

UNIVERSIDAD DE OVIEDO

**MÁSTER UNIVERSITARIO EN BIOLOGÍA**

**Y**

**TECNOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN**

**“EFECTO DE LA METFORMINA EN LA  
ESTIMULACIÓN OVÁRICA  
CONTROLADA EN MUJERES CON  
SÍNDROME DE OVARIO POLIQUÍSTICO”**

**TRABAJO FIN DE MÁSTER**

**Autora:** Patricia Magadán Corpas

**Tutor:** Abel Gayo Lana

Junio 2014

## **Agradecimientos**

Tras este año de dedicación al máster y como no podía ser de otra manera, se hace necesario dar las gracias a aquellos que me han ayudado y apoyado en este último tramo que, para mí, ha sido el más difícil.

Por ello me gustaría dar las gracias a todos los grandes profesionales que forman parte de FIV4 por la acogida que me dieron en el periodo de prácticas, la siempre buena predisposición a enseñar y por el buen rollo que se respira. Y muy especialmente al Dr. Abel Gayo por estos dos últimos meses de dedicación al presente trabajo, por estar siempre dispuesto a ayudar sacando tiempo de donde no lo tiene y siempre con una sonrisa.

Gracias también a mis padres y a Juanjo por aguantar mis “ahora no que me desconcentras” y mis días de bajón, y por el apoyo y los ánimos. Y a Cris por las pocas aunque largas conversaciones telefónicas en la distancia.

## Índice

1. Introducción.....	1
1.1. Síndrome de ovario poliquístico.....	1
1.2. La resistencia a la insulina en el SOP.....	3
1.3. Estimulación ovárica controlada en ciclos FIV.....	11
1.3.1. Agonistas de la GnRH.....	12
1.3.2. Antagonistas de la GnRH.....	13
1.3.3. Uso de gonadotropinas en pacientes con ovarios poliquísticos.....	14
1.4. El síndrome de hiperestimulación ovárica.....	15
1.5. La metformina en el SOP.....	19
2. Hipótesis y Objetivos.....	21
3. Materiales y Métodos.....	23
4. Resultados.....	39
4.1. Tso LO 2009.....	39
4.2. Kumbak 2009.....	44
4.3. Qublan 2009.....	46
4.4. Palomba, Falbo, Carrillo 2011.....	48
4.5. Palomba, Falbo, Di Cello 2011.....	50
4.6. Palomba, Falbo, Russo 2012.....	52
5. Discusión.....	57
6. Conclusiones.....	69
7. Referencias Bibliográficas.....	70

## Lista de abreviaturas

- **17-OHP:** 17 $\alpha$ -hidroxiprogesterona
- **A:** Androstenediona
- **AFC:** Recuento de Folículos Antrales (*Antral Follicle Count*)
- **ASRM:** Sociedad Americana de Medicina Reproductiva (*American Society for Reproductive Medicine*)
- **CC:** Citrato de Clomifeno
- **CI:** Intervalo de Confianza (*Confidence Interval*)
- **DHEAS:** Dehidroepiandrosterona Sulfato
- **E<sub>2</sub>:** Estradiol
- **EOC:** Estimulación Ovárica Controlada (*COS – Controlled Ovarian Stimulation*)
- **ESHRE:** Sociedad Europea de Reproducción Humana y Embriología (*European Society of Human Reproduction and Embryology*)
- **ET:** Embrio-transferencia
- **FAI:** Índice de Andrógenos Libres (*Free Androgen Index*)
- **FIV:** Fecundación In Vitro (*IVF – In Vitro Fertilization*)
- **FSH:** Hormona Folículo-estimulante (*Follicle Stimulating Hormone*)
- **Glut-4:** Transportador de Glucosa tipo 4 (*Glucose Transporter type 4*)
- **GnRH:** Hormona Liberadora de Gonadotropinas (*Gonadotropin Releasing Hormone*)
- **GnRH<sub>a</sub>:** Agonista de la Hormona Liberadora de Gonadotropinas
- **GnRH<sub>ant</sub>:** Antagonista de la Hormona Liberadora de Gonadotropinas
- **hCG:** Gonadotropina Coriónica Humana (*Human Chorionic Gonadotropin*)
- **HMG:** Gonadotropina Menopáusica Humana (*Human Menopausal Gonadotropin*)
- **hp-FSH:** Hormona Folículo-estimulante altamente purificada (*highly purified-FSH*)
- **hp-HMG:** Gonadotropina Menopáusica Humana altamente purificada
- **ICSI:** Inyección Intracitoplasmática de Espermatozoide (*Intracytoplasmic Sperm Injection*)

