidad, la existencia de marcadores de reserva sencillos, prácticos y eficaces que permitiera a pacientes y médicos de atención primaria detectar pacientes con baja reserva ovárica, para ser remitidas y adecuadamente asesoradas por un especialista en reproducción.

Del mismo modo, facilitar las determinaciones del recuento de folículos antrales, pudiendo realizarlo en cualquier momento del ciclo o tras la frenación hipofisaria en protocolos largos, sería de gran utilidad para los especialistas en reproducción.

Esta es la base de evidencia que fundamenta las hipótesis de la presente tesis.

HIPÓTESIS

1. El recuento de folículos antrales medido tras frenación hipofisaria con agonistas de la GnRH es un buen marcador de reserva ovárica
2. El recuento de folículos antrales medido en cualquier momento del ciclo es un buen marcador de reserva ovárica.
3. La longitud del ciclo menstrual es un buen marcador de reserva ovárica.
4. La probabilidad acumulada de conseguir al menos un recién nacido vivo tras un ciclo de estimulación ovárica en Fecundación In Vitro está relacionada positivamente con la respuesta a la estimulación y los marcadores de reserva ovárica.

OBJETIVOS

1. Evaluar el recuento de folículos antrales medido tras frenación hipofisaria con agonistas de la hormona liberadora de gonadotropinas en un ciclo de estimulación ovárica bajo protocolo largo, como predictor de baja e hiperrespuesta en un ciclo de Fecundación in Vitro
2. Evaluar la relación entre el recuento de folículos antrales medido tras frenación hipofisaria con agonistas de la hormona liberadora de gonadotropinas en un ciclo de estimulación ovárica bajo protocolo largo y la probabilidad acumulada de conseguir al menos un recién nacido vivo en un ciclo de Fecundación In Vitro.
3. Evaluar la longitud del ciclo menstrual como predictor de baja e hiperrespuesta en un ciclo de Fecundación in Vitro
4. Evaluar el recuento de folículos antrales valorado en cualquier momento del ciclo como predictor de baja e hiperrespuesta en un ciclo de Fecundación in Vitro
5. Evaluar la relación entre el recuento de folículos antrales valorado en cualquier momento del ciclo y la probabilidad acumulada de conseguir al menos un recién nacido vivo en un ciclo de Fecundación In Vitro.
6. Evaluar la relación entre la longitud del ciclo menstrual y la probabilidad acumulada de conseguir al menos un recién nacido vivo en un ciclo de Fecundación In Vitro.

Los primeros dos objetivos se corresponden al artículo publicado, los otros 4 al segundo trabajo, no publicado en el momento de depósito de la tesis.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se detalla la metodología específica de los dos trabajos que componen la presente tesis de forma independiente.

ESTUDIO 1: ARTÍCULO PUBLICADO

DISEÑO DEL ESTUDIO

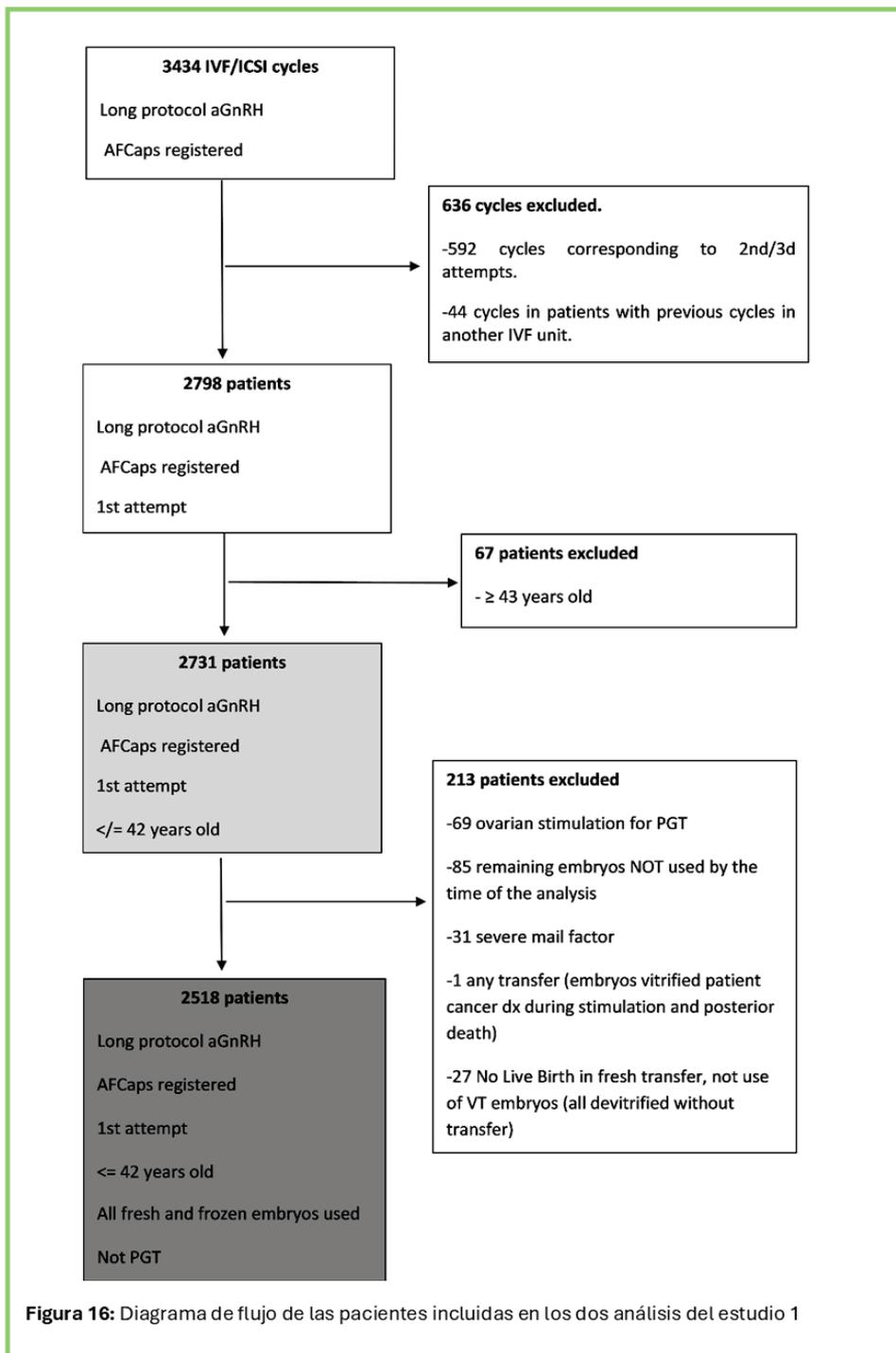
Estudio observacional retrospectivo unicéntrico.

POBLACIÓN DEL ESTUDIO

El estudio del primer artículo de la tesis incluyó todos los primeros ciclos de FIV/ICSI que siguiendo un protocolo largo con agonistas de GnRH se iniciaron entre enero de 2011 y septiembre de 2020 en mujeres de entre 20 y 42 años en las que el AFC tras la supresión hipofisaria había sido registrado en nuestra base de datos.

Se analizaron un total de 2731 primeros ciclos de FIV/ICSI iniciados para evaluar la respuesta ovárica a la FIV/ICSI. Para evaluar la CLBR, solo se analizaron 2518 ciclos, excluyendo los ciclos no finalizados (sin RNV y con embriones restantes al momento del análisis, y ciclos en los que los embriones criopreservados tras el fracaso del transfer en fresco fueron descongelados, pero no transferidos). También se excluyeron los ciclos de FIV/ICSI con PGT y el factor masculino severo que requirió extracción espermática por biopsia testicular.

La figura 16 muestra el diagrama de flujo de las pacientes incluidas en ambos análisis.



PROTOCOLO DE ESTIMULACIÓN OVÁRICA.

La desensibilización hipofisaria se logró mediante la administración subcutánea de acetato de triptorelina o acetato de leuprolide, comenzando en la fase lútea media del

ciclo anterior. El fármaco y las dosis de gonadotropinas se eligieron individualmente según la edad y los marcadores de reserva ovárica disponibles: edad, IMC, FSH basal, E2 basal, con una dosis inicial máxima de 450 UI (300 UI desde el año 2018). A partir del quinto día, se ajustó la gonadotropina según la respuesta ovárica. Los criterios para la administración de la HCGr fueron la presencia de dos o más folículos con un diámetro de 18 mm o más, con 4 o más folículos de al menos 14mm junto a unos niveles séricos adecuados de E2. El ciclo se cancelaba cuando había menos de tres folículos con un diámetro de al menos 14 mm después de 8 a 9 días de terapia con gonadotropinas, o tras 4 a 5 días adicionales de tratamiento sin lograr, o sin la perspectiva inminente de lograr, los criterios para indicar el trigger.

MEDICIÓN DEL RECuento DE FOLÍCULOS ANTRALES TRAS LA SUPRESIÓN HIPOFISARIA.

Se realizaron ecografías el día en que se verificó la supresión hipofisaria (después de 12-18 días de tratamiento con agonistas), y se contó el número de folículos con un diámetro medio entre 2–10 mm.

MEDIDAS DE RESULTADOS.

RESPUESTA OVÁRICA

La respuesta ovárica se categorizó en tres grupos: baja respuesta ovárica (ciclo cancelado o <4 ovocitos recuperados), respuesta normal (4-15 ovocitos recuperados) e hiperrespuesta (>15 ovocitos recuperados).

El SHO moderado-severo se definió según la clasificación propuesta por Golan [79].

PROBABILIDAD ACUMULADA DE RECIEN NACIDO VIVO

El embarazo clínico se diagnosticó mediante el aumento de las concentraciones séricas de β -HCG después de la transferencia de embrión/-es en fresco o congelado (ET/FET) y la posterior demostración de un saco gestacional intrauterino por ecografía. La pérdida del embarazo incluyó embarazo ectópico, aborto espontáneo y muerte fetal según las definiciones estandarizadas [80]. La tasa de embarazo clínico acumulado (CCPR) se definió como la proporción de ciclos que lograron al menos un embarazo clínico por

MATERIAL Y MÉTODOS

ciclo. La CLBR se describió como una proporción de partos con al menos un RNV por ciclo de fecundación in vitro. El parto de un hijo único, gemelos u otros múltiples se registró como un solo parto [81,82].

Todas estas tasas de resultados del embarazo se muestran por ciclo iniciado, por ciclo aspirado y por transferencia ET /FET.

ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Las variables continuas se describieron como media y desviación estándar, mientras que los porcentajes se utilizaron para las variables categóricas. La asociación entre variables categóricas y respuesta ovárica/nacido vivo acumulado se analizó utilizando la prueba de Chi-Cuadrado. Las variables continuas se compararon con la prueba de Anova con corrección de Bonferroni cuando se realizaron más de 2 comparaciones. Se evaluaron las asociaciones de AFCaps con parámetros de reserva y respuesta ováricas utilizando coeficientes de correlación. La capacidad del AFCaps para predecir baja respuesta, hiperrespuesta y RNV se evaluó utilizando curvas ROC (receiver operating characteristic). Se obtuvieron la sensibilidad, especificidad y el área bajo la curva (AUC) para los resultados basados en el índice de Youden.

Las curvas ROC se utilizan para evaluar el rendimiento diagnóstico de una prueba de forma aislada, en este caso los diferentes marcadores de reserva ovárica en la predicción de baja, alta respuesta, RNV. Una AUC de 0.5 indica que el marcador no tiene capacidad de predecir el resultado, un valor entre 0.7-0.8 indica que el marcador tiene un poder predictivo bueno y entre 0.8-0.9 excelente.

Para un análisis en profundidad de la probabilidad de RNV, los sujetos se agruparon según los cuartiles de AFCaps y las variables seleccionadas de interés se resumieron dentro de cada cuartil. Finalmente, para controlar posibles variables de confusión que podrían haber cambiado durante el período de estudio, se realizó un modelo de regresión logística multivariante para estimar la razón de probabilidades (OR) de la CLB para los cuartiles de AFCaps, ajustando por edad, año de estimulación, dosis total de gonadotropinas y técnica de criopreservación.

Todos los tests se contrastaron bilateralmente y se consideró estadísticamente significativo un valor de $p < 0.05$.

Todos los análisis fueron exploratorios, por lo que no se realizó un cálculo formal del tamaño de la muestra.

Los datos se analizaron con el Paquete Estadístico para Ciencias Sociales, versión 25.0 (SPSS; Chicago, IL; EE. UU.), el software R (R Core Team, 2019) y MedCalc Software (Mariakarke, Bélgica).

APROBACIÓN ÉTICA Y CONSENTIMIENTO PARA PARTICIPAR

Este estudio clínico se realizó de acuerdo con la Declaración de Helsinki para la Investigación Médica en Sujetos Humanos (Asociación Médica Mundial 2013). El protocolo del estudio fue aprobado por el Comité de Ética del Hospital Clínic de Barcelona (Número de Protocolo: HCB/2016/0691).

ESTUDIO 2: ARTÍCULO PENDIENTE DE PUBLICACIÓN.

DISEÑO DEL ESTUDIO

Estudio observacional prospectivo unicéntrico

POBLACIÓN A ESTUDIO

Se incluyeron todos los primeros ciclos de FIV/ICSI realizados entre enero de 2020 y diciembre de 2022, bajo un protocolo de antagonistas en los que el investigador S.P. realizaba la visita de valoración previa al inicio del ciclo FIV/ICSI, que se programa en los dos meses previos al inicio de esta. Solo fueron elegibles las pacientes con ciclos menstruales regulares (duración del periodo de 21-35 días). Los criterios de exclusión fueron antecedentes de cirugía ovárica, características sugestivas de enfermedad ovárica, uso de anticonceptivos orales en los últimos seis meses y un $IMC \geq 35 \text{ Kg/m}^2$. Se registró información sobre las características demográficas e infertilidad.

MATERIAL Y MÉTODOS

ANÁLISIS HORMONALES, ULTRASONOGRAFÍA Y DURACIÓN DEL CICLO MENSTRUAL

El día de la consulta previa al tratamiento, programada independientemente del ciclo menstrual, se obtuvo una muestra de sangre periférica para la determinación sérica de AMH y se realizó una ecografía para el rAFC (diámetro medio de 2-10 mm). Las ecografías fueron realizadas por un único investigador (S.P) con Voluson P6 (GE Healthcare) equipado con una sonda endovaginal (RIC 5-9A-FS). La fase del ciclo menstrual se registró según los hallazgos ecográficos y se registró el IMC.

Las fechas de las menstruaciones precedente y posterior se registraron (anterior el mismo día de la visita y posterior mediante correo electrónico) para registrar la LCM.

La AMH se midió utilizando kits de ensayo de quimioluminiscencia comercialmente disponibles (kit AMH B13127 de Beckman Coulter en el dispositivo ACCES2) (LOQ 0.02 ng/ml, coeficiente de variación interensayo < 5%; resultados expresados en ng/ml; valores femeninos normales entre 1.0 y 4.5).

PROTOCOLO DE ESTIMULACIÓN OVÁRICA

La estimulación gonadotrópica de los ovarios se inició el segundo día del ciclo. El fármaco y las dosis de gonadotropina se eligieron de manera individualizada según la edad y los marcadores de reserva ovárica, con un máximo de 300 UI/día indicado. A partir del quinto día, la gonadotropina se ajustó según la respuesta ovárica, evaluada mediante ecografía transvaginal secuencial y mediciones de estradiol sérico. La desensibilización hipofisaria con antagonista de GnRH (Cetrotide; 0.25 mg; Serono) se inició con un protocolo flexible (cuando E2 > 400 pg/ml y/o al menos un folículo medía \geq 14 mm de diámetro). Los criterios para indicar el trigger, cancelación del ciclo y clasificación embrionaria fueron los mismos que en el artículo uno. Para evitar el síndrome de hiperestimulación: se indicó realizar el trigger con agonista (Decapeptyl; 0.2 mg; Ipsen Pharma-Biotech) cuando se observaron 18 o más folículos >11 mm el último día de estimulación, y cuando se recuperaron 15 o más ovocitos, todos los embriones fueron congelados.

MEDIDAS DE RESULTADO

RESPUESTA OVÁRICA

La respuesta ovárica se categorizó en tres grupos: baja respuesta ovárica (ciclo cancelado o <4 ovocitos recuperados), respuesta normal (4-14 ovocitos recuperados) e hiperrespuesta (≥ 15 ovocitos recuperados).

PROBABILIDAD ACUMULADA DE RECIEN NACIDO VIVO

Se definió de igual forma que en artículo 1. Hubo dos casos en los que en el momento del análisis no se había conseguido nacido vivo, pero tenían aun embriones criopreservados, se consideraron como negativos.

ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

La descripción, asociación y comparación de variables se realizó igual que en estudio 1.

Las asociaciones de rAFC y LCM con los parámetros de reserva y respuesta ováricas se evaluaron mediante coeficientes de correlación. La capacidad de rAFC y LCM para predecir baja respuesta, hiperrespuesta y nacimiento vivo acumulado se evaluó mediante curvas características operativas del receptor. Se obtuvieron sensibilidad, especificidad y el área bajo la curva (AUC) para los resultados basados en el índice de Youden.

Además, se utilizaron modelos de regresión logística univariada para predecir la probabilidad de ser una respondedora baja/hiper o lograr un nacimiento vivo, con rAFC, LCM, AMH, edad e IMC como covariables. Estos modelos se compararon utilizando intervalos de confianza (IC) del 95% para el AUC.

La consideración de significancia estadística y los paquetes estadísticos utilizados para el análisis fueron los mismos que para el artículo 1.

MATERIAL Y MÉTODOS

APROBACIÓN ÉTICA Y CONSENTIMIENTO PARA PARTICIPAR

Este estudio clínico se realizó de acuerdo con la Declaración de Helsinki para la Investigación Médica en Sujetos Humanos (Asociación Médica Mundial 2013). El protocolo del estudio fue aprobado por el Comité de Ética del Hospital Clínic de Barcelona (Número de Protocolo: HCB/2016/0969). Todos los sujetos proporcionaron su consentimiento informado por escrito para participar en el estudio.

RESULTADOS

ESTUDIO 1: ARTÍCULO PUBLICADO

RESPUESTA OVÁRICA (OBJETIVO 1)

De acuerdo con las categorías de respuesta ovárica predefinidas, en 173 pacientes se obtuvo una respuesta alta (6,3%), en 2003 (73,3%) una respuesta normal y en 555 (20,3%) una baja respuesta.

La Tabla I describe las características basales y de estimulación, la respuesta ovárica y los resultados de FIV/ICSI por ciclo iniciado por subgrupo de respuesta.

