



1^{ER} PREMIO

UTILIDAD DEL EMPLEO DE OVOSICARE® ProFIV EN CICLOS DE FECUNDACIÓN *IN VITRO*: A PROPÓSITO DE UN CASO

Dr. Luis Ignacio Devesa Otero

Hospital Vithas, Vigo y Centro médico Vithas, Pontevedra

RESUMEN

El objetivo de presentar este caso es evaluar el impacto del uso del compuesto de inosítoles y probióticos (Ovosicare® ProFIV) previo a FIV en pareja que consigue gestación tras fallos previos.

PALABRAS CLAVE

Ratio 3.6:1 Myo-inositol y D-chiro inositol. Probióticos. Microbiota. Calidad ovocitaria. Calidad embrionaria.



HISTORIA CLÍNICA Y ANAMNESIS

Pareja heteroparental, ambos cisgénero, que acuden a primera consulta en 2022. En este momento, la mujer tiene 36 años y el varón, 45. Presentan historia de disfunción reproductiva de años de evolución y han realizado 3 tratamientos de reproducción asistida en otros centros 2 ciclos de inseminación artificial (IAC) y un ciclo de fecundación *in vitro* (FIV). En su primer ciclo de FIV, consiguen 3 embriones en día 3, sin alcanzar gestación.

Como antecedentes personales de la mujer, destacan la alergia a trimetopimsulfametoxazol y la ausencia de enfermedades más allá de infección del tracto urinario (ITU) no complicadas. Intervenido de amigdalectomía, nunca ha gestado y presentó su menarquia a los 14 años. Ciclos regulares. No presenta antecedentes familiares. Por

su parte, el varón presenta únicamente infección por hepatitis C (VHC) crónica, con carga viral indetectable y ha sido intervenido de apendicectomía. Por lo demás, sin otros antecedentes. No tiene hijos previos.



EXPLORACIÓN FÍSICA Y DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

En la primera consulta, realizamos una exploración física exhaustiva de la paciente, que incluye una evaluación ginecológica completa, sin detectar alteraciones aparentes. Se observa un recuento folicular en el límite de la normalidad (RFA 4/6), sin evidenciar anomalías anatómicas o estructurales müllerianas.

Los ciclos de inseminación previos se realizaron con gonadotropina menopáusica humana (hMG) y Letrozol. El ciclo

de FIV previo se realizó con un protocolo combinado de hormona folículo estimulante (FSH) recombinante y hMG. El resultado fue 12 ovocitos recuperados, 8 fecundados y 3 embriones en D+3 de desarrollo, que se transfieren sin conseguir embarazo. Teniendo esto en cuenta, podemos inferir la presencia de un factor mixto, a pesar de que no tenemos datos de llegada a blastocisto dado que el cultivo se detuvo en día 3.

Para afinar en el diagnóstico concreto, se realizan diferentes estudios.

Pruebas complementarias realizadas a la paciente mujer:

- Analítica completa y serológica sin alteraciones relevantes. Inmune a Rubéola.
- Cultivos vaginales y endocervicales: *Candida Albicans* que se trata de forma local
- Cariotipo en sangre: 46, XX (normal).
- Citología cérvico-vaginal triple toma: negativa para lesión intraepitelial y malignidad.
- Test de reserva folicular. Recuento de folículos antrales: 6 (ovario derecho) + 4 (ovario izquierdo) y Determinación de Hormona Antimülleriana (AMH) de 3,0 ng/mL.
- Grupo sanguíneo: A positivo.
- Cultivo de orina: positivo *Escherichia Coli*, tratada con amoxicilina (875 mg) + ácido clavulánico (125 mg). Se confirma negatividad del urocultivo posterior al tratamiento.

Pruebas complementarias realizadas al paciente varón:

- Seminograma completo: diagnóstico de astenozoospermia (Movilidad total 10%).