- **IGF-I/II:** Factor de Crecimiento Similar a la Insulina tipo I/II (*Insulin-like Growth Factor type I/II*)
- **IGFBP-1:** Proteína Ligadora del Factor de Crecimiento Similar a la Insulina tipo 1 (*Insulin-like Growth Factor Binding Protein type 1*)
- **IMC:** Índice de Masa Corporal (*BMI – Body Mass Index*)
- **IQR:** Rango Intercuartil (*Interquartile Range*)
- **IRS-1:** Sustrato del Receptor de Insulina 1 (*Insulin Receptor Substrate 1*)
- **LH:** Hormona Luteinizante (*Luteinizing Hormone*)
- **NIH:** Institutos Nacionales de Salud de Estados Unidos (*National Institutes of Health*)
- **NS:** No Significativo
- **OR:** Odds Ratio
- **P:** Progesterona
- **PI3K:** Complejo Fosfatidilinositol-3-quinasa (*Phosphatidylinositol-3-kinase*)
- **PKC:** Proteín-quinasa C (*Protein Kinase C*)
- **PRL:** Prolactina
- **rec-FSH:** Hormona Folículo-estimulante recombinante
- **SHBG:** Globulina Fijadora de Hormonas Sexuales (*Sex Hormone Binding Globulin*)
- **SHO:** Síndrome de Hiperestimulación Ovárica (*OHSS – Ovarian Hyperstimulation Syndrome*)
- **SOP:** Síndrome de Ovario Poliquístico (*PCOS – Polycystic Ovarian Syndrome*)
- **T:** Testosterona
- **TNF $\alpha$ :** Factor de Necrosis Tumoral alfa (*Tumor Necrosis Factor alfa*)
- **TSH:** Hormona Estimulante de la Tiroides (*Thyroid-stimulating Hormone*)
- **VEGF:** Factor Vascular de Crecimiento Endotelial (*Vascular Endothelial Growth Factor*)
- **WHR:** Ratio Cintura-Cadera (*Waist-Hip Ratio*)
- **WMD:** Diferencia Media (*Weighted Mean Difference*)

# **1. Introducción**

## **1.1. Síndrome de ovario poliquístico**

El síndrome de ovario poliquístico (SOP) fue descrito por primera vez por Stein y Leventhal en 1935 como un agrandamiento de los ovarios con presencia de múltiples quistes pequeños, en asociación con amenorrea e hirsutismo.

Es la afección endocrina que más frecuentemente afecta a mujeres jóvenes en edad reproductiva y su prevalencia se estima entre un 4% y un 10% (30).

El SOP es un trastorno heterogéneo que suele diagnosticarse en la adolescencia e implica una combinación de síntomas tales como, irregularidades menstruales, hiperandrogenismo, hirsutismo, acné, obesidad... aunque no siempre se dan todos en una misma mujer ni con la misma intensidad. También se habla de que es la causa endocrina más común de infertilidad anovulatoria (40% de las mujeres con SOP (31)) y representa un mayor riesgo de diabetes mellitus 2 y de enfermedad cardiovascular, así como también se ha asociado con un mayor riesgo de cáncer de endometrio y mama. Por todo esto, en la actualidad el SOP ha dejado de considerarse un trastorno meramente reproductivo, para pasar a centrarse en prevenir las alteraciones metabólicas y en corregir, dentro de lo posible, los cambios hormonales propios de este síndrome (6).

Actualmente existe un gran debate en torno a los criterios que deben utilizarse para definir el SOP. Debido a la naturaleza heterogénea del síndrome, no existe un acuerdo universal en cuanto al establecimiento de una definición precisa y de los criterios diagnósticos (6).