Tabla I: Características basales, estimulación ovárica y resultado de FIV/ICSI según respuesta ovárica (n=2731)				
	RESPUESTA			Valor P
	Baja n = 555 (20,3%) ¹	Normal n = 2003 (73,3%) ²	Alta n = 173 (6,3%) ³	
CARACTERÍSTICAS DE BASE				
Edad (años)	37,45±2,7	35,91 ± 3,2	34,58 ± 3,6	<0,001 ^{b*}
IMC (kg/m ²) ²	24,53 ± 4,4	24,09 ± 4,4	23,61 ± 4,5	0,4
Duración de la esterilidad (años)	4,51 ± 2,9	4,34 ± 2,6	3,90 ± 2,2	0,2
Causa esterilidad				0,001 ^{b*}
Semen de donante	21 (3,8)	61(3,0)	4(2,3)	
Factor masculino	156(28,3)	716(35,7)	73(42,2)	
Factor tubárico	48 (8,7)	151 (7,5)	11 (6,4)	
Endometriosis	97 (17,6)	196 (9,8)	8 (4,6)	
Origen desconocido	219 (39,7)	810 (40,4)	61 (35,3)	
PGT	11 (2,0)	69 (3,4)	16 (9,2)	
AFCaps	5,81 ± 4,1	12,09 ± 6,0	17,65 ± 6,5	0,000*
FSH basal (UI/L)	10,60 ± 4,6	8,10 ± 2,8	6,72 ± 1,7	<0,001*
E basal ₂ (pg/ml)	57,27 ± 44,9	52,83 ± 37,3	41,79 ± 27,8	<0,001*
ESTIMULACIÓN OVÁRICA				
Días hasta la frenación hipofisaria	14,51 ± 2,3	14,87 ± 2,2	14,88 ± 1,9	0,003 ^{1vs2}
Días de estimulación ovárica	9,98 ± 2,9	11,75 ± 1,7	11,56 ± 1,8	<0,001 ^{1vs2,1vs3}
UI totales de FSH	3002 ± 913	2665 ± 957	1908 ± 722	0,000*
Pacientes con hCG y recuperación de óvulos	268 (48,3)	2003 (100)	173 (100)	<0,001*
RESULTADO DE LA FIV/ICSI				
Número de ovocitos 2PN en el día 1 ^a	1,45 ± 0,9	4,81 ± 2,4	9,86 ± 3,7	0,000*
Número de embriones aptos para transferencia o criopreservación ^a	1,34 ± 0,7	3,39 ± 2,1	7,21 ± 4,6	0,000*
Número de transferencias de embriones realizadas ^a	0,41 ± 0,5	1,27 ± 0,6	1,74 ± 1,0	0,000*
SHO severo ^a	0(0)	21 (1,0)	3 (1,7)	0,5 ^b

Nota: Los valores son media ± desviación estándar o n(%), a menos que se indique lo contrario.
 IMC = índice de masa corporal; PGT = prueba genética preimplantacional; AFCaps = recuento de folículos antrales medido después de la supresión hipofisaria;
 FSH= hormona folicular estimulante; E2=estradiol; hCG=gonadotropina coriónica humana; 2PN=dos pronúcleos; SHO=síndrome de hiperestimulación ovárica;
^aLos valores son relativos al número de pacientes con recuperación de ovocitos.
 Los valores P son para la prueba de análisis de varianza (ANOVA) entre grupos, a menos que se indique lo contrario.¹Grupo de baja respuesta,²Grupo de respuesta normal,³Grupo de hiperrespuesta.
^bValores P para la diferencia entre grupos de la prueba χ^2 .
 Las comparaciones por pares se indican en superíndices: *Todas las comparaciones por pares p<0,05, cuando solo algunas comparaciones por pares alcanzan significancia estadística se indican.

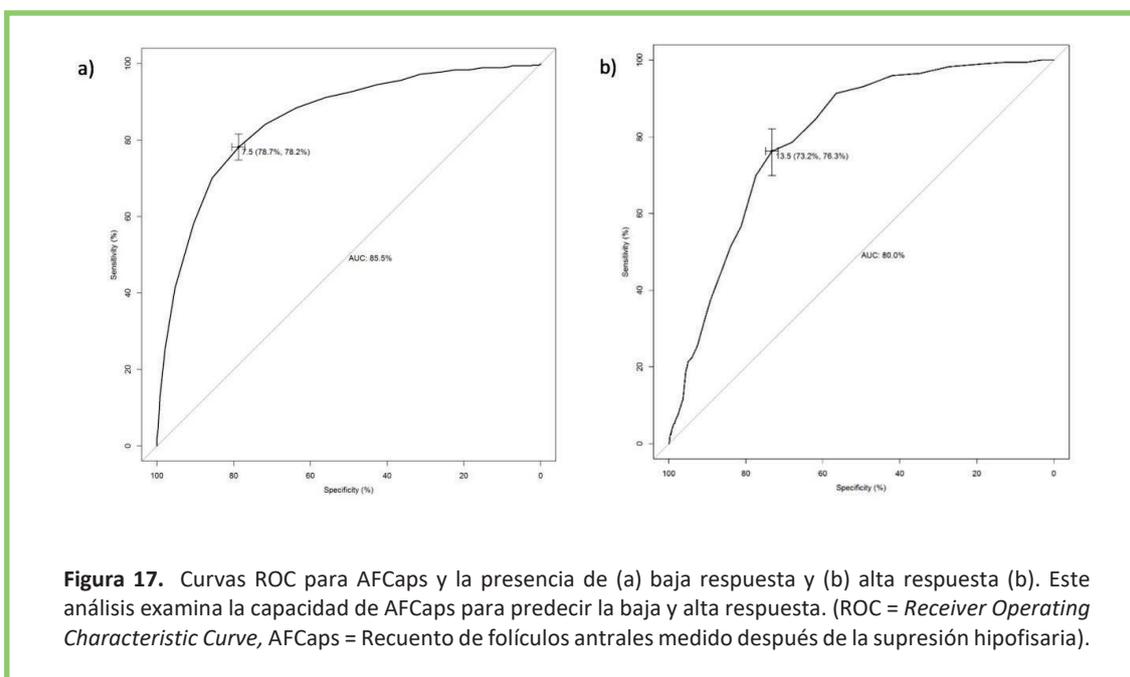
RESULTADOS

La cancelación del ciclo debido al crecimiento folicular insuficiente se produjo en 287 pacientes (51,7 % de las bajas respondedoras). En 24 pacientes se diagnosticó un cuadro de Síndrome de Hiperestimulación ovárica moderado/severo (0,8%), sin diferencias estadísticamente significativas en la prevalencia de SHO entre los grupos ($p=0,3$).

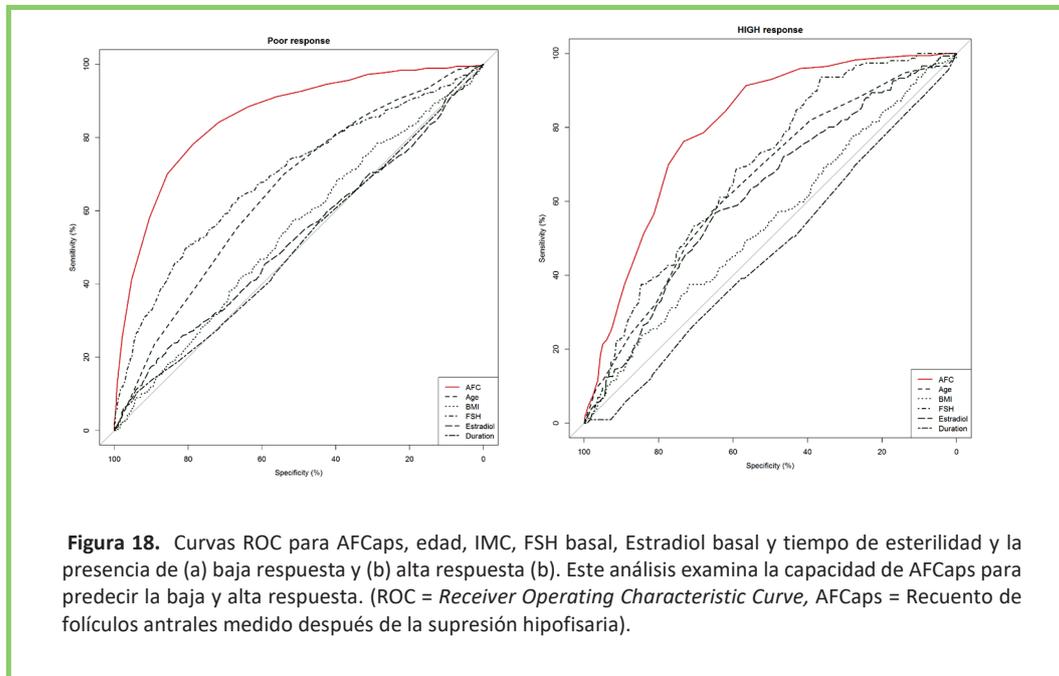
El presente estudio encontró una asociación positiva significativa entre AFCaps y la respuesta ovárica. La media \pm desviación estándar de AFCaps para respuesta baja, normal y alta fue de $5,81 \pm 4,1$, $12,1 \pm 6,0$ y $17,6 \pm 6,5$, respectivamente ($p < 0,001$).

Respecto a la precisión diagnóstica de AFCaps para discriminar entre ciclos de respuesta normal y baja, el AUC_{ROC} fue de 0,85 (IC del 95%: 0,83-0,87), estableciendo como punto de corte AFCaps < 8 , se detecta baja respuesta con una sensibilidad del 78,2% y una especificidad del 78,7%.

Cuando se analizó la probabilidad de respuesta alta, el AUC_{ROC} fue de 0,80 (IC del 95%: 0,77-0,83). El mejor valor de AFCaps para discriminar entre respuesta alta y respuesta normal fue > 13 (sensibilidad del 76,3%; especificidad del 73,2%) (Figura 17)



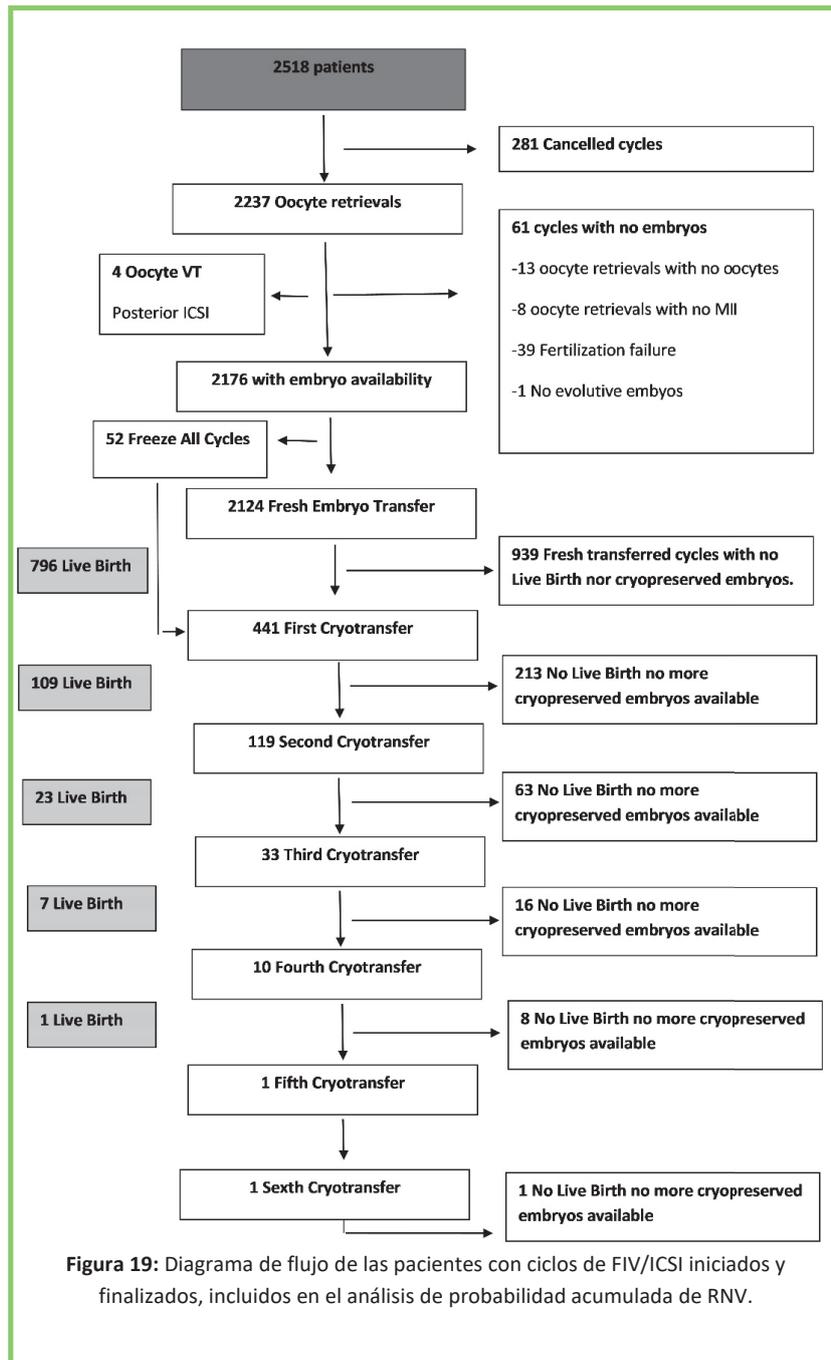
Ni la edad, ni las determinaciones basales de FSH y E2, mostraron una buena capacidad discriminatoria para la baja /alta respuesta, con $AUC_{ROC} < 0,7$ (0,65, 0,69 y 0,62 para la baja y 0,65, 0,68 y 0,62 respectivamente) (Figura 18)



PROBABILIDAD ACUMULADA DE RECIEN NACIDO VIVO (OBJETIVO 2)

De los 2518 ciclos incluidos en el análisis de la CLBR, un total de 942 pacientes lograron al menos un nacimiento vivo RNV (CLBR=37,4% por ciclo iniciado; 42,1% por punción; 43,3% por ciclo con al menos una transferencia embrionaria). Los CLBR aumentaron de manera constante con el número de ovocitos recuperados, alcanzando el 66,7% cuando se recuperaban 18 ovocitos. La figura 19 describe el diagrama de flujo de los ciclos analizados hasta su finalización (RNV / No hay más embriones disponibles).

RESULTADOS

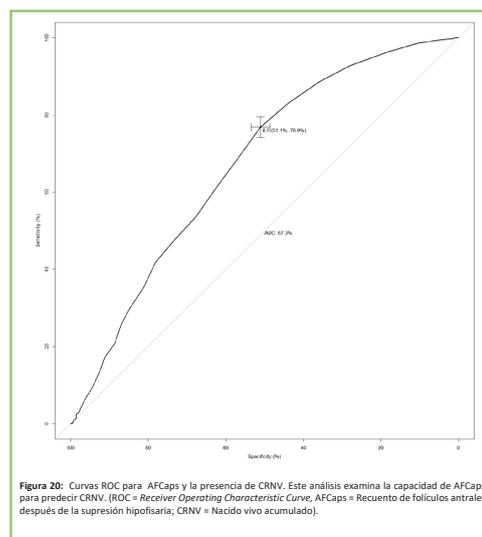


Las características basales, la estimulación ovárica y los resultados de la FIV/ICSI según si se consiguió o no un recién nacido vivo por ciclo se muestran en la tabla II.

Tabla II. Características basales, resultado de la estimulación ovárica y FIV/ICSI según nacido vivo acumulado en ciclos finalizados (n=2518)			
Variable	Nacimiento vivo n = 942 (37,4%)	Sin nacimiento vivo n = 1576 (62,6%)	Valor P
CARACTERÍSTICAS DE BASE			
Edad (años)	35,25 ± 3,08	36,80 ± 3,19	0,000
IMC (kg/m ²) ^a	23,82 ± 4,3	24,39 ± 4,6	0,006
Duración de la esterilidad (años)	4,19 ± 2,37	4,44 ± 2,68	0,045
Causa de esterilidad			0,001 ^c
Semen de donante	20(2,1)	62(3,9)	
Factor masculino	383(40,7)	517(32,9)	
Factor tubárico	63(3,7)	133(8,5)	
Endometriosis	94(10)	194(12,3)	
Origen Desconocido	382(40,6)	667(42,4)	
AFCaps	13,06 ± 6,05	9,79 ± 6,33	0,000
FSH basal (UI/L)	7,93 ± 2,65	8,96 ± 3,87	0,000
E basal ₂ (pg/ml)	51,74 ± 38,83	53,89 ± 39,05	0,227
ESTIMULACIÓN OVÁRICA			
UI totales de FSH	2480,09±896,68	2817,01±985,5	0,000
Pacientes con hCG y punción ovárica	942	1295	0,000
Número de ovocitos recuperados (rango) ^b	9,56 ± 4,22	7,54 ± 4,14	0,000
Número de ovocitos en metafase II ^b	7,94 ± 3,70	6,03 ± 3,76	0,000
RESULTADO DE LA FIV/ICSI			
Número de ovocitos 2PN en el día 1 ^b	5,67 ± 2,89	3,98 ± 2,76	0,000
Número de embriones aptos para transferencia o criopreservación ^b	4,33±2,65	2,76±2,14	0,000

Nota: Los valores son media ± desviación estándar o n(%), a menos que se indique lo contrario.
 IMC = índice de masa corporal; AFCaps = recuento de folículos antrales medidos después de la supresión hipofisaria; UI = Unidades internacionales
 FSH = hormona folículo estimulante; E2 = estradiol; hCG = gonadotropina coriónica humana; 2PN = dos pronúcleos;
^aDía de administración de hCG o día de cancelación. ^bLos valores son relativos al número de pacientes con recuperación de ovocitos.
 Los valores P son para la prueba de análisis de varianza (ANOVA) entre grupos, a menos que se indique lo contrario.
^cValores P para la diferencia entre grupos de la prueba χ^2 .

La mediana (±DE) de AFCaps fue estadísticamente mayor en las pacientes que alcanzaron RNV 13,6 ± 6,05 frente a 9,79 ± 6,33. Sin embargo, AFCaps demostró una precisión limitada para la predicción del CLBR (el AUC_{ROC} fue 0,67; IC del 95%: 0,65-0,69) (Figura 20).



Para analizar en profundidad la influencia de AFCaps en los resultados del ciclo de FIV/ICSI, se estratificó la población de pacientes según los cuartiles de AFCaps (≤6, 7-10, 11-14 y ≥15) (Tabla III). La mediana del número de ovocitos recuperados y embriones disponibles para transferencia o criopreservación aumentó significativamente (p<0,001) en los cuartiles de AFCaps.

RESULTADOS

TABLA III. Resultado reproductivo por ciclo en relación a AFCaps estratificado en cuartiles en ciclos finalizados (n=2518)						
	Total	AFCaps			Valor p	
		≤6	7-10	11-14		≥15
Número de pacientes	2518	672	527	690	629	
Edad	32,22±3,24	37,37 ± 2,76	36,70 ± 3,00	35,99 ± 3,07	34,83 ± 3,52	0,000*
Pacientes con hCG y punción (%)	2237 (88,8)	444 (66,1)	484 (91,8)	681 (98,7)	628 (100)	
N de ovocitos recuperados (rango) ^a	8,39 ± 4,44	5,03 ± 2,93	7,14 ± 3,43	8,99 ± 3,74	11,17 ± 4,78	0,000*
N de ovocitos en metafase II ^a	6,84 ± 3,85	4,03 ± 2,44	5,80 ± 2,94	7,37 ± 3,51	9,04 ± 4,13	0,000*
N de embriones 2PN en el día 1 ^a	4,70 ± 2,93	2,74 ± 1,90	3,97 ± 2,30	5,13 ± 2,69	6,16 ± 3,27	0,000*
N pacientes con al menos una transferencia de embriones	2176	417	467	668	624	
N de embriones aptos para transferencia o criopreservación ^a	3,42 ± 2,49	2,16 ± 1,47	2,96 ± 1,84	3,62 ± 2,33	4,45 ± 3,12	0,000*
N de transferencias de embriones realizadas/ciclo	1,09 ± 0,70	0,68 ± 0,59	1,06 ± 0,60	1,27 ± 0,66	1,34 ± 0,72	0,000*
Embarazo clínico acumulado (n/% por ciclo iniciado)	1134 (45)	138 (20,5)	228 (43,3)	379(54,9)	389 (61,8)	0,000 ^{1 vs 2, 3, 4, 2 vs 1, 4}
N de ciclos con al menos un RNV (n)	942	107	191	311	333	
Tasa de RNV por ciclo iniciado	37,4	15,9	36,2	45,1	52,9	0,000*
Tasa de RNV por ciclo puncionado	42,1	24,1	39,5	45,7	53	0,000 ^{1 vs 2, 3, 4, 2 vs 1, 3 vs 4}
Tasa de RNV por ciclo con al menos una transferencia	43,3	25,7	40,9	46,6	53,4	0,000 ^{1 vs 2, 3, 4, 2 vs 1, 4}

Nota: Los valores son media ± desviación estándar o n(%), a menos que se indique lo contrario.