- Cariotipo: 46, XY (normal).
- Serología infecciosa: Positividad para anticuerpos VHC. Carga viral indetectable. Resto de pruebas serológicas negativas.
- Grupo Sanguíneo: A positivo.

TRATAMIENTOS Y EVOLUCIÓN

Valorado el caso, optamos por indicar un tratamiento de FIV con óvulos propios, añadiendo el uso de columnas de anexina con intención de mejorar la tasa de fecundación. Igualmente, recomendamos realizar cultivo embrionario hasta estadio de blastocisto. Se realiza un tratamiento de estimulación ovárica controlada para FIV en marzo de 2022 con las siguientes peculiaridades:

- Tratamiento previo: ninguno.
- Protocolo de estimulación corto con análogos antagonistas de la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH).
- Tratamiento con gonadotropinas: combinación de FSHr y LHr a una dosis de 262,5 UI diarias, iniciada el día 2 del ciclo y administrada durante un total de 9 días.
- Recuperación ovocitaria: se obtienen 16 ovocitos, de los cuales 14 están en estadio metafase II (MII), 1 en estadio metafase I (MI) y 1 en estadio vesícula germinal (VG).
- Calidad ovocitaria (Ver tabla I y Anexo 1).
- Técnicas de laboratorio empleadas: inyección intracitoplasmática (ICSI) y aplicación de columnas de anexina.
- Tasa de Fecundación: 85,7% (12 fecundados de 14 MII microinyectados).

TABLA I. Resultados finales de evaluación cualitativa de ciclos de FIV.

	Puntuación total ovocitos	Fecundación correcta	Puntuación fecundación	Llegada a D+5/+6	PGTA	Embarazo evolutivo
Ciclo inicio	0,86	85,71%	58,30%	25%	ND	No
Ciclo tras tratamiento previo	0,9	80%	75%	50%	1BT	Sí

- Evolución embrionaria: Se realiza cultivo embrionario hasta estadio de blastocisto, alcanzando la vitrificación de 3 embriones en día +5 (Ver tabla I y Anexo 1).

Se transfieren todos los embriones generados y no se consigue gestación. Ante esta situación, diagnosticamos a los pacientes con fallo de implantación, de acuerdo con los criterios actuales y recomendamos estudios complementarios en búsqueda de diagnóstico etiológico para dicha condición²:

- Test de receptividad endometrial en ciclo sustituido^{3,4} (con 120 horas de progesterona): Endometrio receptivo.
- Test de evaluación de microbioma endometrial: Dominancia de *Lactobacillus* (99,51%).
- Test de gérmenes patógenos que ocasionan endometritis crónica: no se detectan. No se requiere ninguna intervención.
- Histeroscopia diagnóstica: sin alteraciones.
- Estudio de trombofilias: negativo.
- Estudio básico de autoinmunidad: negativo.
- En caso de nuevo ciclo, recomendamos estudio genético preimplantacional de aneuploidías (PGTA).

Una vez finalizados los estudios complementarios realizados, los pacientes de-

ciden realizar un nuevo ciclo de FIV con gametos propios en octubre de 2022. Particularidades:

- Tratamiento previo: complejo vitamínico con base de inositoles y probióticos (Ovosicare® ProFIV) con un período de 31 días previos a la estimulación y hasta completar 3 meses de duración (incluyendo estimulación).
- Protocolo de estimulación corto con análogos antagonistas de la GnRH como bloqueantes hipofisarios.
- Tratamiento gonadotropo: combinación de FSHr+LHr a dosis de 262,5 UI por día desde el día 2 del ciclo, durante una duración total de 8 días.
- Recuperación ovocitaria: se recuperan 6 ovocitos, 5 MII y 1 VG.
- Calidad ovocitaria (Ver tabla I y Anexo 1).
- Técnicas de laboratorio empleadas: ICSI y aplicación de columnas de anexina.
- Tasa de Fecundación: 80% (4 fecundados de 5 MII microinyectados).
- Evolución embrionaria: Se realiza cultivo embrionario hasta estadio de blastocisto, alcanzando la vitrificación de 2 embriones en día +5 (Ver tabla I y Anexo 1).
- Análisis PGTA de los embriones obtenidos: un embrión euploide y un embrión aneuploide.