En dos ocasiones se han intentado establecer consensos a través de reuniones de grupos de expertos. El primero de ellos tuvo lugar en 1990 por los Institutos Nacionales de Salud de Estados Unidos (NIH); el segundo ocurrió en Rotterdam en 2003, conjuntamente por la Sociedad Europea de Reproducción Humana y Embriología (ESHRE) y la Sociedad Americana de Medicina Reproductiva (ASRM) (6). En ellos se

establecieron los criterios actuales para el diagnóstico del SOP, los cuales se muestran a continuación en la Tabla 1:

Tabla 1: Criterios actuales para el diagnóstico del SOP.

<i>Consenso</i>	<i>Criterios</i>
<i>NIH, 1990</i>	<p>Debe incluir todos los siguientes:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Hiperandrogenismo, hiperandrogenemia o ambos</li> <li>- Oligoovulación</li> <li>- Exclusión de otras afecciones relacionadas</li> </ul>
<i>ESHRE/ASRM (Rotterdam, 2003)</i>	<p>Debe incluir dos de los siguientes, además de la exclusión de otras afecciones relacionadas:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Anovulación u oligoovulación</li> <li>- Signos clínicos bioquímicos o ambos de hiperandrogenismo</li> <li>- Ovarios poliquísticos por ultrasonido (12 o más folículos de 2-9mm de diámetro en cada ovario y/o volumen ovárico &gt;10ml)</li> </ul>

Hiperandrogenismo: término usado para describir los signos clínicos más comunes en las mujeres con hiperandrogenemia.  
 Otras afecciones relacionadas: hiperplasia suprarrenal congénita, hiperprolactinemia, hipotiroidismo o síndrome de Cushing

No todas las mujeres con SOP presentan los mismos signos clínicos, la ocurrencia de estos síntomas y signos es muy variable, lo que dificulta el diagnóstico. Hay mujeres con fenotipo de hiperandrogenismo clínico, bioquímico o ambos y con morfología de ovarios poliquísticos demostrados por ultrasonido, pero sin trastornos ovulatorios y, por otro lado, existen mujeres con anovulación u oligoovulación y ovarios poliquísticos en ecografía, pero sin datos clínicos ni bioquímicos de hiperandrogenismo.

Además, la asociación del SOP con trastornos metabólicos está plenamente documentada y constituye una preocupación en el manejo integral de las pacientes con este síndrome. En concreto, cada vez parece estar tomando más importancia en mujeres con SOP, su asociación con la resistencia a la insulina, de forma que, si se mejora la sensibilidad a esta hormona con cambios en el estilo de vida o intervención farmacológica (sensibilizantes a la insulina), se mejorarían las alteraciones derivadas de ella.

Sin embargo, el problema a la hora de definir el SOP en base a esta resistencia a la insulina es el hecho de que, aunque la mayoría de las mujeres con SOP presenta resistencia a la insulina e hiperinsulinemia, así como obesidad, en particular de fenotipo abdominal, ninguno de estos factores se incluye en los criterios que se utilizan actualmente para definir el síndrome. De acuerdo con el consenso de

Rotterdam, no sería necesario realizar pruebas de resistencia a la insulina para establecer el diagnóstico del SOP, ni para seleccionar el tratamiento adecuado. Es más, recientemente, la Sociedad de Exceso de Andrógenos y Síndrome de Ovarios Poliquísticos (AE-PCOS Society) propuso una nueva definición de este síndrome dando mayor relevancia al exceso de andrógenos clínico y bioquímico sobre las alteraciones funcionales ováricas (oligo o anovulación) y morfológicas (ovarios poliquísticos), además de excluir otras causas de exceso de andrógenos o de otras alteraciones relacionadas, entre las que se encuentra la resistencia a la insulina, lo que desvincula al SOP de la resistencia a la insulina (6).

Hoy en día, el abordaje diagnóstico del SOP depende de la causa que lleve a la paciente a solicitar consulta médica. Ya sea una mujer que curse únicamente con irregularidades menstruales y algunos signos de virilización (hirsutismo, acné o ambos), pasando por la mujer con dificultad para lograr un embarazo, hasta la mujer con signos evidentes de síndrome metabólico (obesidad abdominal, trastorno de los lípidos en sangre, alteración del manejo de la glucosa e hipertensión) y resistencia a la insulina, además del hirsutismo y las irregularidades menstruales.