N = Número; AFCaps = recuento de folículos antrales después de la supresión hipofisaria; 2pn = 2 pronúcleos; RNV = recién nacido vivo

¹Grupo AFC ≤6 gr, ²Grupo AFC 7-10, ³Grupo AFC 11-14, ⁴Grupo AFC ≥ 15. *Todas las comparaciones por pares p<0,05, cuando sólo algunas comparaciones por pares alcanzan significación se indica.

^aLos valores son relativos al número de pacientes con recuperación de ovocitos.

Los valores P son para la prueba A1.G23a de análisis de varianza (ANOVA) entre grupos, a menos que se indique lo contrario.

El CLBR por ciclo iniciado alcanzó diferencias significativas referencias para todas las comparaciones por pares de los cuartiles de AFCaps (15,9 %, 36,2 %, 45,1 % y 52,9 % para los cuartiles 1º, 2º, 3º y 4º de AFCaps, respectivamente).

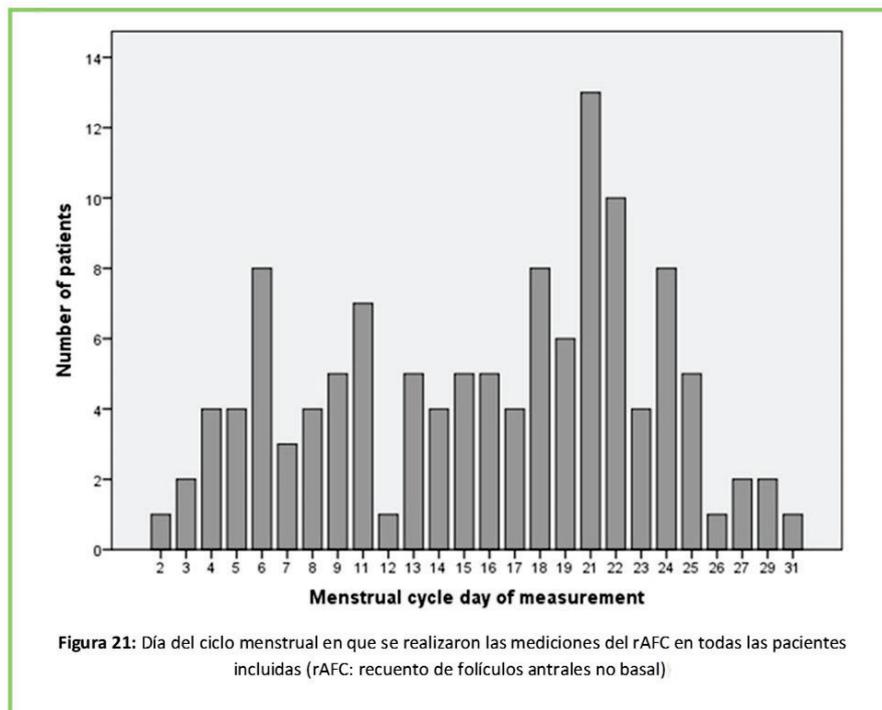
Para controlar las posibles variables de confusión que podrían haber cambiado durante el largo período de estudio, realizó un análisis de regresión logística multivariante. Estimar el OR de CLBR para los cuartiles de AFCaps ajustando por edad, año de estimulación, dosis total de gonadotropinas y técnica de criopreservación embrionaria. Los resultados muestran que ninguna de las variables de ajuste ejerció efecto sobre los resultados.

Tabla IV. Análisis de regresión logística de los cuartiles de AFCaps para CLB.		
n=2518	OR ajustado	IC del 95%
AFCaps ≤6	1	
AFCaps 7-10	2,313	1,76-3,03
AFCaps 11-14	2,276	1,68-3,07
AFCaps ≥15	2,504	1,90-3,54
Edad	0,801	0,86-0,92

AFCaps=Recuento de folículos antrales medidos después de la supresión hipofisaria; CLB=Tasa acumulada de nacimientos vivos
Ajustado por edad, año de estimulación, dosis total de gonadotropinas y técnica de criopreservación

ESTUDIO 2: ARTÍCULO PENDIENTE DE PUBLICACIÓN

En las 122 pacientes incluidas, el 42,6% fueron estudiadas en fase folicular (sólo el 5,7% en fase folicular precoz estandarizada) y el 57,4% en fase lútea (Figura 21).



RESPUESTA OVÁRICA (OBJETIVOS 3 Y 4)

De acuerdo con las categorías de respuesta ovárica predefinidas, en 16 pacientes se obtuvo una respuesta alta (13,1%), en 79 (64,8%) una respuesta normal y en 27 (22,1%) una respuesta baja. La cancelación del ciclo debido a un crecimiento folicular insuficiente ocurrió en 9 pacientes (33,3% de las pacientes con baja respuesta).

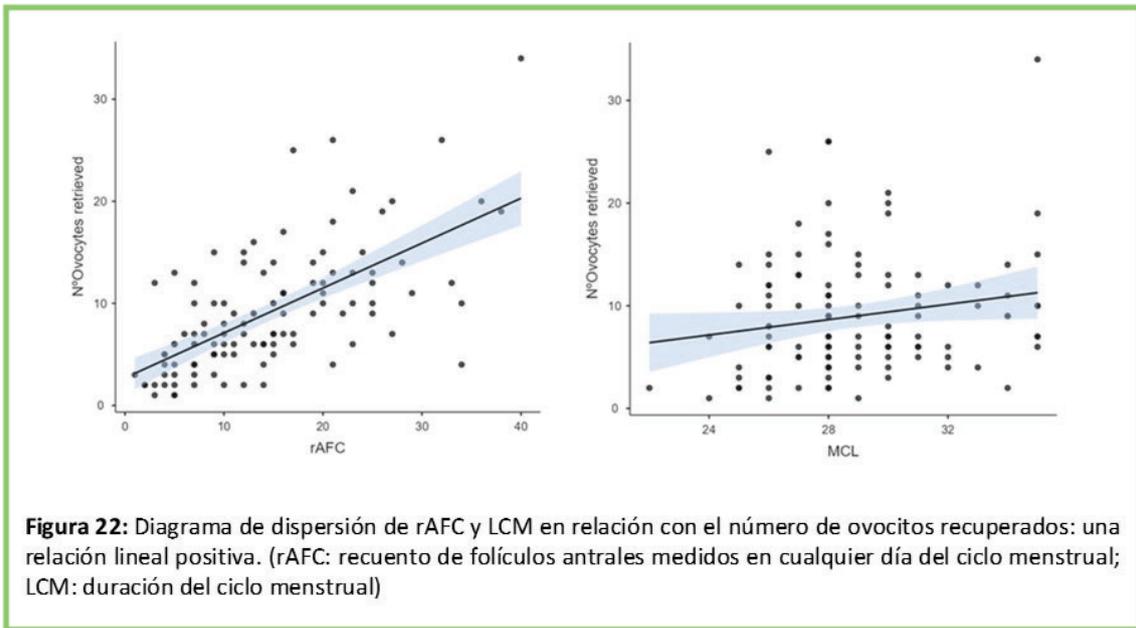
La Tabla V describe las características basales y de estimulación, la respuesta ovárica y los resultados de FIV/ICSI por ciclo iniciado por subgrupo de respuesta. Los grupos de respuesta ovárica difirieron significativamente en el LCM, rAFC y AMH.

RESULTADOS

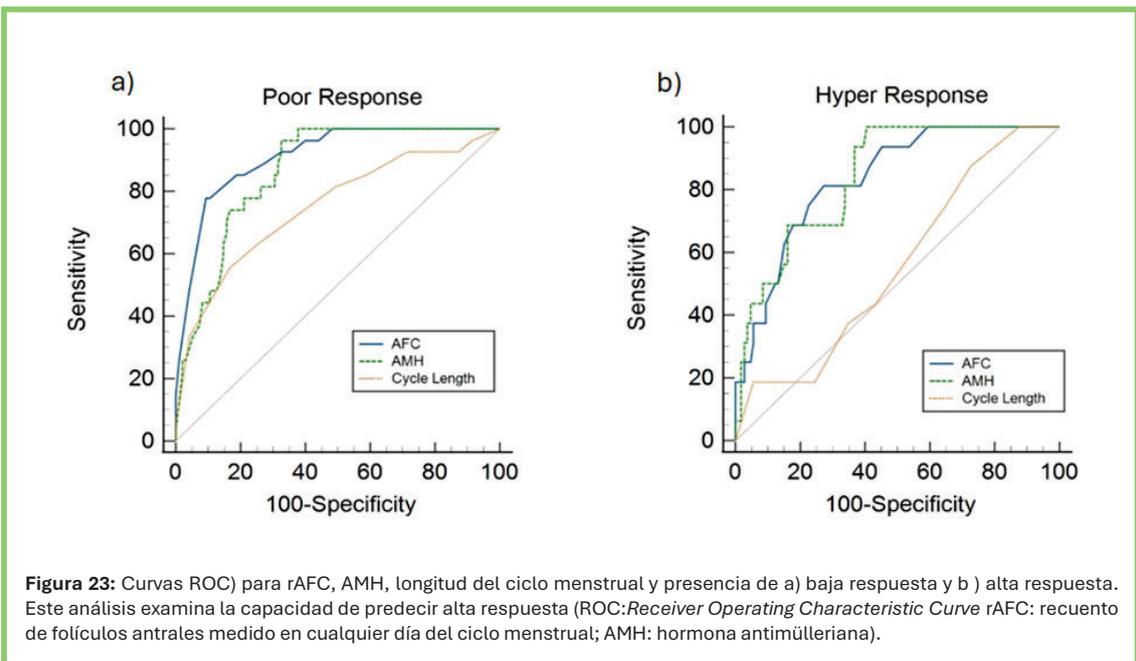
Tabla V: Características basales, estimulación ovárica y resultado de FIV/ICSI según respuesta ovárica (n=122)					
Variable	Respuesta			Total n = 122	Valor P
	Baja ¹ n = 27 (22,1%)	Normal ² n = 79 (64,8%)	Alta ³ n = 16 (13,1%)		
CARACTERÍSTICAS DE BASE					
Edad (años)	36,37 ± 3,87	35,04 ± 3,52	33,56 ± 4,24	35,14 ± 3,76	NS
IMC (kg/m ²) ²	22,79 ± 2,68	24,17 ± 4,04	23,66 ± 4,03	23,80 ± 3,80	NS
Duración de esterilidad (años)	6,19 ± 2,59	5,56 ± 2,69	5,19 ± 3,31	5,65 ± 2,69	NS
Causa esterilidad					NS ^b
Origen Desconocido	14(51.9)	34(43)	8(50)	56(45,9)	
Factor masculino	10(37)	31(39.2)	6(37,5)	47(38,5)	
Factor tubárico	2(7.4)	10(12.7)	1(6.3)	13(10.7)	
Endometriosis	1(3.7)	1(1.3)	0(0)	2(1.6)	
PGT	0(0)	3(3.8)	1(6.3)	4(3.3)	
Longitud del ciclo menstrual	26,85 ± 3,03	29,28 ± 2,78	29,38 ± 3,05	28,75 ± 3,03	<0,05 ^{1 vs 2, 1 vs 3}
Día del ciclo de las determinaciones	15,89 ± 7,21	15,46 ± 7,18	18,89 ± 6,61	16,00 ± 7,15	NS
AMH	0,49 ± 0,38	1,93 ± 1,61	3,95 ± 2,11	1,88 ± 1,80	0.000*
rAFC	5,07 ± 3,14	14,32 ± 7,565	23,44 ± 9,33	13,47 ± 8,89	0.000*
ESTIMULACIÓN OVÁRICA					
Días de estimulación ovárica	9,56 ± 2,83	10,68 ± 1,92	11,00 ± 1,83	10,48 ± 2,18	NS
UI totales de FSH	3258,33 ± 1309,21	2638,55 ± 982,07	1895 ± 583,97	2678,27 ± 1090,61	<0,05*
Pacientes con hCG y punción	18(66,7)	79(100)	16(100)	113(92.6)	0,000b
Número de ovocitos recuperados ^a	2,17 ± 0,71	8,24 ± 3,03	20,06 ± 5,32	8,95 ± 5,97	0.000*
Número de ovocitos en metafase II ^a	1,72 ± 0,75	6,62 ± 2,74	16,81 ± 4,75	7,28 ± 5,16	0.000*
RESULTADO DE LA FIV/ICSI					
Número de ovocitos 2PN en el día 1 ^a	0,94 ± 0,80	4,63 ± 2,40	11,25 ± 3,17	4,98 ± 3,71	0.000*
Número de embriones aptos para transferencia o criopreservación ^a	0,94 ± 0,80	3,18 ± 2,03	7,00 ± 3,63	3,36 ± 2,75	0.000*
Numero de ciclos con algun RNV (n)	1	35	15	51	
Tasa RNV por ciclo iniciado (%)	3.7	44.3	93,75	41.8	0,000b
Tasa RNV por ciclo puncionado (%)	5.55	44.3	93,75	45.13	0,000b

Nota: Los valores son media ± desviación estándar o n(%). NS = no significativo
rAFC=recuento de folículos antrales medidos en cualquier día del ciclo; AMH=hormona antimülleriana; IMC=índice de masa corporal; PGT=test genético preimplantacional
hCG= gonadotropina coriónica humana; 2PN= dos pronúcleos; FSH: Hormona folículo estimulante FIV/ICSI; Fecundación In Vitro/ Inyección intracitoplasmática del espermatozoide; RNV: recién nacido vivo
^aLos valores son relativos al número de pacientes con recuperación de ovocitos.
Los valores P corresponden a la prueba de análisis de varianza (ANOVA) entre grupos, a menos que se indique lo contrario. 1 Baja Respuesta. 2 Respuesta normal. 3 Alta Respuesta
^bValores P para la diferencia entre grupos de la prueba y 2.
Las comparaciones por pares se indican en superíndices: *Todas las comparaciones por pares p<0,05. Cuando solo algunas comparaciones por pares alcanzan significación estadística, se indican.

AFC y LCM presentaron una correlación positiva significativa con el número total de ovocitos recuperados ($r=0,65$ y $0,19$) (Figura 22) y también se correlacionaron con los marcadores de reserva ovárica y todos los parámetros de respuesta ovárica.



La precisión diagnóstica del rAFC para discriminar entre ciclos de respuesta normal y pobre fue excelente. El AUC_{ROC} fue de 0,91 (IC del 95%: 0,84-0,95) con un punto de corte óptimo de ≤ 5 , la sensibilidad y especificidad de este modelo fue del 77,8% y del 90,5%, respectivamente. La AMH y el LCM también mostraron un buen poder predictivo, AUC_{ROC} 0,86 (IC del 95%: 0,79-0,92) y AUC_{ROC} 0,75 (IC del 95%: 0,66-0,82), respectivamente, mientras que el valor predictivo de la edad y el IMC fue débil (Figura 23a)



RESULTADOS

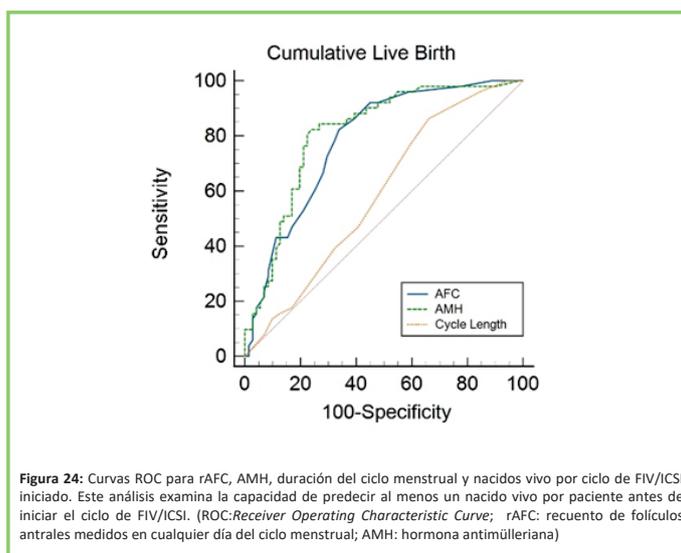
Cuando se analizó la probabilidad de respuesta alta, el AUC_{ROC} fue 0,83 (IC del 95%: 0,76-0,89), el mejor punto de corte para que el rAFC discrimine entre respuesta alta y normal fue >15 (sensibilidad 81,25%; especificidad 72,64%). La AMH también demostró una buena precisión con un AUC_{ROC} de 0,84, mientras que la LCM, la edad y el IMC fallaron como predictores (Figura 23b)

PROBABILIDAD ACUMULADA DE RECIEN NACIDO VIVO (OBJETIVOS 5 Y 6)

En total, 51 pacientes consiguieron al menos un nacido vivo (CLBR=41,8% por ciclo iniciado; 45,1% por ciclo puncionado).

Las pacientes con RNV presentaron un rAFC y AMH significativamente mayor a las que no ($18,08 \pm 8,2$ vs $10,1 \pm 7,9$ y $2,87 \pm 1,9$ vs $1,16 \pm 1,3$), sin embargo no hubo diferencias en la LCM ($29,2$ vs $28,4$).

El rAFC y la AMH demostraron una buena precisión para la predicción del CLBR (AUC_{ROC} 0,78; IC del 95 % 0,70-0,85 y AUC_{ROC} 0,81; IC del 95 % 0,73-0,87, respectivamente). Los demás marcadores fallaron como predictores del CLBR (Figura 24).



En la Tabla VI se compara la capacidad predictiva de varios marcadores de reserva ovárica para la baja respuesta, la hiperrespuesta y el CLBR. Para predecir la respuesta baja, el rAFC, la AMH y el LCM sirven como marcadores válidos, mientras que para la hiperrespuesta y el CLBR, solo el rAFC y la AMH demostraron eficacia.