Ciclo 1 FIV inicio 28/03/2022														
trigger 216	ovocitos recuperados	MM	ZP uniforme (sí/no)	citoplasma uniforme (sí/no)	corpusculo polar tamaño adecuado (sí/no)	espacio perivitelino/pr esencia inclusiones (sí/no)	vacuolización (sí/no)	REL (sí/no)	fecundación	hilo citoplasmático (sí/no)	división temprana	Blastocisto	Resultado PGTA	embarazo
10	16	14	1 sí	sí	sí	no	no	no	sí	no	no	no		
			2 sí	sí	sí	no	no	no	NF	no	no	no		
			3 no	sí	sí	no	no	no	sí	sí	no	no		
			4 sí	sí	sí	sí	no	sí	sí	sí	no	no		
			5 sí	sí	sí	sí	no	no	sí	sí	no	no		
			6 sí	sí	sí	no	no	no	sí	sí	no	no		No
			7 sí	sí	sí	sí	no	no	sí	sí	no	D+5, BB		
			8 sí	sí	no	sí	no	no	NF	no	no	no		
			9 sí	sí	sí	sí	no	no	sí	sí	no	no		No
			10 no	sí	sí	no	no	no	sí	no	no	D+5, BB		
			11 no	sí	sí	no	no	no	sí	no	no	no		
			12 no	sí	sí	no	no	no	sí	no	no	no		
			13 sí	no	sí	sí	no	no	sí	sí	no	D+5, BB		No
			14 sí	sí	sí	no	no	no	sí	no	no	no		
Ciclo 2 FIV+PGTA inicio 01/11/2022														
trigger 216	ovocitos recuperados	MM	ZP uniforme (sí/no)	citoplasma uniforme (sí/no)	corpusculo polar tamaño adecuado (sí/no)	espacio perivitelino/pr esencia inclusiones (sí/no)	vacuolización (sí/no)	REL (sí/no)	fecundación	hilo citoplasmático (sí/no)	división temprana	Blastocisto	Resultado PGTA	embarazo
6	5													
			1 sí	sí	sí	sí	no	no	sí	sí	no	no		
			2 sí	sí	sí	no	no	sí	no	no	no	no		
			3 sí	sí	sí	no	no	no	no	no	no	no		
														bHCG positiva- embarazo evolutivo
			4 no	sí	sí	no	no	no	sí	sí	no	D+6 BB		
			5 sí	sí	sí	sí	no	no	sí	sí	no	D+6 BB		aneuploide

Sistema de evaluación cualitativa de ciclos sucesivos basados en criterios de la ESHRE⁵

a) Calidad Ovocitaria

En cada ovocito MII recuperado en los ciclos de estimulación se evaluaron los siguientes parámetros de buen pronóstico: zona pelúcida uniforme, citoplasma homogéneo y corpúsculo polar de tamaño adecuado.

- Considerados mal pronóstico: Presencia de inclusiones citoplasmáticas en el espacio perivitelino, presencia de vacuolas y de retículo endoplásmático liso.

Se trató como "1" a los valores positivos y "0" a los valores negativos, dando una puntuación total a cada ovocito (ver Anexo 1). De esta manera se obtuvo un valor para cada uno de los óvulos del ciclo y posteriormente se realizó la media de todos los ovocitos pertenecientes al mismo ciclo.

b) Fecundación

Se valoró la correcta fecundación (o ausencia de ella) de cada uno de los ovocitos recuperados, y se calculó el porcentaje de ovocitos bien fecundados por ciclo.

De forma paralela a como se realizó para la evaluación de la calidad ovocitaria, a la hora de valorar la correcta fecundación se tuvieron en cuenta: la presencia de halo citoplasmático y la eventual existencia de división temprana.