La causa del SOP permanece aún sin esclarecerse, aunque existen evidencias de que es multifactorial.

## **1.2. La resistencia a la insulina en el SOP**

Aún hoy en día la causa del SOP continúa siendo investigada y lo más probable, es que no sea causa de un único evento, sino de un conjunto de alteraciones que lleven a los desequilibrios que dan lugar al síndrome.

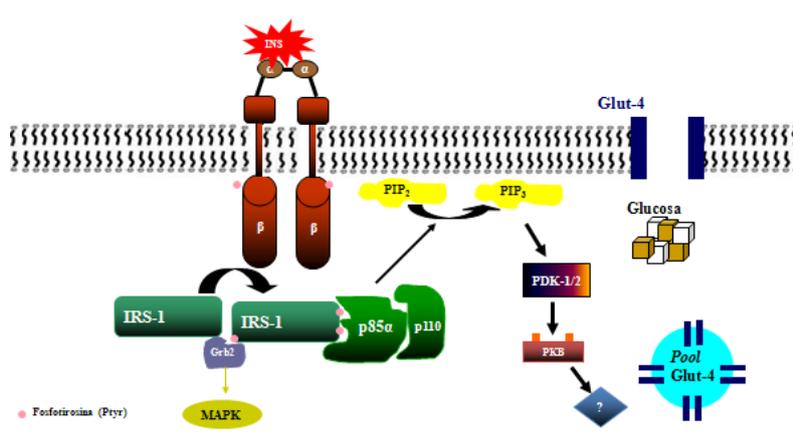
La resistencia a la insulina se postula como una de las posibles causas del SOP, y está presente en un alto porcentaje de las mujeres con este síndrome, un 70% (34).

Tras las comidas aumentan los niveles de glucosa, este aumento es captado por las células  $\beta$  del páncreas y en consecuencia se sintetiza y libera insulina para que esta

glucosa sea captada por los tejidos insulino-dependientes con el fin de producir energía y así, los niveles de glucosa circulantes disminuirán.

La resistencia a la insulina se caracteriza por un fallo en la regulación de la ruta de señalización intracelular de la insulina, que desencadenaría en la incapacidad, por parte de las células de los tejidos insulino-dependientes (principalmente hígado, tejido adiposo y músculo), de captar la glucosa, por lo que los niveles de ésta seguirán elevados y será una señal para que el páncreas siga secretando insulina. Con este exceso de insulina se conseguirá mantener los niveles de glucosa a raya, por lo que el mayor problema de la resistencia a la insulina, es la hiperinsulinemia derivada de ella. Si el páncreas no alcanzara a compensar la insulino-resistencia con la producción de insulina, se originaría hiperglicemia y en consecuencia diabetes, lo cual ocurre en un 20% de los casos (21).

Figura 1: Ruta de señalización intracelular de la insulina.



Como se muestra en la Figura 1, el transporte de glucosa a las células mediado por insulina, depende de la translocación del transportador de glucosa Glut-4 a la membrana celular. En condiciones normales, la acción de la insulina en la captación de glucosa se inicia con su unión al receptor tirosin-quinasa de insulina, lo que determina la fosforilación de éste y también del sustrato del receptor de insulina 1 (IRS-1) en residuos de tirosina (14). Estos residuos de fosfotirosina permitirán la unión y activación del complejo fosfatidilinositol-3-quinasa (PI3K), formado por las subunidades p85 y p110, lo que desencadenará una cascada cuyo resultado final es la translocación de Glut-4 a la membrana, lo que permitirá la captación de glucosa.

Aunque la resistencia a la insulina se ha descrito tanto en mujeres obesas como en delgadas con SOP, existe una mayor correlación entre el SOP y la resistencia a la insulina, así como un agravamiento en el grado de resistencia, en la hiperinsulinemia y en los síntomas, en mujeres con sobrepeso u obesidad (36). La obesidad precipitaría las manifestaciones clínicas del síndrome en mujeres predispuestas a él o lo agravaría en aquellas mujeres ya afectas (5).