Tabla VI: Análisis de regresión logística para marcadores de reserva ovárica como predictores de respuesta y nacimiento acumulado por ciclo			
	OR (IC del 95%)	p - valor	AUC _{ROC} (IC del 95%)
Predictores de baja respuesta			
rAFC	0,654 (0,542-0,790)	<0,001	0,91 (0,85-0,95)
AMH	0,125 (0,045-0,353)	<0,001	0,86 (0,79-0,92)
Longitud del ciclo menstrual	0,699 (0,569-0,859)	<0,001	0,75 (0,66-0,82)
Edad	1,155 (0,995-1,340)	NS	0,66 (0,57-0,74)
IMC	0,902 (0,791-1,028)	NS	0,58 (0,49-0,67)
Predictores de hiperrespuesta			
rAFC	1.148(1.074-1.227)	<0,001	0,83 (0,76-0,89)
AMH	1.834(1.360-2.74)	<0,001	0,84 (0,75-0,90)
Longitud del ciclo menstrual	1.097(0.911-1.279)	NS	0,56 (0,47-0,65)
Edad	0,896 (0,793-1,013)	NS	0,64 (0,55-0,73)
IMC	0,989 (0,859-1,139)	NS	0,52 (0,43-0,60)
Predictores de al menos un RNV por ciclo			
rAFC	1.127(1.078-1.068)	<0,001	0,78 (0,70-0,85)
AMH	2.058(1.498-2.810)	<0,001	0,81 (0,73-0,88)
Longitud del ciclo menstrual	1.100(0.974-1.242)	NS	0,59 (0,49-0,67)
Edad	0,911 (0,825-1,007)	NS	0,61 (0,52-0,70)
IMC	0,964 (0,875-1,062)	NS	0,52 (0,43-0,61)
<small>OR= Razon de probabilidades; rAFC= recuento de folículos antrales medido en cualquier día del ciclo; AMH=anti-Mhormona luteriana; IMC= índice de masa corporal IC=Intervalo de confianza; RNV=recien nacido vivo por ciclo AUC_{ROC}=área bajo la curva "receiver operating characteristic"; NS=no significativo</small>			

DISCUSIÓN

En la presente tesis se estudian diversos marcadores de la reserva ovárica clínicos, hormonales y ecográficos, evaluando su eficacia como predictores de respuesta a la estimulación ovárica y de recién nacido por ciclo de fecundación in vitro. Los objetivos de la tesis se centran en evaluar la eficacia de marcadores poco analizados en la literatura previa, junto con los que se utilizaban en la práctica clínica habitual de nuestro centro en el momento de realizar los estudios:

- En el primer estudio el recuento de folículos antrales medido en el control de frenación hipofisaria tras dos semanas de tratamiento con agonistas de la GnRH, junto con las determinaciones basales de FSH y E2.
- En el segundo estudio el recuento de folículos antrales medido en cualquier fase del ciclo menstrual y la longitud del ciclo menstrual, junto con la AMH.

MARCADORES DE RESERVA OVÁRICA COMO PREDICTORES DE RESPUESTA.

AFC valorado tras frenación hipofisaria

En el primer trabajo que compone esta tesis, que incluye un importante número de pacientes se someten a FIV/ICSI siguiendo un protocolo largo con agonista de GnRH, se demuestra que el AFCaps está fuertemente relacionado con la respuesta ovárica en ciclos de fecundación in vitro iniciados (incluyendo los que se cancelan y no llegan a punción ovárica). La precisión del AFCaps para predecir la respuesta ovárica es excelente, estos resultados refuerzan su uso para optimizar la estimulación ovárica y minimizar sus riesgos.

Nuestros hallazgos coinciden con estudios prospectivos pequeños previos que evaluaron la relación entre AFCaps y el número de ovocitos recuperados, así como su eficacia en la predicción de una respuesta ovárica baja [72–74]. A pesar del diseño

DISCUSIÓN

retrospectivo de nuestro estudio, el gran tamaño muestral dota de gran potencia estadística a nuestros resultados, por tanto, permite llevar a la conclusión de que, como una prueba única, el AFCaps tiene una gran precisión en la predicción de una respuesta ovárica baja.

Nuestro trabajo, es el primero en evaluar la capacidad del AFCaps para predecir una hiperrespuesta. En la práctica clínica, este hallazgo podría implicar una mejora en la seguridad del protocolo largo con agonista de GnRH, cuando se elige este protocolo a pesar de las directrices de ESHRE, permitiendo al médico aplicar estrategias para reducir/evitar el riesgo de síndrome de hiperestimulación ovárica (OHSS) cuando se encuentra un AFC en el control de inhibición hipofisaria alto: realizar la estimulación con dosis bajas de gonadotropinas, cancelar el ciclo o realizar la maniobra descrita en la literatura como “rescate de antagonistas “ [83–86] que consiste en realizar un cambio de análogo de la GnRH durante la estimulación, sustituyendo el agonista por el antagonista, permitiendo incluso realizar el trigger con agonista si el cambio se ha realizado 4-6 días antes del trigger.

Nuestros resultados confirman el discreto valor predictivo de la edad y las determinaciones basales de FSH/E2 en la predicción de respuesta en FIV/ICSI, que ya ha sido ampliamente aceptada en la literatura y por sociedades científicas del mundo de la reproducción.

Una limitación de este estudio es la falta de datos sobre marcadores de reserva ovárica considerados "gold standard", como AFC basal y AMH. El AFCbasal no está registrado en nuestra base de datos y la determinación de la hormona AMH como estudio previo al ciclo de FIV/ICSI, no se inició en nuestro centro hasta el año 2019. No obstante, en los pocos ciclos en los que estos datos estaban disponibles, nuestro marcador a estudio, el AFCaps presentó una correlación significativa con ellos.

Otra limitación de este primer estudio, en la evaluación de la respuesta a la hiperestimulación ovárica controlada, viene determinada por diseño retrospectivo y el largo periodo de estudio. Durante los 10 años de ciclos de FIV/ICSI incluidos, se han producido varios cambios en los protocolos de estimulación de nuestra unidad. Así, en

los primeros años de estudio, en nuestro centro el 90% de los ciclos se realizaban bajo un protocolo largo de agonista, mientras que en el 2020 (último año de análisis) menos del 20% de los ciclos se realizaban con este protocolo, los tipos y dosis máxima de gonadotropinas (primeros años dosis máxima de 450 UI, después de 300UI). Esto puede implicar un sesgo de selección, dado que en primeros años prácticamente todas las pacientes se incluían en el estudio, mientras que en los últimos años solo las de peor pronóstico (menor reserva ovárica). No obstante, el 72% de los casos incluidos en el estudio son de los primeros 5 años (previo al switch agonista-antagonista y la disminución en la dosis máxima de estimulación).

AFC medido independientemente fase del ciclo

En el segundo estudio que conforma esta tesis, se demuestra que el recuento de folículos antrales medido en cualquier momento del ciclo es un excelente predictor de respuesta ovárica en ciclos de FIV/ICSI. Nuestros hallazgos muestran que realizando el AFC en cualquier momento del ciclo (no necesariamente en fase folicular precoz) se relaciona con el número de ovocitos que se obtienen en FIV/ICSI y por tanto, este marcadores sencillo, con resultado inmediato y económico (todo especialista en reproducción dispone de un ecógrafo) pueden servir como herramienta para planificar el tratamiento, informar del pronóstico y del riesgo de complicaciones.

Estudios que evalúan la variabilidad del AFC dentro de un mismo ciclo han mostrado una variación significativa en el número de folículos antrales, alcanzando un 30% entre la fase folicular y lutea [66], principalmente relacionada con diferencias en el tamaño de los folículos más grandes (6-10 mm) y en pacientes con recuentos elevados [64,87]. Sin embargo, esta variabilidad no parece afectar su validez clínica[87]. Dos estudios que evaluaron la capacidad del rAFC para predecir la baja respuesta [66,88] y dos estudios adicionales sobre la predicción de una buena respuesta (definida como >10 y >6 ovocitos) [89,90] mostraron un buen resultado.

Nuestro estudio, es por tanto el primero en examinar de manera prospectiva la capacidad del rAFC para predecir una respuesta ovárica extrema, utilizando los puntos

DISCUSIÓN

de corte estandarizados para el número de ovocitos recuperados, es decir, <4 para una baja respuesta y ≥ 15 para una hiperrespuesta.

Una posible limitación de nuestro estudio es que todas las mediciones del rAFC fueron realizadas por un solo especialista experimentado en FIV/ICSI, debido a la variabilidad interobservador reportada en varios estudios. Aunque esto podría afectar la validez externa de nuestros resultados, esta variabilidad interobservador se ha considerado clínicamente irrelevante para los propósitos de predicción de la respuesta a la estimulación [68,91].

Otra limitación podría ser el número de pacientes incluidas, pero esta “n” ha sido suficiente para encontrar resultados estadísticamente significativos y AUC_{ROC} que ponen en relieve una capacidad discriminatoria excelente ($>0,8$)

Longitud del Ciclo Menstrual

En el segundo estudio que conforma esta tesis, demuestra que la longitud del ciclo menstrual son fuertes predictores de una baja respuesta ovárica en ciclos de FIV/ICSI. Nuestros hallazgos muestran que valores de LCM más cortos se asocian con un menor número de ovocitos, por tanto, estos marcadores sencillos, con resultado inmediato y auto evaluable por la propia paciente, puede servir como herramienta de detección para la baja reserva ovárica.

Un metaanálisis publicado en el 2020 por el grupo del profesor Fauser evaluaba la asociación de la LCM con los marcadores de reserva ovárica concluyendo que la LCM en mujeres con ciclos regulares estaba estrechamente relacionada con los marcadores de reserva ovárica [41], y que el acortamiento de la LCM podía ser empleado como un signo temprano y sutil de envejecimiento ovárico.

Solo tres estudios han evaluado la asociación entre la LCM y el número total de ovocitos recuperados, describiendo una relación lineal entre la LCM y el número de ovocitos obtenidos[44,92,93]. Al analizar nuestros datos según la categorización de la LCM en los mismos tres grupos que clasificaba el metaanálisis mencionado anteriormente, también se observa esta tendencia. Así, el número promedio de ovocitos recuperados en ciclos cortos (21-27 días), normales (28-31 días) y largos (32-35 días) fue de 7.94 ± 5.65 , 9.09

± 5.79 y 10.30 ± 6.95 , respectivamente, aunque las diferencias no alcanzaron significancia estadística ($p=0.36$), probablemente debido al bajo número de pacientes incluidas.

No obstante, la longitud del ciclo menstrual fue un excelente predictor de baja respuesta. La media de la longitud del ciclo en las pacientes que presentaron una respuesta pobre fue significativamente inferior a las pacientes con reserva normal y alta (26.85 ± 3.03 ; 29.28 ± 2.78 y 29.38 ± 3.05).

La relación entre los ciclos menstruales largos y la hiperrespuesta no ha sido explorada previamente. Si el aumento de AMH y AFC se asocia con un aumento promedio de la LCM [41,42], una LCM alargada debería poder predecir una hiperrespuesta. Nuestro estudio no encontró una diferencia significativa en la LCM entre los grupos de respuesta normal e hiperrespuesta, y la LCM no fue capaz de predecir una respuesta alta. Es probable que nuestro estudio no tuviera suficiente poder estadístico para determinar esta asociación, por lo que se necesitan estudios futuros con más pacientes.

Otra debilidad en la interpretación de los resultados de este marcador es la variabilidad interciclo, especialmente cuando depende de la información subjetiva proporcionada por la mujer. Los informes autodeclarados pueden llevar a un error en la determinación del MCL (corto, normal o largo) en el 21% de los casos, este estudio sugería que al menos 2 ciclos de seguimiento eran necesarios para estimar el MCL habitual de una mujer [94]. Cierta variabilidad interciclo en mujeres con ciclos regulares en edad reproductiva es normal [38], y se considera fisiológico, en mujeres con ciclos regulares, una variación interciclo de $2,7 \pm 1.6$ días [95]. Las variaciones en la longitud del ciclo se determinan principalmente por la fase folicular, siendo la fase lútea mucho menos variable. Esta variabilidad de la LCM entre ciclos es menor entre los 20-40 años.

Para tratar de reducir la influencia de la variabilidad interciclo de la MCL en nuestro estudio, solo mujeres con ciclos regulares fueron incluidas, no se incluyeron rangos de edad cercanos a la menarquia /menopausia (el rango de edad de las pacientes incluidas fue entre 21-40 años) y la LCM fue documentada por los propios investigadores. Además, se excluyeron del análisis las pacientes cuyos hallazgos ecográficos no coincidían con la duración del ciclo (asumiendo una fase lútea de 12-14 días).

AFC valorado tras frenación hipofisaria

En el primer trabajo que compone esta tesis, que incluye un importante número de pacientes se someten a FIV/ICSI siguiendo un protocolo largo con agonista de GnRH se demuestra que el AFCaps está fuertemente relacionado con la probabilidad de lograr un nacimiento vivo en ciclos de fecundación in vitro iniciados (incluyendo los cancelados que no llegan a punción ovárica) y finalizados (se han agotado todos los embriones o se ha conseguido al menos un RNV). Aunque la precisión del AFCaps para el éxito del ciclo, en términos de nacimientos vivos acumulados por ciclo (CLBR) fue modesta. Estos resultados implican que AFCaps no puede utilizarse como un marcador aislado para predecir el éxito de la FIV/ICSI.

El papel de los marcadores de reserva ovárica en la predicción de CLBR ha sido poco explorado en la literatura [75,76,96–98]. Hasta donde sabemos, este estudio es el primero en evaluar la probabilidad de un nacimiento vivo acumulado por ciclo de FIV/ICSI iniciado y finalizado para este marcador de reserva ovárica.

La definición de CLBR empleada en estudios que han evaluado otros marcadores de reserva ovárica previamente varía; el grupo de Hamdine utilizó todos los tratamientos realizados dentro de un año después de iniciar la TRA (incluyendo más de un ciclo) como denominador, mientras que Arce solo incluyó las transferencias de embriones congelados (FET) realizadas dentro del año posterior al inicio del tratamiento (no ciclos realmente finalizados). Solo Arce analizó el CLBR por ciclo iniciado, mientras que otros autores lo hicieron por ciclo puncionado. Además, algunos estudios solo incluyeron a pacientes con buen pronóstico [8,9].

También es importante destacar, que cuando se comparan resultados por ciclo de FIV/ICSI, se ha de tener en cuenta el planteamiento del tipo de estimulación. Si bien, la corriente general es plantear la estimulación que permita obtener el máximo número de ovocitos de una forma segura, hay grupos (fundamentalmente países nórdicos en los que las políticas para las TRA subvencionadas son muy diferentes) en los que las

estimulaciones son más suaves, son los grupos que suelen plantear el análisis del CLBR por tiempo desde inicio de TRA, en lugar de por ciclo.

Las fortalezas del diseño de nuestro estudio incluyen la ausencia de sesgo de selección, ya que se incluyeron todas las pacientes que iniciaron su primer ciclo de FIV/ICSI (independientemente de su pronóstico), el análisis del pronóstico real del ciclo, incluyendo todos los ciclos iniciados (no solo los aspirados) y datos reales de CLBR (no estimados) considerando solo ciclos finalizados (todos los embriones disponibles transferidos) en el análisis. Con el largo seguimiento de nuestra cohorte, los CLBR no fueron subestimados; la mayoría de las pacientes utilizaron todos sus embriones supernumerarios.

En nuestro análisis, aunque el CLBR aumenta significativamente entre los cuartiles de AFCaps, el AFCaps mostró una capacidad modesta para discriminar entre las pacientes que lograron un nacimiento vivo y las que no, a pesar de analizar los ciclos en CLBR por ciclos iniciados y realmente finalizados. Nuestros resultados, están en línea con los estudios previos que han evaluado otros marcadores de reserva (FSH basal, AFC basal y AMH) en la predicción del éxito de la FIV/ICSI [75,76,96–98] ; solo los modelos predictivos que integran múltiples variables en la FIV/ICSI han demostrado una alta precisión en la predicción de CLBR [99,100]

Sin embargo, en la evaluación del éxito de la FIV/ICSI en términos de embarazo y RNV, nuestro estudio tiene varias limitaciones, la mayoría relacionadas con el diseño retrospectivo y el largo periodo de estudio. Durante los 10 años de estudio, además de los cambios en los protocolos de estimulación (comentados en el apartado previo), se han producido cambios en el laboratorio de FIV/ICSI (uso de incubadores “time lapse”, paso de congelación lenta a vitrificación embrionaria (switch en año 2013), cultivo a blasto para transferencia electiva de un solo embrión. Para evaluar el efecto de estos posibles factores de confusión en el análisis de la relación entre el AFCaps y la CLBR, se realizó el modelo de regresión logística multivariante ajustando por estas posibles variables confusoras y la edad (el factor más importante relacionado con las probabilidades de embarazo/nacimiento vivo), la categoría de AFCaps (cuartil) siguió siendo un factor predictivo independiente para el CLBR.

DISCUSIÓN

AFC medido independientemente fase del ciclo

Este estudio es el primero en evaluar el recuento de folículos antrales medido en cualquier momento del ciclo como predictor de recién nacido vivo por ciclo iniciado y finalizado de FIV/ICSI, rAFC junto con la AMH, mostraron una buena capacidad predictiva para conseguir éxito en el ciclo de FIV/ICSI.

Un reciente metanálisis [101] que trató de reunir toda la evidencia disponible para evaluar si la AMH era capaz de predecir la CLBR, concluía que estaba claramente demostrado que el marcador de reserva ovárica estaba relacionado con la probabilidad de conseguir RNV en ciclo completo de FIV/ICSI, pero no podía utilizarse como único predictor para este resultado porque los datos publicados no eran suficientes para analizar este resultado. Nuestro trabajo aporta más datos sobre la relación entre los marcadores de reserva ovárica y el resultado del ciclo de FIV/ICSI (medido en términos de CLBR).

Nuestro estudio arroja resultados diferentes a los pocos y heterogéneos estudios que han evaluado el papel del AFC basal en la predicción del CLBR [75,96,98,102], que concluyeron que el poder predictivo de este marcador por si solo era insuficiente (AUC <0,7) y también al primer estudio que conforma la presente tesis. Si bien, el diseño prospectivo de este estudio marca una diferencia con todos los estudios previamente referidos, el limitado número de pacientes incluidas hace que nuestros resultados solo refuercen la relación cuantitativa entre marcadores de reserva ovárica y resultado de ciclo de FIV/ICSI, y que su capacidad predictiva de calidad deba confirmarse en estudios con mayor "n".

Longitud del Ciclo Menstrual

Este estudio es el primero en evaluar la longitud del ciclo menstrual como predictor de recién nacido vivo por ciclo iniciado y finalizado de FIV/ICSI. La LCM no mostró capacidad predictiva del resultado del ciclo medido en CLBR, ni tampoco se evidenciaron ciclos más cortos en mujeres que no conseguían RNV tras ciclo de FIV/ICSI vs las que si.

La longitud del ciclo menstrual como marcador de la vertiente cualitativa de la reserva ovárica ha sido infraevaluada en estudios previos, no obstante, el metanálisis del grupo de Fauser previamente referenciado apuntaba a que los ciclos cortos (21-27 días) presentaban una menor fecundabilidad en ciclos naturales y peores resultados en las medidas de resultados de FIV/ICSI en comparación con un MCL de 28-35 días [41].

Aunque los resultados de nuestro estudio no apuntan en la misma dirección que este metanálisis, la limitación del número de ciclos/pacientes analizados, no permite concluir la ausencia de relación entre LCM y resultado de FIV/ICSI.