El sistema de puntuación también fue similar, adjudicando un valor de "1" a los parámetros positivos y un valor de "0" a los negativos.

c) Cultivo Embrionario

Para valorar esta parte del ciclo, hemos tenido en cuenta el alcance embrionario a

estadío de blastocisto, considerando como "n" total el número de ovocitos bien fecundados a D+1 de cultivo embrionario.

Resultados de la evaluación cualitativa de ciclos sucesivos

a) Calidad Ovocitaria

En el ciclo de FIV sin tratamiento previo con inositoles y probióticos, la media de puntuación de los ovocitos calculada según el sistema descrito previamente, arroja de un valor de 0,86. Calculando la misma media de puntuación en el ciclo de FIV en el que se realiza tratamiento previo con inositoles y probióticos (Ovosicare® ProFIV), observamos que el valor calculado es 0,9. Estos resultados sugieren el posible efecto beneficioso de los inositoles y probióticos como tratamiento previo al ciclo, aunque probablemente esta mejora sea ligera.

b) Fecundación

Atendiendo al ciclo sin tratamiento con inositoles y probióticos previo, observamos una correcta fecundación en 12 de los 14 ovocitos microinyectados, lo que supone un porcentaje de 85,71%. En relación al ciclo con tratamiento previo con inositoles y probióticos, podemos identificar una fecundación correcta de 4 de los 5 ovocitos microinyectados (fecundación del 80%). En cuanto a la puntuación para establecer la valoración cualitativa, obtenemos que en el primero de los tratamientos, el 58,3 % de los ovocitos tenían un parámetro de buen pronóstico, porcentaje que aumenta hasta el 75% tras el tratamiento con inositoles y probióticos (Ovosicare® ProFIV) previos. De esta manera, podemos inferir que la fecundación correcta se ve ligera-

mente reducida en el segundo tratamiento, mientras que los parámetros de buen pronóstico para el desarrollo embrionario y evolución del ciclo se manifiestan más frecuentemente en los ovocitos procedentes del ciclo con tratamiento previo con inositoles y probióticos.

c) Cultivo embrionario

Al finalizar el cultivo embrionario durante el primer ciclo de FIV, se obtienen 3 blastocistos de 12 ovocitos bien fecundados a D+1, lo que arroja una tasa de llegada a este estadio del 25% de dichos ovocitos. En el segundo ciclo de estimulación, se obtienen 2 embriones en estadio de blastocisto de 4 ovocitos bien fecundados a D+1, observando en este caso una tasa de llegada a D+5/+6 del 50%. En la valoración comparativa de este parámetro, observamos una clara mejoría de la tasa de llegada a D+5/6 de los embriones generados en el ciclo con tratamiento previo con inositoles y probióticos (del 25 al 50%).

RESULTADO FINAL

En el primero de los ciclos de FIV se realizan 2 transferencias embrionarias de los 3 embriones obtenidos, ambas en ciclo natural modificado. No se consigue gestación. En el segundo de los ciclos de FIV, realizamos transferencia en ciclo sustituido del embrión euploide, consiguiéndose beta-hCG positiva 11 días después de la transferencia.

En controles ecográficos posteriores, se confirma gestación evolutiva. Actualmente, los pacientes se encuentran en semana 31 de gestación, con estudios ecográficos y

analíticos de la gestación que demuestran evolución normal de la misma.

DIAGNÓSTICOS FINALES

- 1) Disfunción reproductiva primaria de Factor Mixto.
- 2) Fallos previos de técnicas de reproducción asistida.
- 4) Fallo de implantación sin etiología identificable.
- 5) Gestación evolutiva.

DISCUSIÓN Y DESCRIPCIÓN DE LA IMPORTANCIA DEL CASO

Hemos de tener en cuenta que el análisis que hemos expuesto con la intención de establecer la utilidad del uso de preparados a base de inositoles y probióticos previo a un ciclo de FIV presenta claras limitaciones metodológicas.