En mujeres delgadas aún se desconocen las causas por las que se daría lugar al mencionado fallo en la ruta de señalización de la insulina y a la consiguiente resistencia a la insulina e hiperinsulinemia de la que partirían todas las alteraciones del SOP. Se piensa que, en estas mujeres, puede ser a causa de un defecto de base en el tejido adiposo o por mutaciones en el receptor de insulina, o el IRS-1 (12). Sin embargo, en mujeres obesas, existen descritas con más detalle algunas de las posibles causas, las cuales radican principalmente en dicha obesidad.

Los adipocitos producen y secretan unos péptidos señalizadores llamados adipoquinas, que juegan un papel primordial en la regulación del metabolismo lipídico y la homeostasis de la glucosa. La secreción y concentración sérica de las adipoquinas dependen del tipo y la cantidad de tejido adiposo que exista, hecho que ha conducido a la hipótesis de la desregulación de las adipoquinas pro y antiinflamatorias en la obesidad, dando lugar a la patogenia (1).

En mujeres obesas, principalmente en aquellas con adiposidad visceral/abdominal, debido a la hipertrofia e hiperplasia del tejido adiposo, estaría aumentada la secreción de adipoquinas pro-inflamatorias, como el factor de necrosis tumoral alfa ( $TNF\alpha$ ), y sería éste el que estaría interfiriendo en la ruta de señalización de la insulina dando lugar a la resistencia a la insulina.

El  $TNF\alpha$  actuaría fosforilando residuos de serina, en lugar de tirosina, tanto del receptor de insulina, reduciendo así su actividad tirosin-quinasa, como del IRS-1, impidiendo que se una el complejo PI3K y en consecuencia, alterando la ruta e impidiendo que el transportador de glucosa Glut-4 se trasloque a la membrana de las células de los tejidos insulino-dependientes, por lo que no se captará glucosa (12).

Otra de las causas postuladas como causante de la resistencia a la insulina se basa en que la grasa visceral de las mujeres obesas, es una fuente importante de ácidos grasos libres, los cuales, al acumularse en tejidos magros, no adiposos, van a causar lipotoxicidad e insulinoresistencia (5). A medida que aumentan estos ácidos grasos libres, aumenta el contenido de triglicéridos en el músculo. En el camino hasta triglicéridos se produce diacilglicerol, que es el principal estímulo para activar a la proteína quinasa C (PKC), la cual fosforila, no los residuos de tirosina, sino los de serina, de manera que la señal de la insulina se interrumpe en el paso desde la subunidad  $\beta$  del receptor de insulina, al IRS-1. Al quedar el mensaje interrumpido a esta altura, no habrá, al igual que en el caso anterior, translocación de Glut-4, por lo que no podrá efectuarse la captación de glucosa. La PKC no solo fosforila serinas sino que degrada el sustrato y lo hace desaparecer (21).

En resumen, la obesidad, y muy particularmente la de fenotipo abdominal, sería la causante de la resistencia a la insulina y por tanto de la hiperinsulinemia. Existen mujeres obesas en las que, al perder peso, se mejora la sensibilidad a la insulina, por lo que en estas mujeres lo recién explicado, bien podría ser la causa. Sin embargo, en otras mujeres no ocurre lo mismo, por lo que la explicación a la resistencia a la insulina en este caso, podría ser la misma que en el caso de las mujeres delgadas.

Tanto en mujeres obesas como en delgadas, la hiperinsulinemia compensadora a la resistencia a la insulina, sea cual sea la causa que la provoque, sería lo que produciría los desequilibrios hormonales que darían lugar al SOP.

Uno de los motivos que se postulan como causa del SOP, son los pulsos alterados de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) y, en consecuencia, la secreción alterada de las hormonas pituitarias, lo que afectará a la función de los ovarios.

Una posible explicación a esta alteración, la podríamos tener en la hiperinsulinemia. La insulina tiene receptores a nivel de las neuronas hipotalámicas de GnRH, y un exceso de ésta, se cree que actúa aumentando los pulsos de GnRH, lo que alteraría la secreción de gonadotropinas por la hipófisis, a favor de un aumento en la frecuencia y amplitud de secreción de la hormona luteinizante (LH). Esto, provocaría

en el ovario una hipertrofia de las células de la teca de los folículos antrales y el subsiguiente aumento en la producción de andrógenos por parte de estas células (29).