Si bien es cierto, que la longitud del ciclo menstrual dista de ser un marcador de reserva ovárica establecido como el RFA basal o la AMH, presenta como gran ventaja ser un marcador muy fácil de medir, independiente de la variabilidad en su medición a las que están sujetas la AMH (diferentes kits) y AFC (dependiente de observador y resolución del ecógrafo). Este aspecto se pone en relieve cuando se compara la eficacia de los dos marcadores considerados “gold standard”, cuando los estudios que comparan ambos marcadores son multicéntricos (muchos observadores, ecógrafos diferentes) pero análisis de AMH centralizado los resultados de la AMH son superiores a los del AFC, sin embargo, cuando los estudios son unicéntricos (menos observadores en la medida ecográfica) el AFC es superior a AMH [91]. La existencia de un marcador tan fácilmente medible como la LCM, evitaría la dependencia de todos estos factores determinantes.

En el metaanálisis previamente referenciado[41], Younis afirmaba que el uso de herramientas simples y universales para evaluar la reserva ovárica en mujeres durante sus años reproductivos puede ayudar a aumentar su conciencia y guiarlas en sus decisiones de planificación familiar. Nuestro estudio apoya el uso de una LCM corta como marcador de reserva ovárica deficiente y muestra que el rAFC es una herramienta simple y ampliamente disponible para los ginecólogos, que puede ser otro marcador útil para asesorar a las mujeres que deseen tener hijos en el futuro a buscar consejo profesional cuando este conteo sea bajo.

IMPLICACIONES FUTURAS DE NUESTROS RESULTADOS

Marcadores de reserva ovárica y predicción respuesta

Nuestros estudios demuestran que el recuento de folículos antrales no medido en situación basal (fase folicular precoz), es un buen predictor de respuesta a la estimulación ovárica. Tanto si se evalúa tras dos semanas de frenación hipofisaria con agonistas de la GnRH en el curso de un protocolo largo de FIV/ICSI como si se mide independientemente de la fase del ciclo.

Aunque nuestros resultados deberían confirmarse en series prospectivas con mayor número de ciclos incluidos, parecen demostrar que la variabilidad en las mediciones del AFC en diferentes situaciones a la basal tienen escasa repercusión clínica.

A la espera de esos estudios, una revisión sistemática del tema podría llevar a cambiar las recomendaciones de las sociedades científicas que siguen recomendando que este marcador debe utilizarse en fase folicular precoz.

Marcadores de reserva ovárica y predicción acumulada de éxito en FIV/ICSI

Los resultados de nuestro segundo trabajo que reflejan como la AMH y el rAFC son excelentes predictores de CLBR deberían ser confirmados, en estudios prospectivos y con una definición de CLBR que incluya ciclos iniciados (no solo puncionados) y finalizados (todos los embriones transferidos).

Aunque que los estudios previos que evaluaban diferentes marcadores de reserva ovárica como predictores de resultado acumulado de FIV/ICSI, incluyendo el primer trabajo que forma parte de esta tesis, concluyen que los marcadores de reserva ovárica por si solos no presentan una buena capacidad discriminatoria entre las pacientes que conseguirán RNV/ciclo y las que no. Todos demuestran que la probabilidad de conseguir el éxito está claramente relacionada con los marcadores de reserva y la respuesta a la estimulación. Es decir, a mejor valor del marcador de reserva ovárica, mejor respuesta, por tanto, mayor número de embriones, mayor número de blasto y en definitiva mayor probabilidad de conseguir el embrión que dé lugar a RNV (euploide)[20].

Por tanto, aunque los marcadores de reserva ovárica no pueden utilizarse por si solos para predecir el éxito del ciclo, deberían incluirse en modelos predictivos que aúnan varias variables para predecir el éxito del ciclo previo a su inicio. Así, por ejemplo, McLernon demostró como en un modelo para predecir la probabilidad de RNV por ciclo, creado con datos provenientes del registro americano de reproducción asistida, las variables pretratamiento que influían en esta probabilidad eran la edad, el IMC y la AMH. Así, la probabilidad de una mujer de conseguir RNV/ciclo dependía del nivel de AMH, por ejemplo, una mujer con un nivel de AMH de 5 ng/mL tenía un 22% más de probabilidades de tener un nacimiento vivo en comparación con una mujer con un nivel de AMH de 2.5 ng/mL [103].

Marcadores de reserva y “fertility awareness”

Existe controversia sobre si los marcadores de reserva ovárica debieran utilizarse en mujeres en edad reproductiva no estériles, dado que no han demostrado ser predictores de fertilidad natural. Así la guía clínica americana sobre los marcadores de reserva ovárica del 2020 contraindica su uso en paciente no estéril [62] y expone que los marcadores de reserva ovárica no deberían de utilizarse para promover las técnicas de preservación de fertilidad.

Sin embargo, hay estudios que sugieren que, si las mujeres sintieran que su fertilidad es limitada, cambiarían sus planes de maternidad, incluyendo avanzar la búsqueda gestacional o acceder a técnicas de preservación de la fertilidad [104,105].

Si bien es cierto que la determinación de AMH o realizarse una AFC en fase folicular precoz no está al alcance de todas las mujeres en edad reproductiva (requiere de una analítica y una ecografía programada en un momento concreto del ciclo), la existencia de marcadores de reserva ovárica sencillos, simples, económicos y fácilmente disponibles, podrían ser útiles para que las propias mujeres o médicos/ginecólogos de atención primaria buscaran un adecuado asesoramiento reproductivo cuando estos marcadores estuvieran afectados. Demostrar que existen marcadores de reserva

DISCUSIÓN

ovárica de estas características que fueran eficaces podría tener un impacto en la fertilidad.

CONCLUSIONES

1. El recuento de folículos antrales medido tras frenación hipofisaria con agonistas de la hormona liberadora de gonadotropinas en un ciclo de estimulación ovárica bajo protocolo largo, es un excelente predictor de baja e hiperrespuesta en un ciclo de Fecundación in Vitro
2. Aunque el recuento de folículos antrales medidos en frenación hipofisaria con agonistas de la hormona liberadora de gonadotropinas en un ciclo de estimulación ovárica bajo un protocolo largo está relacionado con la probabilidad acumulada de tener un recién nacido vivo por ciclos de Fecundación in Vitro, su precisión para predecir este resultado es limitada
3. La longitud del ciclo menstrual es un excelente predictor de baja respuesta.
4. El recuento de folículos antrales valorado en cualquier momento del ciclo es un excelente predictor de baja e hiperrespuesta en un ciclo de Fecundación in Vitro.
5. El recuento de folículos antrales valorado en cualquier momento del ciclo, es buen predictor de la probabilidad acumulada de recién nacido vivo por ciclo de Fecundación in Vitro.
6. La longitud del ciclo menstrual no es buen predictor de la probabilidad acumulada de recién nacido vivo por ciclo de Fecundación In Vitro.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] Aronson JK, Ferner RE. Biomarkers—a general review. *Curr Protoc Pharmacol* 2017;2017:9.23.1-9.23.17. <https://doi.org/10.1002/cpph.19>.
- [2] Mcgee EA, Hsueh AJW. Initial and Cyclic Recruitment of Ovarian Follicles*. vol. 21. 2000.
- [3] Telfer EE, Grosbois J, Odey YL, Rosario R, Anderson RA. Making a good egg: human oocyte health, aging, and in vitro development. *Physiol Rev* 2023;103:2623–77. <https://doi.org/10.1152/physrev.00032.2022>.
- [4] Baerwald AR, Adams GP, Pierson RA. Ovarian antral folliculogenesis during the human menstrual cycle: A review. *Hum Reprod Update* 2012;18:73–91. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmr039>.
- [5] Bosch E, Broer S, Griesinger G, Grynberg M, Humaidan P, Kolibianakis E, et al. ESHRE guideline: ovarian stimulation for IVF/ICSI†. *Hum Reprod Open* 2020;2020. <https://doi.org/10.1093/HROPEN/HOAA009>.
- [6] Lambalk CB, Banga FR, Huirne JA, Toftager M, Pinborg A, Homburg R, et al. GnRH antagonist versus long agonist protocols in IVF: A systematic review and meta-analysis accounting for patient type. *Hum Reprod Update* 2017;23:560–79. <https://doi.org/10.1093/HUMUPD/DMX017>.
- [7] Toftager M, Bogstad J, Løssl K, Prætorius L, Zedeler A, Bryndorf T, et al. Cumulative live birth rates after one ART cycle including all subsequent frozen-thaw cycles in 1050 women: Secondary outcome of an RCT comparing GnRH-antagonist and GnRH-agonist protocols. *Human Reproduction* 2017;32:556–67. <https://doi.org/10.1093/humrep/dew358>.
- [8] Adamson GD, Zegers-Hochschild F, Dyer S. Global fertility care with assisted reproductive technology. *Fertil Steril* 2023;120:473–82. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2023.01.013>.
- [9] Fauser BCJM, Adamson GD, Boivin J, Chambers GM, Dyer S, de Geyter C, et al. Declining global fertility rates and the implications for family planning and family building: an IFFS consensus document based on a narrative review of the literature. *Hum Reprod Update* 2024;30:153–73. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmad028>.
- [10] Ayuso L, Fernandez H, Garcia S, Garcia-Ramos V, Cano M, Gil E, et al. Documento de Consenso sobre Natalidad y Salud Reproductiva en España: Hoja de ruta para una reproducción saludable y planificada 2024.
- [11] Optimizing natural fertility: a committee opinion. *Fertil Steril* 2022;117:53–63. <https://doi.org/10.1016/J.FERTNSTERT.2021.10.007>.
- [12] World Health Organization. Infertility prevalence estimates 2023. <https://www.who.int/publications/i/item/978920068315> (accessed July 28, 2024).
- [13] Sociedad Española Fertilidad. Documento de Consenso sobre Natalidad y Salud Reproductiva en España: Hoja de ruta para una reproducción saludable y planificada. 2024.

BIBLIOGRAFÍA

- [14] Macklon NS, Geraedts JPM, Fauser BCJM. Conception to ongoing pregnancy: the “black box” of early pregnancy loss. *Hum Reprod Update* 2002;8:333–43. <https://doi.org/10.1093/HUMUPD/8.4.333>.
- [15] Pirtea P, De Ziegler D, Tao X, Sun L, Zhan Y, Ayoubi JM, et al. Rate of true recurrent implantation failure is low: results of three successive frozen euploid single embryo transfers. *Fertil Steril* 2021;115:45–53. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2020.07.002>.
- [16] Gill P, Ata B, Arnanz A, Cimadomo D, Vaiarelli A, Fatemi HM, et al. Does recurrent implantation failure exist? Prevalence and outcomes of five consecutive euploid blastocyst transfers in 123 987 patients 2024. <https://doi.org/10.1093/humrep/deae040>.
- [17] Franasiak JM, Forman EJ, Hong KH, Werner MD, Upham KM, Treff NR, et al. The nature of aneuploidy with increasing age of the female partner: A review of 15,169 consecutive trophoctoderm biopsies evaluated with comprehensive chromosomal screening. *Fertil Steril* 2014;101:656-663.e1. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2013.11.004>.
- [18] Marca A La, Minasi MG, Sighinolfi G, Greco P, Argento C, Grisendi V, et al. Female age, serum antimüllerian hormone level, and number of oocytes affect the rate and number of euploid blastocysts in in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection cycles 2017. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2017.08.029>.
- [19] Marca A La, Capuzzo M, Longo M, Imbrogno MG, Spedicato GA, Fiorentino F, et al. The number and rate of euploid blastocysts in women undergoing IVF/ICSI cycles are strongly dependent on ovarian reserve and female age. *Hum Reprod* 2022;37:2392–401. <https://doi.org/10.1093/HUMREP/DEAC191>.
- [20] Sunkara SK. Number of oocytes and IVF outcomes: Real-world evidence. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2023;89:102341. <https://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2023.102341>.
- [21] Pedro J, Brand~ Ao C A, Costa ME, Martins M V. What do people know about fertility? A systematic review on fertility awareness and its associated factors n.d. <https://doi.org/10.1080/03009734.2018.1480186>.
- [22] Azhar E, Seifer DB, Melzer K, Ahmed A, Weedon J, Minkoff H. Knowledge of ovarian reserve and reproductive choices n.d. <https://doi.org/10.1007/s10815-014-0415-9>.
- [23] Wallace WHB, Kelsey TW. Human ovarian reserve from conception to the menopause. *PLoS One* 2010;5. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0008772>.
- [24] Broekmans FJ, Knauff EAH, Te Velde ER, Macklon NS, Fauser BC. Female reproductive ageing: current knowledge and future trends n.d. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2007.01.004>.
- [25] Iliodromiti S, Nelson SM. Biomarkers of ovarian reserve. *Biomark Med* 2013;7:147–58. <https://doi.org/10.2217/bmm.12.97>.
- [26] Wallace W, Kelsey TW. Human Ovarian Reserve from Conception to the Menopause. *PLoS One* 2010;5:8772. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0008772>.
- [27] Steiner AZ, Pritchard D, Stanczyk FZ, Kesner JS, Meadows JulianaW, Herring AH, et al. Association Between Biomarkers of Ovarian Reserve and Infertility Among Older Women of

- Reproductive Age. JAMA-JOURNAL OF THE AMERICAN MEDICAL ASSOCIATION 2017;318:1367–76. <https://doi.org/10.1001/jama.2017.14588>.
- [28] Harris BS, Jukic AM, Truong T, Nagle CT, Erkanli A, Steiner AZ. Markers of ovarian reserve as predictors of future fertility. *Fertil Steril* 2023;119:99–106. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2022.10.014>.
- [29] Gayete-Lafuente S, Moreno-Sepulveda J, Sánchez-Álvarez J, Prat M, Robles A, Espinós JJ, et al. Anti-Müllerian hormone does not predict cumulative pregnancy rate in non-infertile women following four IUI cycles with donor sperm. *J Assist Reprod Genet* 2024. <https://doi.org/10.1007/S10815-024-03188-5>.
- [30] Maheshwari A, McLernon D, Bhattacharya S. Cumulative live birth rate: Time for a consensus? *Human Reproduction* 2015;30:2703–7. <https://doi.org/10.1093/humrep/dev263>.
- [31] De Vos M, Pareyn S, Drakopoulos P, Raimundo JM, Anckaert E, Santos-Ribeiro S, et al. Cumulative live birth rates after IVF in patients with polycystic ovaries: phenotype matters. *Reprod Biomed Online* 2018;37:163–71. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2018.05.003>.
- [32] Law YJ, Zhang N, Venetis CA, Chambers GM, Harris K. The number of oocytes associated with maximum cumulative live birth rates per aspiration depends on female age: a population study of 221 221 treatment cycles. *Human Reproduction* 2019;34:1778–87. <https://doi.org/10.1093/HUMREP/DEZ100>.
- [33] Peigne M, Bernard V, Dijols L, Creux H, Robin G, Hocke C, et al. Using serum anti-Müllerian hormone levels to predict the chance of live birth after spontaneous or assisted conception: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod* 2023;38:1789–806. <https://doi.org/10.1093/HUMREP/DEAD147>.
- [34] Alviggi C, Andersen CY, Buehler K, Conforti A, De Placido G, Esteves SC, et al. A new more detailed stratification of low responders to ovarian stimulation: from a poor ovarian response to a low prognosis concept. *Fertil Steril* 2016;105:1452–3. <https://doi.org/10.1016/J.FERTNSTERT.2016.02.005>.
- [35] Feferkorn I, Ata B, Esteves SC, La Marca A, Paulson R, Blockeel C, et al. The HERA (Hyper-response Risk Assessment) Delphi consensus definition of hyper-responders for in-vitro fertilization. *J Assist Reprod Genet* 2023;40:1071. <https://doi.org/10.1007/S10815-023-02757-4>.
- [36] Klein NA, Battaglia DE, Fujimoto VY, Davis GS, Bremner WJ, Soules MR. Reproductive aging: accelerated ovarian follicular development associated with a monotropic follicle-stimulating hormone rise in normal older women. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81:1038–45. <https://doi.org/10.1210/JCEM.81.3.8772573>.
- [37] Klein NA, Harper AJ, Houmard BS, Sluss PM, Soules MR. Is the Short Follicular Phase in Older Women Secondary to Advanced or Accelerated Dominant Follicle Development? *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:5746–50. <https://doi.org/10.1210/JC.2002-020622>.
- [38] Harlow SD, Ephross SA. Epidemiology of menstruation and its relevance to women's health. *Epidemiol Rev* 1995;17:265–86. <https://doi.org/10.1093/OXFORDJOURNALS.EPIREV.A036193>.

BIBLIOGRAFÍA

- [39] Treloar AE, Boynton RE, Behn BG, Brown BW. Variation of the human menstrual cycle through reproductive life. *Int J Fertil* 1967;12:77–126.
- [40] Fehring RJ, Schneider M, Raviele K. Variability in the phases of the menstrual cycle. *JOGNN - Journal of Obstetric, Gynecologic, and Neonatal Nursing* 2006;35:376–84. <https://doi.org/10.1111/j.1552-6909.2006.00051.x>.
- [41] Younis JS, Iskander R, Fauser BCJM, Izhaki I. Does an association exist between menstrual cycle length within the normal range and ovarian reserve biomarkers during the reproductive years? A systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update* 2020;26:904–28. <https://doi.org/10.1093/HUMUPD/DMAA013>.
- [42] Harris BS, Steiner AZ, Jukic AM. Ovarian Reserve Biomarkers and Menstrual Cycle Length in a Prospective Cohort Study. *J Clin Endocrinol Metab* 2021;106:E3748–59. <https://doi.org/10.1210/CLINEM/DGAB204>.
- [43] Holte J, Brodin T, Berglund L, Hadziosmanovic N, Olovsson M, Bergh T. Antral follicle counts are strongly associated with live-birth rates after assisted reproduction, with superior treatment outcome in women with polycystic ovaries. *Fertil Steril* 2011;96:594–9. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2011.06.071>.
- [44] Vassena R, Vidal R, Coll O, Vernaev V. Menstrual cycle length in reproductive age women is an indicator of oocyte quality and a candidate marker of ovarian reserve. *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology* 2014;177:130–4. <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2014.03.027>.
- [45] Jones GS, Muasher SJ, Hung-Ching L. Gonadotropin stimulation protocols in the Norfolk IVF program--1988. *J Steroid Biochem* 1989;33:823–5. [https://doi.org/10.1016/0022-4731\(89\)90500-1](https://doi.org/10.1016/0022-4731(89)90500-1).
- [46] Licciardi FL, Liu HC, Rosenwaks Z. Day 3 estradiol serum concentrations as prognosticators of ovarian stimulation response and pregnancy outcome in patients undergoing in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1995;64:991–4. [https://doi.org/10.1016/S0015-0282\(16\)57916-3](https://doi.org/10.1016/S0015-0282(16)57916-3).
- [47] Broekmans FJ, Kwee J, Hendriks DJ, Mol BW, Lambalk CB. A systematic review of tests predicting ovarian reserve and IVF outcome. *Hum Reprod Update* 2006;12:685–718. <https://doi.org/10.1093/HUMUPD/DML034>.
- [48] Niederberger C, Pellicer A, Cohen J, Gardner DK, Palermo GD, O'Neill CL, et al. Forty years of IVF. *Fertil Steril* 2018;110:185-324.e5. <https://doi.org/10.1016/J.FERTNSTERT.2018.06.005/ASSET/875DE6DA-6B3D-4A70-A6EF-29462E271031/MAIN.ASSETS/GR8.JPG>.
- [49] Moolhuijsen LME, Visser JA. Anti-Müllerian Hormone and Ovarian Reserve: Update on Assessing Ovarian Function. *J Clin Endocrinol Metab* 2020;105:3361. <https://doi.org/10.1210/CLINEM/DGAA513>.
- [50] Penzias A, Azziz R, Bendikson K, Cedars M, Falcone T, Hansen K, et al. Fertility evaluation of infertile women: a committee opinion. *Fertil Steril* 2021;116:1255–65. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2021.08.038>.