Por un lado, en lo que atañe al reclutamiento folicular, claramente disminuido en el segundo ciclo de tratamiento, es difícil precisar la causa, ya que existen determinados factores, como ambientales, posible disminución de la reserva ovárica por el decalaje temporal entre un ciclo y el siguiente o incluso la propia variabilidad intercíclica fisiológica en cuanto a reclutamiento folicular, que pueden condicionar estas diferencias. No es posible establecer la relación del empleo de preparados señalados con anterioridad con este detrimento en el número de ovocitos.

Por otra parte, la calidad ovocitaria, la fecundación y, sobre todo, la llegada a estadio de blastocisto, parecen presentar unos parámetros más favorables en rela-

ción con el uso de los preparados objeto de estudio; salvo por el porcentaje de fecundación correcta levemente disminuido, que podría estar en relación con la baja recuperación ovocitaria más que con un empeoramiento secundario al uso de los preparados.

Es preciso señalar también que, a pesar de que los criterios morfológicos y clínicos para evaluar la calidad ovocitaria y embrionaria se obtienen a partir de los parámetros de pronósticos indicados por el Consenso de Estambul⁵ (2011), el sistema de puntuación que hemos establecido es arbitrario, y tiene como única finalidad conseguir una aproximación cuantitativa para la evaluación de parámetros cualitativos ovocitarios y embrionarios.

Finalmente, en cuanto a las diferencias entre ciclos, cabe señalar que en el segundo de ellos se realizó un estudio genético preimplantacional a toda la cohorte embrionaria alcanzada, con una tasa de aneuploidía del 50%, de forma que el embrión colocado tenía una tasa de gestación esperada mayor a la que presentaban los embriones generados en el primer ciclo para cada transferencia. Aunque, atendiendo a la tasa de aneuploidía esperada por edad⁶ existen altas probabilidades de que alguno de los embriones transferidos en el primer ciclo fuera euploide, esto no puede ser confirmado con los datos de los que disponemos.

Como conclusión, cabe señalar una vez más que resulta complicado evaluar la eficacia de un compuesto a base de ino-

sitales y probióticos en la comparación de dos ciclos en una misma paciente, ya que intervienen otros factores que pueden condicionar la respuesta y la evolución del tratamiento. A pesar de que en nuestro caso el resultado fue favorable al uso de estos preparados, estudios más consistentes deberían ser desarrollados para evaluar de forma más concreta la idoneidad del empleo de los mismos.

BIBLIOGRAFÍA

1. ESHRE Working Group on Recurrent Implantation Failure. ESHRE good practice recommendations on recurrent implantation failure. *Hum Reprod Open*. 2023;3(2023). DOI: 10.1093/hropen/hoad023.
2. Bashiri A, Halper KI, Orvieto R. Recurrent Implantation Failure-update overview on etiology, diagnosis, treatment and future directions. *Reprod Biol Endocrinol*. 2018;16:121. DOI: 10.1186/s12958-018-0414-2.
3. Von Grothusen C, Frisendahl C, Modhukur V, et al. Uterine fluid microRNAs are dysregulated in women with recurrent implantation failure. *Hum Reprod*. 2022;37(4):734-746. DOI: 10.1093/humrep/deac019.
4. Mahajan N. Endometrial receptivity array: Clinical application. *J Hum Reprod Sci*. 2015 Jul-Sep;8(3):121-129. DOI: 10.4103/0974-1208.165153.
5. Alpha Scientists in Reproductive Medicine and ESHRE Special Interest Group of Embryology. The Istanbul consensus workshop on embryo assessment: proceedings of an expert meeting. *Hum Reprod*. 2011 Jun;26(6):1270-1283. DOI: 10.1093/humrep/der037.
6. Franasiak JM, Forman EJ, Hong KH, Werner MD, 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 Mar;101(3):656-663. e1. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2013.11.004