Además, la insulina podría aumentar la sensibilidad de los gonadotropos de la hipófisis a la acción de la GnRH y potenciar la esteroidogénesis ovárica en respuesta a gonadotropinas, por mecanismos probablemente relacionados con un aumento en el número de receptores de LH como se verá a continuación (12).

La insulina tiene una acción directa en el ovario, actuando en él principalmente a través de sus propios receptores, aunque también puede hacerlo a través de los receptores del factor de crecimiento similar a la insulina tipo I y II (IGF-I y II) (30).

Contrariamente a lo que ocurre en los clásicos tejidos diana de la acción de la insulina (músculo, hígado, tejido adiposo), que se vuelven resistentes a ésta, los ovarios siguen respondiendo a ella durante el estado de resistencia (11,12). Esto se debe probablemente a la interacción entre la insulina y otros factores reguladores, como gonadotropinas, esteroides sexuales, IGFs, proteínas ligadoras de IGFs (IGFBPs) y a través de la regulación a la alza del receptor de IGF-I (12).

Las acciones directas que se cree que la hiperinsulinemia puede tener en el ovario están enfocadas principalmente al aumento de los andrógenos:

- Estimulación directa de la secreción de andrógenos ováricos, sinergizando la acción de la LH, posiblemente a través de efectos estimuladores en las enzimas  $17\alpha$ -hidroxilasa,  $17,20$ -liasa y P450<sub>scc</sub>, lo cual provoca un aumento en la producción de androstenediona en las células de la teca (12,30), amplificando así la producción de andrógenos inducida por la LH y aumentando la hiperandrogenemia.
- Disminución de la producción de IGFBP-1 tanto en el hígado como en el ovario, lo que provoca una elevación de las IGF-I libres en circulación y en el ovario (12,30).
- Estas IGF-I libres también son responsable del aumento de la producción de andrógenos en las células de la teca (23), posiblemente debido a que, tanto

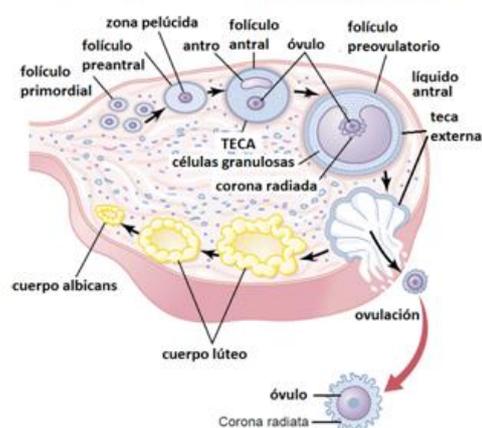
éstas como la insulina, aumentan el número de receptores de LH en el ovario (12,32).

- Regulación a la alza de los receptores de IGF-I con lo que aumentan las acciones de IGF-I, IGF-II y de la propia insulina en el ovario, ya que también tiene capacidad de unirse a estos receptores (12,30). La activación de los receptores de IGF-I además del potencial de estimular la síntesis de andrógenos inducida por LH en las células de la teca, reducen los niveles de IGFBP-1 por inhibición de su producción en el hígado y por un aumento de la actividad de las proteasas IGFBP (12,34).
- Inhibición de la síntesis de SHBG (globulina fijadora de hormonas sexuales) por el hígado, responsable de fijar las hormonas sexuales haciéndolas no biodisponibles para los tejidos. La inhibición de su síntesis provoca una disminución en sus niveles, lo que incrementa la cantidad de andrógenos libres y biodisponibles para los tejidos (12).

En las mujeres obesas, este cuadro de SOP estaría aún más agravado en comparación con las mujeres con SOP delgadas, ya que presentan de base, por su condición de obesidad, unos niveles séricos más bajos tanto de IGFBP-1 como de SHBG, incluso en ausencia de resistencia a la insulina o SOP (12). La obesidad por tanto, aparte de que podría ser la causante del fallo en la señalización que da lugar a la resistencia a la insulina y lo que ella conlleva, aumentaría todos sus síntomas interfiriendo además de forma directa.