- [51] Khodavirdilou R, Pournaghi M, Rastgar Rezaei Y, Hajizadeh K, Khodavirdilou L, Javid F, et al. Does Anti-Müllerian hormone vary during a menstrual cycle? A systematic review and meta-analysis. *J Ovarian Res* 2022;15. <https://doi.org/10.1186/S13048-022-01006-Z>.
- [52] Bry-Gauillard H, Larrat-Ledoux F, Levailant JM, Massin N, Maione L, Beau I, et al. Anti-Müllerian Hormone and Ovarian Morphology in Women With Isolated Hypogonadotropic Hypogonadism/Kallmann Syndrome: Effects of Recombinant Human FSH. *J Clin Endocrinol Metab* 2017;102:1102–11. <https://doi.org/10.1210/JC.2016-3799>.
- [53] Kallio S, Puurunen J, Ruokonen A, Vaskivuo T, Piltonen T, Tapanainen JS. Antimüllerian hormone levels decrease in women using combined contraception independently of administration route. *Fertil Steril* 2013;99:1305–10. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2012.11.034>.
- [54] Amer SAKS, James C, Al-Hussaini TK, Mohamed AA. Assessment of Circulating Anti-Müllerian Hormone in Women Using Hormonal Contraception: A Systematic Review. *J Womens Health* 2020;29:100–10. https://doi.org/10.1089/JWH.2019.7733/ASSET/IMAGES/LARGE/JWH.2019.7733_FIGURE1.JPG.
- [55] Landersoe SK, Birch Petersen K, Sørensen AL, Larsen EC, Martinussen T, Lunding SA, et al. Ovarian reserve markers after discontinuing long-term use of combined oral contraceptives. *Reprod Biomed Online* 2020;40:176–86. <https://doi.org/10.1016/j>.
- [56] Wun H, Li R, Robertson DM, Burns C, Ledger WL. Challenges in Measuring AMH in the Clinical Setting n.d. <https://doi.org/10.3389/fendo.2021.691432>.
- [57] Van Rooij IAJ, Broekmans FJM, Te Velde ER, Fauser BCJM, Bancsi LFJMM, De Jong FH, et al. Serum anti-Müllerian hormone levels: a novel measure of ovarian reserve. *Human Reproduction* 2002;17:3065–71. <https://doi.org/10.1093/HUMREP/17.12.3065>.
- [58] Jones HW, Jones GS, Andrews MC, Acosta A, Bundren C, Garcia J, et al. The program for in vitro fertilization at Norfolk. *Fertil Steril* 1982;38:14–21. [https://doi.org/10.1016/S0015-0282\(16\)46390-9](https://doi.org/10.1016/S0015-0282(16)46390-9).
- [59] Lenz S, Lauritsen JG. Ultrasonically guided percutaneous aspiration of human follicles under local anesthesia: a new method of collecting oocytes for in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1982;38:673–7. [https://doi.org/10.1016/S0015-0282\(16\)46692-6](https://doi.org/10.1016/S0015-0282(16)46692-6).
- [60] Syrop CH, Willhoite A, Van Voorhis BJ. Ovarian volume: a novel outcome predictor for assisted reproduction. *Fertil Steril* 1995;64:1167–71. [https://doi.org/10.1016/S0015-0282\(16\)57979-5](https://doi.org/10.1016/S0015-0282(16)57979-5).
- [61] Broekmans FJM, De Ziegler D, Howles CM, Gougeon A, Trew G, Olivennes F. The antral follicle count: Practical recommendations for better standardization. *Fertil Steril* 2010;94:1044–51. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2009.04.040>.
- [62] Penzias A, Azziz R, Bendikson K, Falcone T, Hansen K, Hill M, et al. Testing and interpreting measures of ovarian reserve: a committee opinion. *Fertil Steril* 2020;114:1151–7. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2020.09.134>.

BIBLIOGRAFÍA

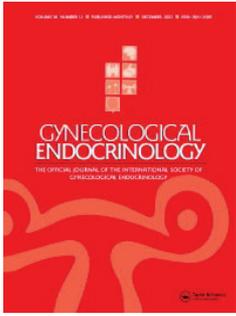
- [63] Van Disseldorp J, Lambalk CB, Kwee J, Looman CWN, Eijkemans MJC, Fauser BC, et al. Comparison of inter-and intra-cycle variability of anti-Müllerian hormone and antral follicle counts. *Human Reproduction* 2010;25:221–7. <https://doi.org/10.1093/humrep/dep366>.
- [64] Deb S, Campbell BK, Clewes JS, Pincott-Allen C, Raine-Fenning NJ. Intracycle variation in number of antral follicles stratified by size and in endocrine markers of ovarian reserve in women with normal ovulatory menstrual cycles. *Ultrasound in Obstetrics and Gynecology* 2013;41:216–22. <https://doi.org/10.1002/uog.11226>.
- [65] Elter K, Sismanoglu A, Durmusoglu F. Intercycle variabilities of basal antral follicle count and ovarian volume in subfertile women and their relationship to reproductive aging: a prospective study. *Gynecol Endocrinol* 2005;20:137–43. <https://doi.org/10.1080/09513590400021128>.
- [66] Van Disseldorp J, Lambalk CB, Kwee J, Looman CWN, Eijkemans MJC, Fauser BC, et al. Comparison of inter- and intra-cycle variability of anti-Mullerian hormone and antral follicle counts. *Hum Reprod* 2010;25:221–7. <https://doi.org/10.1093/HUMREP/DEP366>.
- [67] Fanchin R, Taieb J, Lozano DHM, Ducot B, Frydman R, Bouyer J. High reproducibility of serum anti-Müllerian hormone measurements suggests a multi-staged follicular secretion and strengthens its role in the assessment of ovarian follicular status. *Human Reproduction* 2005;20:923–7. <https://doi.org/10.1093/HUMREP/DEH688>.
- [68] Subirá J, Alberola-Rubio J, Núñez MJ, Escrivá AM, Pellicer A, Montañana V, et al. Inter-cycle and inter-observer variability of the antral follicle count in routine clinical practice. *Gynecological Endocrinology* 2017;33:515–8. <https://doi.org/10.1080/09513590.2017.1291614>.
- [69] Depmann M, van Disseldorp J, Broer SL, Eijkemans MJC, Laven JSE, Visser JA, et al. Fluctuations in anti-Müllerian hormone levels throughout the menstrual cycle parallel fluctuations in the antral follicle count: a cohort study. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2016;95:820–8. <https://doi.org/10.1111/aogs.12886>.
- [70] Sharara FI, Lim J, McClamrock HD. The effect of pituitary desensitization on ovarian volume measurements prior to in-vitro fertilization. *Human Reproduction* 1999;14:183–5. <https://doi.org/10.1093/humrep/14.1.183>.
- [71] Ng EHY, Chan CCW, Tang OS, Yeung WSB, Ho PC. Effect of pituitary downregulation on antral follicle count, ovarian volume and stromal blood flow measured by three-dimensional ultrasound with power Doppler prior to ovarian stimulation. *Human Reproduction* 2004;19:2811–5. <https://doi.org/10.1093/humrep/deh500>.
- [72] Jayaprakasan K, Hopkisson JF, Campbell BK, Clewes J, Johnson IR, Raine-Fenning NJ. Quantification of the effect of pituitary down-regulation on 3D ultrasound predictors of ovarian response. *Human Reproduction* 2008;23:1538–44. <https://doi.org/10.1093/humrep/den128>.
- [73] Khairy M, Clough A, El-Toukhy T, Coomarasamy A, Khalaf Y. Antral follicle count at down-regulation and prediction of poor ovarian response. *Reprod Biomed Online* 2008;17:508–14. [https://doi.org/10.1016/S1472-6483\(10\)60237-4](https://doi.org/10.1016/S1472-6483(10)60237-4).

- [74] Tran ND, Aghajanova L, Kao CN, Cedars MI, Rosen MP. Impact of pituitary suppression on antral follicle count and oocyte recovery after ovarian stimulation. *Fertil Steril* 2016;105:690–6. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2015.11.033>.
- [75] Balachandren N, Salman M, Diu NL, Schwab S, Rajah K, Mavrellos D. Ovarian reserve as a predictor of cumulative live birth 2020. <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2020.06.063>.
- [76] Arce JC, La Marca A, Mirner Klein B, Nyboe Andersen A, Fleming R. Antimüllerian hormone in gonadotropin releasing-hormone antagonist cycles: Prediction of ovarian response and cumulative treatment outcome in good-prognosis patients. *Fertil Steril* 2013;99. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2012.12.048>.
- [77] Li HWR, Lee VCY, Lau EYL, Yeung WSB, Ho PC, Ng EHY. Role of baseline antral follicle count and anti-Müllerian hormone in prediction of cumulative live birth in the first in vitro fertilisation cycle: a retrospective cohort analysis. *PLoS One* 2013;8. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0061095>.
- [78] Alson SSE, Bungum LJ, Giwercman A, Henic E. Anti-müllerian hormone levels are associated with live birth rates in ART, but the predictive ability of anti-müllerian hormone is modest. *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology* 2018;225:199–204. <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2018.04.039>.
- [79] Golan A, Ron-El R, Herman A, Soffer Y, Weinraub Z, Caspi E. Ovarian hyperstimulation syndrome: an update review. *Obstet Gynecol Surv* 1989;44:430–40. <https://doi.org/10.1097/00006254-198906000-00004>.
- [80] Duffy JMN, Bhattacharya S, Bofill M, Collura B, Curtis C, Evers JLH, et al. Standardizing definitions and reporting guidelines for the infertility core outcome set: an international consensus development study. *Fertil Steril* 2021;115:201–12. <https://doi.org/10.1016/J.FERTNSTERT.2020.11.013>.
- [81] Zegers-Hochschild F, Adamson GD, Dyer S, Racowsky C, De Mouzon J, Sokol R, et al. The International Glossary on Infertility and Fertility Care, 2017. *Hum Reprod* 2017;32:1786–801. <https://doi.org/10.1093/HUMREP/DEX234>.
- [82] Zegers-Hochschild F, Adamson GD, Dyer S, Racowsky C, de Mouzon J, Sokol R, et al. The International Glossary on Infertility and Fertility Care, 2017. *Fertil Steril* 2017;108:393–406. <https://doi.org/10.1016/J.FERTNSTERT.2017.06.005>.
- [83] Martínez F, Rodríguez DB, Buxaderas R, Tur R, Mancini F, Coroleu B. GnRH antagonist rescue of a long-protocol IVF cycle and GnRH agonist trigger to avoid ovarian hyperstimulation syndrome: Three case reports. *Fertil Steril* 2011;95:2432.e17–2432.e19. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2011.03.083>.
- [84] Martínez F, Mancini F, Solé M, José Gomez M, Beatriz Rodríguez D, Buxaderas R, et al. Antagonist rescue of agonist IVF cycle at risk of OHSS: A case series. *Gynecological Endocrinology* 2014;30:145–8. <https://doi.org/10.3109/09513590.2013.860128>.
- [85] Fouda UM, Sayed AM, Elshaer HS, Hammad BEM, Shaban MM, Elsetohy KA, et al. GnRH antagonist rescue protocol combined with cabergoline versus cabergoline alone in the prevention of ovarian hyperstimulation syndrome: A randomized controlled trial. *J Ovarian Res* 2016;9. <https://doi.org/10.1186/s13048-016-0237-8>.

BIBLIOGRAFÍA

- [86] Hill MJ, Chason RJ, Payson MD, Segars JH, Csokmay JM. GnRH antagonist rescue in high responders at risk for OHSS results in excellent assisted reproduction outcomes n.d. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2012.05.004>.
- [87] Mavrelou D, Al Chami A, Talaulikar V, Burt E, Webber L, Ploubidis G, et al. Variation in antral follicle counts at different times in the menstrual cycle: does it matter? *Reprod Biomed Online* 2016;33:174–9. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2016.04.012>.
- [88] Rombauts L, Onwude JL, Chew HW, Vollenhoven BJ. The predictive value of antral follicle count remains unchanged across the menstrual cycle. *Fertil Steril* 2011;96:1514–8. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2011.09.005>.
- [89] Filippi F, Martinelli F, Paffoni A, Reschini M, Raspagliesi F, Somigliana E. Fertility preservation in women with malignancies: the accuracy of antral follicle count collected randomly during the menstrual cycle in predicting the number of oocytes retrieved. *J Assist Reprod Genet* 2019;36:569. <https://doi.org/10.1007/S10815-018-1377-0>.
- [90] Razafintsalama-Bourdet M, Bah M, Amand G, Vienet-Lègue L, Pietin-Vialle C, Bry-Gaillard H, et al. Random antral follicle count performed on any day of the menstrual cycle has the same predictive value as AMH for good ovarian response in IVF cycles. *J Gynecol Obstet Hum Reprod* 2022;51. <https://doi.org/10.1016/j.jogoh.2021.102233>.
- [91] Iliodromiti S, Anderson RA, Nelson SM. Technical and performance characteristics of anti-Müllerian hormone and antral follicle count as biomarkers of ovarian response. *Hum Reprod Update* 2015;21:698–710. <https://doi.org/10.1093/HUMUPD/DMU062>.
- [92] Pampiglione JS, Sharma V, Riddle AF, Mason BA, Campbell S. The effect of cycle length on the outcome of in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1988;50:603–6. [https://doi.org/10.1016/S0015-0282\(16\)60191-7](https://doi.org/10.1016/S0015-0282(16)60191-7).
- [93] Brodin T, Bergh T, Berglund L, Hadziosmanovic N, Holte J. Menstrual cycle length is an age-independent marker of female fertility: results from 6271 treatment cycles of in vitro fertilization. *Fertil Steril* 2008;90:1656–61. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2007.09.036>.
- [94] Small CM, Manatunga AK, Marcus M. Validity of Self-Reported Menstrual Cycle Length. *Ann Epidemiol* 2007;17. <https://doi.org/10.1016/j.annepidem.2006.05.005>.
- [95] Cole LA, Ladner DG, Byrn FW. The normal variabilities of the menstrual cycle. *Fertil Steril* 2009;91:522–7. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2007.11.073>.
- [96] Li HWR, Lee VCY, Lau EYL, Yeung WSB, Ho PC, Ng EHY. Role of baseline antral follicle count and anti-Müllerian hormone in prediction of cumulative live birth in the first in vitro fertilisation cycle: a retrospective cohort analysis. *PLoS One* 2013;8. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0061095>.
- [97] Hamdine O, Eijkemans MJC, Lentjes EGW, Torrance HL, Macklon NS, Fauser BCJM, et al. Antimüllerian hormone: Prediction of cumulative live birth in gonadotropin-releasing hormone antagonist treatment for in vitro fertilization. *Fertil Steril* 2015;104:891–898.e2. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2015.06.030>.
- [98] Alson SSE, Bungum LJ, Giwercman A, Henic E. Anti-müllerian hormone levels are associated with live birth rates in ART, but the predictive ability of anti-müllerian hormone is

- modest. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology* 2018;225:199–204. <https://doi.org/10.1016/J.EJOGRB.2018.04.039>.
- [99] Goyal A, Kuchana M, Ayyagari KPR. Machine learning predicts live-birth occurrence before in-vitro fertilization treatment. *Sci Rep* 2020;10:20925. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-76928-z>.
- [100] Hassan MR, Al-Insaif S, Hossain MI, Kamruzzaman J. A machine learning approach for prediction of pregnancy outcome following IVF treatment. *Neural Comput Appl* 2020;32:2283–97. <https://doi.org/10.1007/s00521-018-3693-9>.
- [101] Peigne M, Bernard V, Dijols L, Creux H, Robin G, Hocke C, et al. Using serum anti-Müllerian hormone levels to predict the chance of live birth after spontaneous or assisted conception: a systematic review and meta-analysis. *Human Reproduction* 2023;38:1789–806. <https://doi.org/10.1093/HUMREP/DEAD147>.
- [102] Arce JC, La Marca A, Mirner Klein B, Nyboe Andersen A, Fleming R. Antimüllerian hormone in gonadotropin releasing-hormone antagonist cycles: prediction of ovarian response and cumulative treatment outcome in good-prognosis patients. *Fertil Steril* 2013;99:1644–1653.e1. <https://doi.org/10.1016/J.FERTNSTERT.2012.12.048>.
- [103] McLernon DJ, Raja EA, Toner JP, Baker VL, Doody KJ, Seifer DB, et al. Predicting personalized cumulative live birth following in vitro fertilization. *Fertil Steril* 2022;117:326–38. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2021.09.015>.
- [104] Maheshwari A, Porter M, Shetty A, Bhattacharya S. Women’s awareness and perceptions of delay in childbearing. *Fertil Steril* 2008;90:1036–42. <https://doi.org/10.1016/J.FERTNSTERT.2007.07.1338>.
- [105] Mac Dougall K, Beyene Y, Nachtigall RD. Age shock: misperceptions of the impact of age on fertility before and after IVF in women who conceived after age 40. *Human Reproduction* 2013;28:350–6. <https://doi.org/10.1093/HUMREP/DES409>.



Antral follicle count measured at down-regulation as predictor of ovarian response and cumulative live birth: single center analysis including 2731 long agonist IVF cycles

Sara Peralta, Roser Solernou, Yasmina Barral, Júlia Roca, Francesc Fabregues, Dolors Manau & Francisco Carmona

To cite this article: Sara Peralta, Roser Solernou, Yasmina Barral, Júlia Roca, Francesc Fabregues, Dolors Manau & Francisco Carmona (2022) Antral follicle count measured at down-regulation as predictor of ovarian response and cumulative live birth: single center analysis including 2731 long agonist IVF cycles, *Gynecological Endocrinology*, 38:12, 1079-1086, DOI: [10.1080/09513590.2022.2154339](https://doi.org/10.1080/09513590.2022.2154339)

To link to this article: <https://doi.org/10.1080/09513590.2022.2154339>

 View supplementary material [↗](#)

 Published online: 07 Dec 2022.

 Submit your article to this journal [↗](#)

 Article views: 16

 View related articles [↗](#)

 View Crossmark data [↗](#)

RESEARCH ARTICLE
ASSISTED REPRODUCTION



Antral follicle count measured at down-regulation as predictor of ovarian response and cumulative live birth: single center analysis including 2731 long agonist IVF cycles

Sara Peralta, Roser Solernou, Yasmina Barral, Júlia Roca, Francesc Fabregues, Dolors Manau and Francisco Carmona

Institut Clínic of Gynecology, Obstetrics and Neonatology, Hospital Clínic-Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAP S), Faculty of Medicine-University of Barcelona, Barcelona, Spain

ABSTRACT

Objective: Evaluate antral follicle count measured after pituitary suppression (AFCaps) with a GnRH agonist as predictor of ovarian response and cumulative live birth (CLB).

Methods: This study is a large cohort analysis of retrospective data between January 2011 and September 2020 in a tertiary-care university hospital. All first initiated IVF/ICSI cycles in women under 43 years of age for whom AFCaps was registered in our database were included. To evaluate CLB rates (CLBRs), only finalized cycles were analyzed (at least one live birth and/or all embryos transferred), excluding PGT cycles and severe male factor requiring testicular sperm extraction.

Results: AFCaps showed a good predictive ability in predicting ovarian response to ovarian stimulation. Predicting poor response, AFCaps presented an area under the receiver-operating characteristic curve (AUC_{ROC}) of 0.85 (95% CI 0.83–0.87), for high response prediction, the AUC_{ROC} was 0.80 (95% confidence interval [CI] 0.77–0.83).

Although AFCaps was statistically higher in patients who achieved at least one live birth (13.6 ± 6.05 vs. 9.79 ± 6.33) and CLBRs per started cycle significantly increase between AFCaps quartiles (15.9%, 36.2%, 45.1% and 52.9%) its ability to predict CLBR was modest, with an AUC_{ROC} of 0.67 (95% CI 0.65–0.69).

Conclusions: Women undergoing their first IVF/ICSI cycle following a long agonist GnRH protocol can be counseled with AFCaps measurement about their probability of achieving poor/high response. Based on this marker physicians can personalize ovarian stimulation with the aim of optimizing ovarian response and minimizing its risks. However, AFCaps has failed to predict CLB per started IVF cycle as an isolated marker.

ARTICLE HISTORY

Received 15 May 2022
Revised 15 November 2022
Accepted 28 November 2022
Published online 8 December 2022

KEYWORDS

Antral follicle count; ovarian reserve; ovarian response; cumulative live birth; GnRH agonist; IVF-ICSI outcome

Introduction

European guideline on ovarian stimulation for *in vitro* fertilization/intracytoplasmic sperm injection (IVF/ICSI) recommend the GnRH antagonist protocol as the first line therapy in predicted high responders and in normal responders in relation to improved safety [1]. But, from the efficacy point of view, the debate remains open: Lambalk meta-analyses concluded that in a general IVF population, antagonist treatment resulted in one less ongoing pregnancy of every 28 women treated [2]. Same year, a randomized controlled trial in unselected population concluded that significantly more oocytes were retrieved in the long agonist protocol and some subgroups of patients may still benefit from this protocol [3]. Moreover, long protocol offers easier logistic planning. All these arguments justify that the long GnRH agonist protocol is still being used in poor responders and in some cases of normal responder patients.

Two of the main goals of ovarian reserve tests are counseling IVF patients about their prognosis and optimizing/minimizing risks of ovarian stimulation [4]. For prediction high and poor response

to ovarian stimulation, use of either basal antral follicle count (AFC) or anti-Müllerian hormone is recommended over other ovarian reserve tests [1]. Ovarian reserve markers have classically failed to predict the probability of pregnancy, but this conclusion has been related to results in fresh embryo transfer (ET).

Reporting IVF success with CLBRs has become the standard in the vitrification era, but there is a need for consensus for defining success rates [5]. When the objective is elucidating the outcome of one IVF/ICSI cycle, all started cycles should be analyzed (not only aspirated) and only finalized cycles should be included (all embryos transferred until one live birth (LB) or no more embryos available).

CLBR has a significant positive association with ovarian response [6, 7], but there are only a few publications evaluating the ability of ovarian reserve markers (including basal AFC) to predict CLBRs [8–12].

AFC should be measured in the early follicular phase [13], although no significant differences have been found between AFC measurements in early follicular phase and after

CONTACT Sara Peralta ✉ speralta@clinic.cat 📧 Institut Clínic of Gynecology, Obstetrics and Neonatology, Hospital Clínic-Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Faculty of Medicine-University of Barcelona, Barcelona, Spain

📎 Supplemental data for this article can be accessed online at <https://doi.org/10.1080/09513590.2022.2154339>

© 2022 Informa UK Limited, trading as Taylor & Francis Group

down-regulation with GnRH agonists (AFCaps) [14–16]. The accuracy of AFCaps in the prediction of poor ovarian response after ovarian stimulation has been evaluated in small cohorts [17–19], but its ability to discriminate hyper-response or CLB has not yet been evaluated.

Based on the hypothesis that AFCaps is a good ovarian reserve marker and that the CLBR is positively related to ovarian response, we retrospectively analyzed our lengthy experience with the long GnRH agonist protocol with two main objectives: evaluate AFCaps as a predictor of ovarian response and evaluate the relation between AFCaps and the CLBR per started and finalized IVF/ICSI cycle.

Materials and methods

Study population

The present study included all the first initiated IVF-ICSI cycles following a long GnRH agonist protocol between January 2011 and September 2020 in women between 20 and 42 years old in whom the AFC after pituitary suppression had been registered in our database.

A total of 2731 first IVF started cycles were analyzed to evaluate ovarian response to IVF. To evaluate CLBR, only 2518 cycles were analyzed, excluding non-finalized cycles (no LB with remaining embryos at the time of the analysis and cycles in which cryopreserved embryos after ET failure were warmed but not transferred). PGT IVF cycles and severe mal factor requiring TESE were also excluded.

Figure 1 shows the flowchart of patients included in both analyses.

Ovarian stimulation protocol

Pituitary desensitization was achieved by subcutaneous administration of triptorelin acetate or leuprolide acetate started in the mid-luteal phase of the previous cycle. Gonadotropin drug and doses were individually chosen according to age and ovarian reserve markers available: age, BMI, basal FSH, basal E2, with a maximum initial dose of 450UI (300UI from the year 2018). From day five onwards, gonadotropin was adjusted according to ovarian response. The criteria for human chorionic gonadotropin administration, cycle cancellation and embryo grading system were described previously [20].

Antral follicle count after pituitary suppression measurement

Ultrasound scans were performed the day in which pituitary suppression was checked (after 12–18 days of agonist treatment), and the number of follicles with a mean diameter of 2–9 mm was counted

Outcome measures

Ovarian response

Ovarian response was categorized into three groups: poor ovarian response (cancelled cycle or <4 oocytes retrieved), normal response (4–15 oocytes retrieved) and hyper-response (>15 oocytes retrieved).

Moderate- severe OHSS was defined according to the classification proposed by Golan [21].

Cumulative live birth

Clinical pregnancy was diagnosed by increasing serum concentrations of b-HCG after ET/FET and the subsequent demonstration of an intrauterine gestational sac by ultrasonography. Pregnancy loss included ectopic pregnancy, miscarriage and stillbirth according to standardized definitions [22]. The cumulative clinical pregnancy rate (CCPR) was defined as the proportion of cycles that achieved at least one clinical pregnancy per cycle. The CLBR was described as a proportion of deliveries with at least one LB per assisted reproductive technology (ART) cycle. The delivery of a singleton, twin, or other multiples was registered as one delivery [23, 24].

All these pregnancy outcome rates are shown per started cycle, per aspirated cycle and per embryo-transfer (fresh embryo transfer (ET)/frozen embryo transfer (FET)).

Statistical analyses

Continuous variables were described as mean and standard deviation whereas percentages were used for categorical variables. The association between categorical variables and ovarian response/cumulative live birth was analyzed using the Chi-Square test. Continuous variables were compared with the ANOVA test with Bonferroni correction when more than 2 comparisons were made.

The associations of AFCaps with ovarian reserve parameters and ovarian response were evaluated using correlation coefficients. The ability of AFCaps to predict poor response, hyper-response and CLB was evaluated using receiver operating characteristic (ROC) curves. Sensitivity, specificity, and the area under the curve (AUC) were obtained for the outcomes based on the Youden index. An AUC of 0.5 suggests no discrimination; between 0.7 and 0.8 is considered acceptable and 0.8–0.9 excellent

For in-depth analysis of the probability of CLB, subjects were grouped according to AFCaps quartiles and selected variables of interest were summarized within each quartile. Finally, to control for possible confounding variables that might have changed over the study period, we performed a multivariate logistic regression model to estimate the odds ratios (OR) of the CLBR for the variable AFCaps quartiles, adjusting for age, year of stimulation, total dose of gonadotropins and cryopreservation technique.

All tests were two-tailed and $p < 0.05$ was considered statistically significant, all the analyses were exploratory and no formal sample size calculation was performed

Data were analyzed with the Statistics Package for Social Sciences, version 25.0 (SPSS, Chicago, IL, USA), and R software (R Core Team, 2019) and MedCalc Software (Mariakkarke, Belgium).

Results

Ovarian response

According to the predefined ovarian response categories, 173 patients were classified as high (6.3%), 2003 (73.3%) as normal and 555 (20.3%) as poor responders. Table 1 describes the baseline and stimulation characteristics, ovarian response and IVF/ICSI outcomes per started cycle by response subgroup.

Cycle cancellation due to insufficient follicular growth occurred in 287 patients (51.7% of poor responders). Twenty-four moderately severe ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS) cases

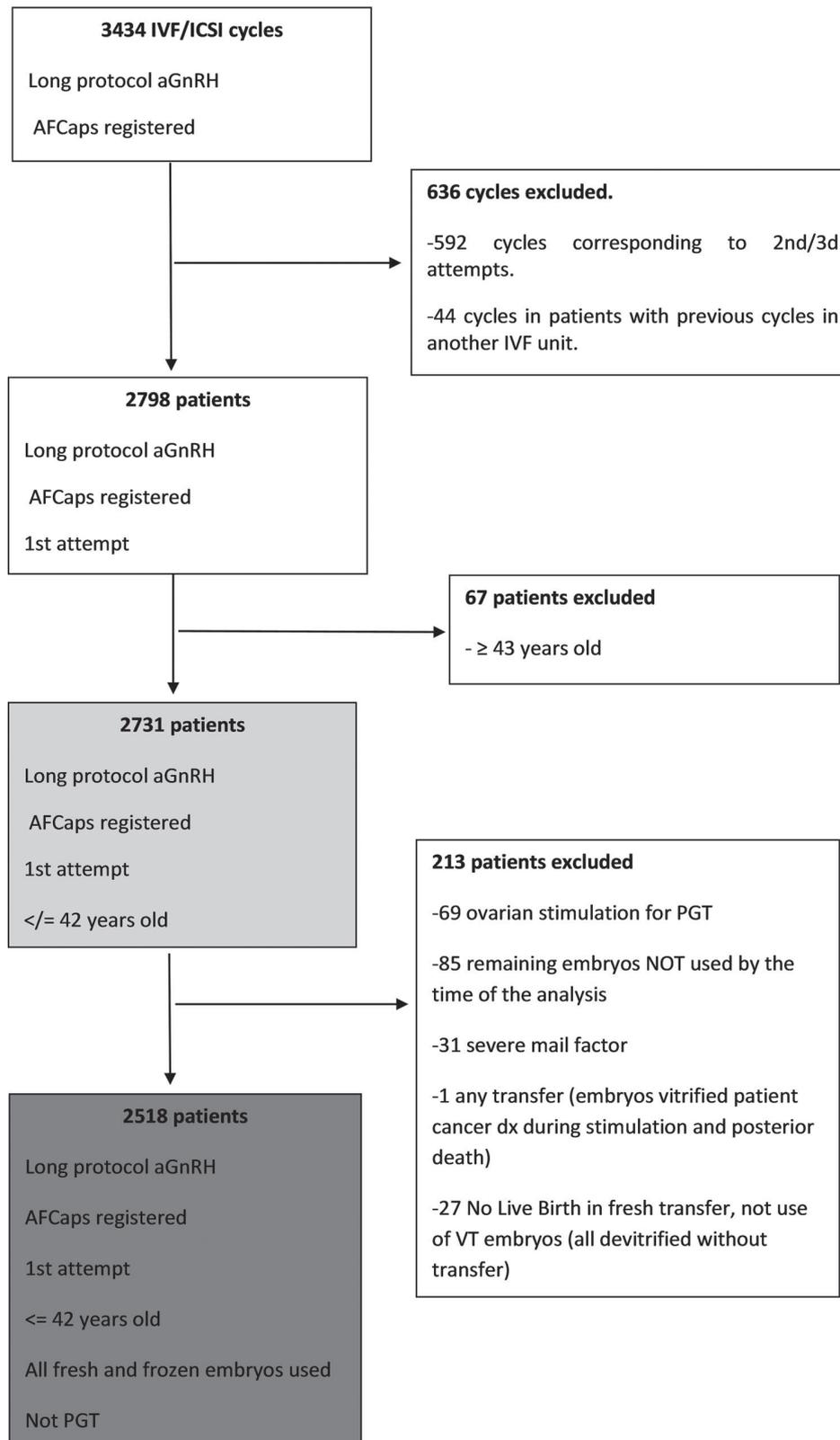


Figure 1. Flowchart of patient selection.

(0.8%) were observed, with no statistically significant differences in the prevalence of OHSS between groups ($p=0,3$).

The present study found a significant positive association between AFCaps and ovarian response. The mean \pm SD AFCaps for poor, normal,

and high response was 5.81 \pm 4.1, 12.1 \pm 6.0 and 17.6 \pm 6.5, respectively ($p<0.001$). Regarding the diagnostic accuracy of AFCaps to discriminate between normal and poor response cycles, the AUC_{ROC} was 0.85 (95% CI 0.83–0.87) with an optimal cutoff of <8, and with a sensitivity of

Table 1. Baseline characteristics, ovarian stimulation and IVF/ICSI outcome according to ovarian response ($n=2731$).

Variable	Poor response $n=555$ (20.3%) ¹	Normal response $n=2003$ (73.3%) ²	High response $n=173$ ($n=6.3%$) ³	P-value overall
Baseline characteristics				
Age (y)	37,45 ± 2,7	35,91 ± 3,2	34,58 ± 3,6	<0,001 ^{b,*}
BMI (kg/m ²)	24,53 ± 4,4	24,09 ± 4,4	23,61 ± 4,5	0,4
Duration of infertility (y)	4,51 ± 2,9	4,34 ± 2,6	3,90 ± 2,2	0,2
Infertility factor				0,001 ^{b,*}
Donor's semen	21 (3,8)	61(3,0)	4(2,3)	
Male factor	156(28,3)	716(35,7)	73(42,2)	
Tubal factor	48 (8,7)	151 (7,5)	11 (6,4)	
Endometriosis	97 (17,6)	196 (9,8)	8 (4,6)	
Unexplained	219 (39,7)	810 (40,4)	61 (35,3)	
PGT	11 (2,0)	69 (3,4)	16 (9,2)	
AFCaps	5,81 ± 4,1	12,09 ± 6,0	17,65 ± 6,5	0,000*
Basal FSH (IU/L)	10,60 ± 4,6	8,10 ± 2,8	6,72 ± 1,7	<0,001*
Basal E ₂ (pg/mL)	57,27 ± 44,9	52,83 ± 37,3	41,79 ± 27,8	<0,001*
Ovarian stimulation				
Days to pituitary suppression	14,51 ± 2,3	14,87 ± 2,2	14,88 ± 1,9	0,003 ^{1vs2}
Days of ovarian stimulation	9,98 ± 2,9	11,75 ± 1,7	11,56 ± 1,8	<0,001 ^{1vs2, 1vs3}
Total IU of FSH	3002 ± 913	2665 ± 957	1908 ± 722	0,000*
Patients with hCG and ovum retrieval	268 (48,3)	2003 (100)	173 (100)	<0,001*
IVF/ICSI outcome				
No. of 2PN oocytes on day 1 ^a	1,45 ± 0,9	4,81 ± 2,4	9,86 ± 3,7	0,000*
No. of suitable embryos for transfer or cryopreservation ^a	1,34 ± 0,7	3,39 ± 2,1	7,21 ± 4,6	0,000*
No. of embryo transfers performed ^a	0,41 ± 0,5	1,27 ± 0,6	1,74 ± 1,0	0,000*
Severe OHSS ^a	0(0)	21 (1,0)	3 (1,7)	0,5 ^b

Note: Values are mean ± standard deviation or n(%), unless otherwise stated.

BMI=body mass index; PGT=Preimplantational genetic testing; AFCaps=antral follicle count measured after pituitary suppression.

FSH=follicle-stimulating hormone; E₂=estradiol; hCG=human chorionic gonadotropin; 2PN=two pronuclei; OHSS=Ovarian Hyperstimulation syndrome.

^aValues are relative to the number of patients with oocyte retrieval.

P - values are for between-group analysis of variance (ANOVA) test unless otherwise stated. ¹Poor response group, ²Normal response group,

³Hyper-response group.

^bP - values for between-group difference from χ^2 test.

Pairwise comparisons are indicated in superscripts: *All pairwise comparisons $p < 0,05$, when only some pair-wise comparisons reach statistical significance these are stated.

78.2% and a specificity of 78.7%. When the likelihood of high response was analyzed, the AUC_{ROC} was 0.80 (95% CI 0.77–0.83). The best value for AFCaps discriminating between high response and normal response was >13 (sensitivity 76.3%; specificity 73.22%) (Supl 1, Supplementary material).

Cumulative live birth

Of the 2518 cycles included in the CLB analysis, a total of 942 patients achieved at least one LB (CLBR = 37.4% per started cycle; 42.1% per oocyte retrieval; 43.3% per cycle with at least one ET). CLBRs steadily increased with the number of oocytes retrieved, reaching 66.7% when 18 oocytes were retrieved. Figure 2 describes the flowchart of cycles analyzed until finalization (LB/No more embryos available).

Baseline characteristics, ovarian stimulation and IVF/ICSI outcomes according to CLB are shown in Table 2. The median (\pm SD) AFCaps was statistically higher in patients who achieved LB 13.6 ± 6.05 vs. 9.79 ± 6.33. Nevertheless, AFCaps demonstrated limited accuracy for the prediction of CLB (the AUC_{ROC} was 0.67; 95% CI 0.65–0.69) (Supl 2, Supplementary material).

To analyze the influence of AFCaps on IVF cycle outcomes in-depth, the patient population was stratified according to AFCaps quartiles (≤ 6 , 7–10, 11–14 and ≥ 15) (Tables 3). The median number of oocytes retrieved and embryos available for transfer or cryopreservation significantly increased ($p < 0,001$) across the AFCaps quartiles.

The CLBR per started cycle reached significant differences for all AFCaps quartile pair-wise comparisons (15.9%, 36.2%, 45.1% and 52.9% for the 1st, 2nd, 3rd, and 4th AFCaps quartiles,

respectively). To control for possible confounding variables that might have changed over the long study period, we performed a multivariate logistic regression analysis to estimate de OR of CLBRs for the AFCaps quartiles adjusting for age, stimulation year, total dose of gonadotropins and cryopreservation technique. The results show that none of the adjustment variables was significant (Table 4)

Discussion

This study in women undergoing IVF/ICSI following a long GnRH agonist protocol demonstrates that AFCaps is strongly related to ovarian response and the probability of achieving a LB in started ART cycles. Although the accuracy of AFCaps in predicting ovarian response is good, the power of CLB prediction is modest. These results reinforce its use for optimizing ovarian stimulation and minimizing its risks but not as an isolated marker to predict IVF success.