Por otro lado, si nos centramos en la ontogenia de los folículos (Figura 2) y más en concreto en cuanto a la morfología del ovario poliquístico, en las ecografías de mujeres con SOP se diferencia un pool de folículos en crecimiento 2-3 veces superior al de las mujeres sanas (35). Este hecho se atribuye a dos causas: una mayor densidad de folículos que inician su desarrollo debido a una

Figura 2: Desarrollo folicular en el ovario



foliculogénesis temprana anormal, y un desarrollo anormal y detención del proceso de selección del folículo dominante de entre estos folículos, debido a distintas alteraciones endocrinas.

Se ha descrito en las mujeres con SOP una mayor densidad de folículos preantrales y antrales (39) debido a un desarrollo folicular preantral temprano anormal, caracterizado por una mayor proporción de folículos que entran en fase de crecimiento y mayor supervivencia en relación a un tejido ovárico normal. Los factores responsables del desarrollo aberrante de los folículos todavía están por determinar pero, entre otros, las IGFs y los andrógenos pueden tener un papel importante (8).

Además de este efecto, se ha descrito también la acción de la insulina en las células de la granulosa relacionada con los desórdenes en el desarrollo folicular que se observan en el SOP.

El gran número de folículos antrales que se observan en las ecografías de mujeres con SOP frenan su crecimiento tras alcanzar los 5-8mm de diámetro (34), no han terminado su maduración por lo que no se liberan y quedan formando los “quistes” típicos del ovario poliquístico.

En un ciclo menstrual normal, las células de la granulosa del folículo dominante se hacen respondedoras a LH aproximadamente en la mitad de la fase folicular, cuando tienen un diámetro de unos 10mm. Sin embargo, en el SOP, las células de la granulosa de los folículos de 4mm ya responden a LH (34). Si esta hipótesis es correcta, las células de la granulosa de mujeres anovuladoras con SOP, responderían a LH en un estadio temprano del desarrollo, en comparación con las células de la granulosa de mujeres con ovarios normales.

La adquisición de esta respuesta precoz a LH en el desarrollo folicular, tendría un efecto anti-proliferativo en las células de la granulosa, es decir, su número estaría disminuido en relación al tamaño del folículo (30). Esta activación prematura a LH de las células de la granulosa, sería la inductora de la diferenciación terminal, resultando en el frenado del desarrollo y crecimiento del folículo y siendo este el origen de los “quistes” que se observan en las ecografías (34).

La base de todo esto se cree que está en la hiperinsulinemia. Se piensa que los niveles elevados de insulina en mujeres anovuladoras con SOP pueden ser el principal causante de la maduración prematura de las células de la granulosa *in vivo* ya que, se ha demostrado *in vitro*, que la insulina aumenta la habilidad de las células de la granulosa de responder a LH mediante un aumento en el reclutamiento de receptores de LH (30,42).

Además, el folículo requiere LH a lo largo de su desarrollo, pero si los niveles de LH se elevan por encima de un cierto punto se iniciará la luteinización prematura. Por lo que se requiere un balance entre la hormona foliculoestimulante (FSH) y la LH para el desarrollo folicular y la ovulación.

Así, en mujeres con SOP, además del aumento en el número de receptores de LH, los niveles elevados de insulina que como ya se sabe, desajustan el balance LH:FSH, sensibilizarían a las células de la granulosa a los efectos de la LH, inhibiendo por tanto el desarrollo folicular, la ovulación y provocando infertilidad (42).

Otra teoría propuesta, es que la anovulación en el SOP podría ser debida al exceso de andrógenos inducido por la abundancia de insulina, los cuales causarían una atresia folicular prematura (11,15). Como se ha mencionado recientemente, los andrógenos podrían ser uno de los motivos que promoverían el crecimiento folicular temprano anormal, llevando a un exceso de folículos antrales. De este modo, el exceso de folículos reclutados, llevaría a interacciones entre ellos que harían que no fuera posible la selección de un único folículo dominante, inhibiendo el proceso de selección y llevando a su vez a la atresia prematura de todos estos folículos. Esta explicación desafía, pero no excluye, la anterior hipótesis de la atresia folicular debida a la acción prematura de la LH en las células de la granulosa de los folículos seleccionables. La pérdida del ritmo cíclico evitaría la elevación intercíclica de FSH, perpetuando el deterioro de la ovulación (18).