Our findings are in line with small previous prospective cohort studies assessing the relationship between AFCaps and the number of oocytes retrieved and its accuracy in predicting poor ovarian response [17–19]. Despite the retrospective design of our study, the large number of cycles included emphasizes that as a single test AFCaps has substantial accuracy in predicting poor ovarian response. To our knowledge, the present study is the first to assess the ability of AFCaps to predict hyper-response. In clinical practice this finding could imply improve the safety of the long GnRH agonist protocol, when this protocol has been chosen despite the ESHRE guidelines, allowing the physician to apply strategies to reduce/avoid OHSS risk when a high AFCaps is encountered: perform stimulation with low gonadotropin doses;

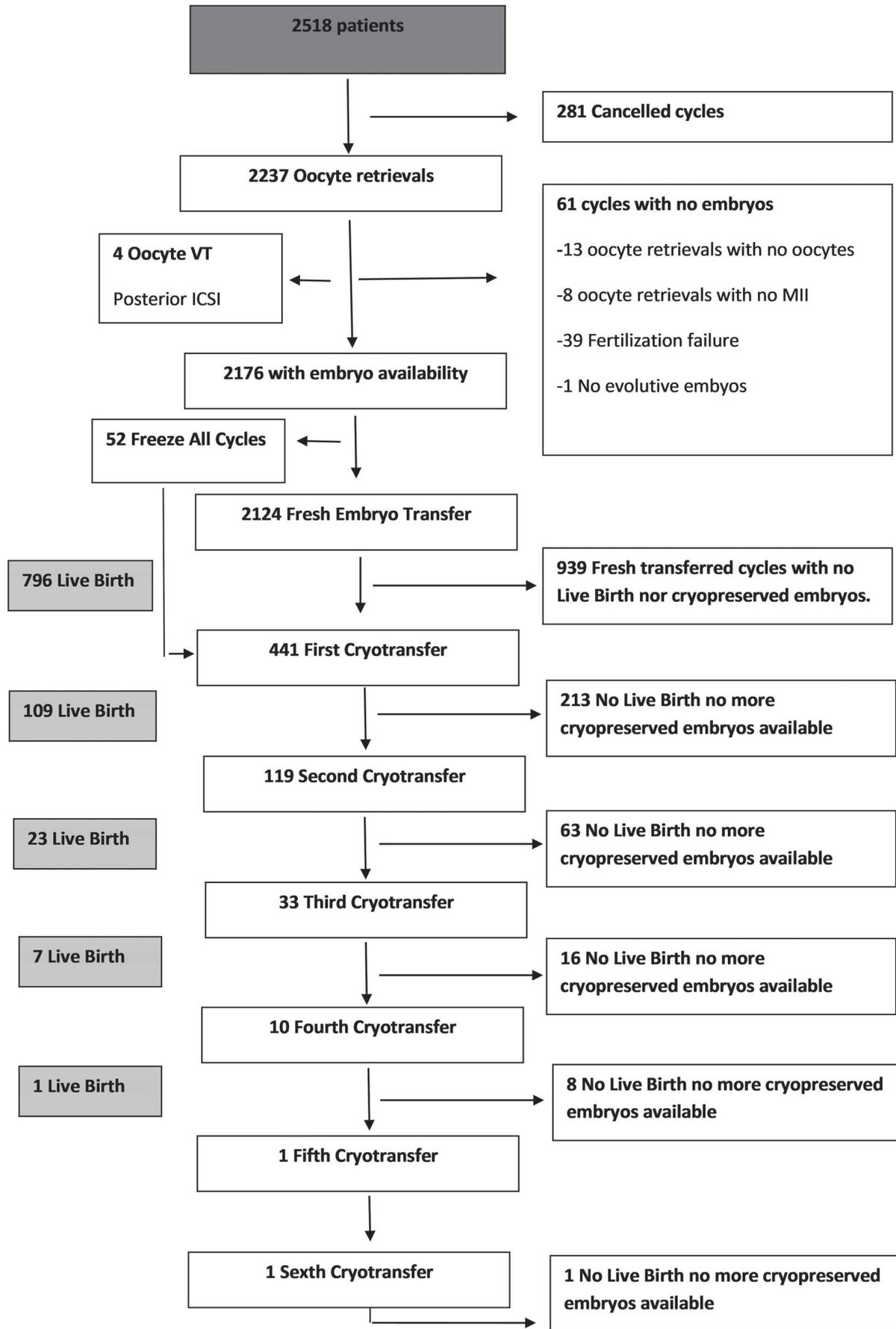


Figure 2. Flowchart of cycles in the cumulative live birth analysis.

Table 2. Baseline characteristics, ovarian stimulation and IVF/ICSI outcome according to cumulative live birth in finalized cycles ($n=2518$).

Variable	Live birth	No live birth	P-value
	$n=942$ (37,4%)	$n=1576$ (62,6%)	
Baseline characteristics			
Age (y)	35,25 ± 3,08	36,80 ± 3,19	0,000
BMI (kg/m ²)	23,82 ± 4,3	24,39 ± 4,6	0,006
Duration of infertility (y)	4,19 ± 2,37	4,44 ± 2,68	0,045
Infertility factor			0,001 ^c
Donor's semen	20(2,1)	62(3,9)	
Male factor	383(40,7)	517(32,9)	
Tubal factor	63(3,7)	133(8,5)	
Endometriosis	94(10)	194(12,3)	
Unexplained	382(40,6)	667(42,4)	
AFCaps	13,06 ± 6,05	9,79 ± 6,33	0,000
Basal FSH (IU/L)	7,93 ± 2,65	8,96 ± 3,87	0,000
Basal E ₂ (pg/mL)	51,74 ± 38,83	53,89 ± 39,05	0,227
Ovarian stimulation			
Total IU of FSH	2480,09 ± 896,68	2817,01 ± 985,5	0,000
Patients with hCG and ovum retrieval	942	1295	0,000
No. of oocytes retrieved (range) ^b	9,56 ± 4,22	7,54 ± 4,14	0,000
No. of metaphase II oocytes ^b	7,94 ± 3,70	6,03 ± 3,76	0,000
IVF/ICSI OUTCOME			
No. of 2PN oocytes on day 1 ^b	5,67 ± 2,89	3,98 ± 2,76	0,000
No. suitable embryos for transfer or cryopreservation ^b	4,33 ± 2,65	2,76 ± 2,14	0,000

Note: Values are mean ± standard deviation or n(%), unless otherwise stated.

BMI=Body mass index; AFCaps=antral follicle count measured after pituitary suppression; IU=International units; FSH=Follicle-stimulating hormone.

E2=estradiol; hCG=human chorionic gonadotropin; 2PN=two pronuclei.

^aDay of hCG administration or cancelation day. ^bValues are relative to the number of patients with oocyte retrieval.

P - values are for between-group analysis of variance (ANOVA) test unless otherwise stated.

^cP - values for between-group difference from χ^2 test.

Table 3. Reproductive outcome per cycle in relation to AFCaps stratified into four groups in finalized cycles($n=2518$).

	Total	AFCaps ≤ 6	AFCaps 7–10	AFCaps 11–14	AFCaps ≥ 15	P-value
N	2518	672	527	690	629	
Age	32,22 ± 3,24	37,37 ± 2,76	36,70 ± 3,00	35,99 ± 3,07	34,83 ± 3,52	0,000*
Patients with hCG and ovum retrieval (%)	2237 (88,8)	444 (66,1)	484 (91,8)	681 (98,7)	628 (100)	
No. of oocytes retrieved (range) ^a	8,39 ± 4,44	5,03 ± 2,93	7,14 ± 3,43	8,99 ± 3,74	11,17 ± 4,78	0,000*
No. of metaphase II oocytes ^a	6,84 ± 3,85	4,03 ± 2,44	5,80 ± 2,94	7,37 ± 3,51	9,04 ± 4,13	0,000*
No. of 2PN oocytes on day 1 ^a	4,70 ± 2,93	2,74 ± 1,90	3,97 ± 2,30	5,13 ± 2,69	6,16 ± 3,27	0,000*
No. Patients with at least one embryo transfer	2176	417	467	668	624	
No. of suitable embryos for transfer or cryopreservation ^a	3,42 ± 2,49	2,16 ± 1,47	2,96 ± 1,84	3,62 ± 2,33	4,45 ± 3,12	0,000*
No. of embryo transfers performed	1,09 ± 0,70	0,68 ± 0,59	1,06 ± 0,60	1,27 ± 0,66	1,34 ± 0,72	0,000*
Cumulative Clinical Pregnancy (n/% per started cycle)	1134 (45)	138 (20,5)	228 (43,3)	379(54,9)	389 (61,8)	0,000 ^{1vs2,3,4. 2vs1,4.}
Cumulative Live Birth (n)	942	107	191	311	333	
Rate per started cycle	37,4	15,9	36,2	45,1	52,9	0,000*
Rate per ovum pick up	42,1	24,1	39,5	45,7	53	0,000 ^{1vs2,3,4. 2vs4. 3vs4.}
Rate per cycle with at least one embryo-transfer	43,3	25,7	40,9	46,6	53,4	0,000 ^{1vs2,3,4. 2vs3,4.}

Note: Values are mean ± standard deviation or n(%), unless otherwise stated.; AFCaps=antral follicle count after pituitary suppression; OSI=Ovarian Sensitivity Index; 2pn = 2 pronuclei.

AFCaps=Antral follicle count after pituitary suppression; N=number; HCG=Human chorionic gonadotropin; 2PN=two pronuclei; ET=Fresh embryo transfer; FET=Frozen embryo transfer.

¹AFC ≤ 6 group, ²AFC 7–10 group, ³AFC 11–14 group, ⁴AFC ≥ 15 group. *All pairwise comparisons $p < 0,05$, when only some pair-wise comparisons reach significance is stated.

^aValues are relative to the number of patients with oocyte retrieval.

P-values are for between-group analysis of variance (ANOVA) test unless otherwise stated.

switch the agonist to antagonist (antagonist rescue) with a possible agonist trigger [25–27]; cancel cycle.

The role of ovarian reserve markers in the prediction of CLBR has been underexplored in the literature [8–12]. To our knowledge, this study is the first to evaluate the probability of CLB per started and finalized IVF/ICSI cycle. The CLBR definition employed in previous studies differed; the Hamdine group used all the treatments performed within 1 year after ART initiation (including more than 1 cycle) as the denominator, while Arce only included FETs performed within 1 year of the patient's start of treatment (not real finalized cycles). Only Arce analyzed CLBR per started cycle, while other authors did per aspirated cycle. Moreover, some studies only included good prognosis patients [8, 9].

The strengths of the design of our study include absence of selection bias, as all patients who started their first IVF/ICSI cycle were included (independently or their prognosis), analysis of real cycle prognosis, including all started cycles (not only aspirated) and real CLB data (not estimated) considering only finalized cycles (all embryos available transferred) in the analysis. With the long follow-up of our cohort, CLBRs were not underestimated; most patients used all their supernumerary embryos.

In our analysis, although CLBR increases significantly among AFCaps quartiles, AFCaps presented a modest ability to discriminate between patients achieving CLB versus those who did not, despite analyzing cycles in CLBRs per started and really finalized cycles. Accordingly with previous research, ovarian

Table 4. Logistic regression analysis for AFCaps quartiles for CLBR's.

n = 2518	OR adjusted	95% CI
AFCaps ≤6	1	
AFCaps 7–10	2,313	1,76–3,03
AFCaps 11–14	2,276	1,68–3,07
AFCaps ≥15	2,594	1,90–3,54
Age	0,891	0,86–0,92

AFCaps = Antral follicle count measured after pituitary suppression; CLBR = Cumulative Live Birth Rate.

Adjusted for age, stimulation year, total dose of gonadotropins and cryopreservation technique.

reserve markers are unable to predict IVF success, only predictive models integrating multiple variables in IVF have demonstrated high accuracy in CLBR prediction [28, 29]

However, several limitations are associated with our study, most of which are related to the retrospective study design and the long study period. During 10 years of study several changes in the IVF standard stimulation and laboratory techniques have taken place, for instance switching from long agonist protocol (90% in 2011) to antagonist protocol (>80% in 2020), type and maximum dose of gonadotropin and embryo cryopreservation technique. Despite the multivariate logistic regression model adjusting for these possible confounding variables and age (the most important factor related to chances of pregnancy/live birth) the AFCaps category remained an independent predictive factor for CLBR. Another limitation in our analysis is the lack of data regarding 'gold standard' ovarian reserve markers such as basal AFC and AMH, although the low number of cycles with this data available, AFCaps presented a significant correlation with them.

In conclusion, our findings demonstrate interesting and clinically relevant elements for counseling patients undergoing their first IVF/ICSI following a long agonist protocol. AFCaps is a good predictor of poor and hyper response. Its measurement after pituitary suppression can be useful to adjust gonadotropin type/dosage or even to switch to an antagonist protocol with the objective of optimizing ovarian response and minimizing its risks. Although AFCaps quartiles are related to the probabilities of CLB in started ART cycles, its accuracy in predicting success is limited. The primary clinical role of AFCaps is the individualization of stimulation.

Acknowledgements

The authors wish to thank N Rodríguez for his statistical support and D. Pringle for her English language assistance.

Disclosure statement

The authors report no conflicts of interest.

Funding

The author(s) reported there is no funding associated with the work featured in this article.

References list

- [1] Bosch E, Broer S, Griesinger G, et al. ESHRE guideline: ovarian stimulation for IVF/ICSI†. *Hum Reprod Open*. 2020;2020:1–13.
- [2] Lambalk CB, Banga FR, Huirne JA, et al. GnRH antagonist versus long agonist protocols in IVF: a systematic review and meta-analysis accounting for patient type. *Hum Reprod Update*. 2017;23(5):560–579.
- [3] Toftager M, Bogstad J, Løssl K, et al. Cumulative live birth rates after one ART cycle including all subsequent frozen-thaw cycles in 1050 women: secondary outcome of an RCT comparing GnRH-antagonist and GnRH-agonist protocols. *Hum Reprod*. 2017;32(3):556–567.
- [4] Niederberger C, Pellicer A, Cohen J, et al. Forty years of IVF. *Fertil Steril*. 2018;110(2):185–324.e5.
- [5] Maheshwari A, McLernon D, Bhattacharya S. Cumulative live birth rate: time for a consensus? *Hum. Reprod*. 2015;30(12):2703–2707
- [6] Polyzos NP, Drakopoulos P, Parra J, et al. Cumulative live birth rates according to the number of oocytes retrieved after the first ovarian stimulation for in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection: a multicenter multinational analysis including ~15,000 women. *Fertil Steril*. 2018;110(4):661–670.e1.
- [7] Law YJ, Zhang N, Venetis CA, et al. The number of oocytes associated with maximum cumulative live birth rates per aspiration depends on female age: a population study of 221 221 treatment cycles. *Hum Reprod*. 2019;34(9):1778–1787.
- [8] Balachandren N, Salman M, Diu NL, et al. Ovarian reserve as a predictor of cumulative live birth. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2020;252:273–277.
- [9] Arce JC, La Marca A, Mirner Klein B, et al. Antimüllerian hormone in gonadotropin releasing-hormone antagonist cycles: prediction of ovarian response and cumulative treatment outcome in good-prognosis patients. *Fertil Steril*. 2013;99(6):1644–1653.
- [10] Li HWR, Lee VCY, Lau EYL, et al. Role of baseline antral follicle count and anti-Müllerian hormone in prediction of cumulative live birth in the first in vitro fertilisation cycle: a retrospective cohort analysis. *PLoS One*. 2013;8(4):e61095.
- [11] Hamdine O, Eijkemans MJC, Lentjes EGW, et al. Antimüllerian hormone: prediction of cumulative live birth in gonadotropin-releasing hormone antagonist treatment for in vitro fertilization. *Fertil Steril*. 2015;104(4):891–898.e2.
- [12] Alson SSE, Bungum LJ, Giwercman A, et al. Anti-müllerian hormone levels are associated with live birth rates in ART, but the predictive ability of anti-müllerian hormone is modest. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2018;225:199–204.
- [13] Broekmans FJM, De Ziegler D, Howles CM, et al. The antral follicle count: practical recommendations for better standardization. *Fertil Steril*. 2010;94(3):1044–1051.
- [14] Sharara FI, Lim J, McClamrock HD. The effect of pituitary desensitization on ovarian volume measurements prior to in-vitro fertilization. *Hum Reprod*. 1999;14(1):183–185.
- [15] Ng EHY, Chan CCW, Tang OS, et al. Effect of pituitary downregulation on antral follicle count, ovarian volume and stromal blood flow measured by three-dimensional ultrasound with power doppler prior to ovarian stimulation. *Hum Reprod*. 2004;19(12):2811–2815.
- [16] Jayaprakasan K, Campbell BK, Hopkisson JE, et al. Effect of pituitary desensitization on the early growing follicular cohort estimated using anti-Müllerian hormone. *Hum Reprod*. 2008;23(11):2577–2583.
- [17] Jayaprakasan K, Hopkisson JE, Campbell BK, et al. Quantification of the effect of pituitary down-regulation on 3D ultrasound predictors of ovarian response. *Hum Reprod*. 2008;23(7):1538–1544.
- [18] Khairy M, Clough A, El-Toukhy T, et al. Antral follicle count at down-regulation and prediction of poor ovarian response. *Reprod Biomed Online*. 2008;17(4):508–514.
- [19] Tran ND, Aghajanova L, Kao CN, et al. Impact of pituitary suppression on antral follicle count and oocyte recovery after ovarian stimulation. *Fertil Steril*. 2016;105(3):690–696.
- [20] Cardenas Armas DF, Peñarubia J, Goday A, et al. Frozen-thawed blastocyst transfer in natural cycle increase implantation rates compared artificial cycle. *Gynecol Endocrinol*. 2019;35(10):873–877.
- [21] Golan A, Ron-El R, Herman A, et al. Ovarian hyperstimulation syndrome: an update review. *Obstet Gynecol Surv*. 1989;44(6):430–440.
- [22] Duffy JMN, Bhattacharya S, Boffill M, et al. Standardizing definitions and reporting guidelines for the infertility core outcome set: an international consensus development study. *Fertil Steril*. 2021;115(1):201–212.
- [23] Zegers-Hochschild F, Adamson GD, Dyer S, et al. The international glossary on infertility and fertility care, 2017. *Hum Reprod*. 2017;32(9):1786–1801.

- [24] Zegers-Hochschild F, Adamson GD, Dyer S, et al. The international glossary on infertility and fertility care, 2017. *Fertil Steril.* 2017;108(3):393–406.
- [25] Martínez F, Mancini F, Solé M, et al. Antagonist rescue of agonist IVF cycle at risk of OHSS: a case series. *Gynecol Endocrinol.* 2014;30(2):145–148.
- [26] Martínez F, Rodríguez DB, Buxaderas R, et al. GnRH antagonist rescue of a long-protocol IVF cycle and GnRH agonist trigger to avoid ovarian hyperstimulation syndrome: three case reports. *Fertil Steril.* 2011;95(7):2432.e17–2432.e19.
- [27] Hill MJ, Chason RJ, Payson MD, et al. GnRH antagonist rescue in high responders at risk for OHSS results in excellent assisted reproduction outcomes. *Reprod Biomed Online.* 2012;25(3):284–291.
- [28] Goyal A, Kuchana M, Ayyagari KPR. Machine learning predicts live-birth occurrence before in-vitro fertilization treatment. *Sci Rep.* 2020;10(1):20925.
- [29] Hassan MR, Al-Insaif S, Hossain MI, et al. A machine learning approach for prediction of pregnancy outcome following IVF treatment. *Neural Comput & Applic.* 2020;32(7):2283–2297.