De este modo, factores endocrinos atribuidos a la insulina tales como la hipersecreción de LH, los niveles disminuidos de FSH, la acción directa de la insulina y la hiperandrogenemia, pueden jugar un papel importante en parte, en la inhibición del

crecimiento, maduración y selección, y en la detención de los folículos antrales en el SOP, que se van a atresiar sin haber tenido lugar la ovulación (9).

Por último, para completar lo que perfectamente podría llamarse un “círculo vicioso”, los andrógenos aumentan la resistencia a la insulina. Por un lado tienen carácter anabólico, por lo que aumentarán el tejido graso y al aumentar la adiposidad abdominal, también aumentará la insulinoresistencia y con ella la hiperinsulinemia (2,14). Y por otro lado, los andrógenos interactúan con receptores beta-adrenérgicos de los adipocitos de la grasa abdominal, ejerciendo un efecto en la estimulación de la cascada lipolítica y contribuyendo así al incremento de los ácidos grasos libres que a su vez aumentarán la insulinoresistencia (10,13,21).

Ante esto cabe preguntarse si sería la hiperandrogenemia lo que lleva a una resistencia a la insulina, o es la hiperinsulinemia compensadora a una resistencia a la insulina la responsable de la hiperandrogenemia, como se lleva postulando hasta este momento.

Las evidencias clínicas, sugieren que son los niveles elevados de insulina los que causan la hiperandrogenemia y no al revés. Esto se ha demostrado al observar una disminución de los niveles séricos de andrógenos cuando la concentración de insulina circulante se disminuyó con la administración de sensibilizantes a la insulina. Mientras que el descenso en los niveles de andrógenos con medidas extremas, como la ooforectomía o la administración de agonistas de la GnRH, no mostraron ningún efecto en los niveles circulantes de insulina (14,30).

### **1.3. Estimulación ovárica controlada en ciclos FIV**

Los protocolos de estimulación más utilizados actualmente en Fecundación in Vitro (FIV) son aquellos que incluyen a los análogos de la GnRH. En un inicio, los protocolos de estimulación ovárica no empleaban análogos de la GnRH, lo que causaba un mayor número de alteraciones en las pautas de estimulación por aparición prematura del pico de LH, alterando por tanto los resultados de la FIV. Los análogos de la GnRH, de acuerdo a su forma de acción, pueden ser agonistas o antagonistas.

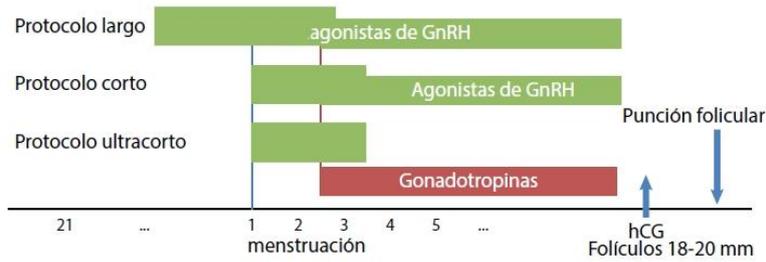
### 1.3.1. Agonistas de la GnRH

Los agonistas de la GnRH (GnRHa) ejercen su acción mediante la unión a los receptores de GnRH presentes en la superficie de los gonadotropos de la hipófisis anterior. El agonista administrado, activa, mediante la unión al receptor, la liberación de gonadotropinas (efecto *flare-up*), pero al ser administrado de forma continua, saturará los receptores disponibles dejándolos ocupados permanentemente. Al liberarse la hormona GnRH endógena en forma de pulsos, encontrará todos los receptores ocupados y no tendrá modo de ejercer su acción; de esta forma quedará inhibida la liberación de las gonadotropinas (LH y FSH) por la hipófisis anterior.

Es importante destacar el efecto *flare-up* que producen los GnRHa, ya que al iniciarse su administración, se produce una liberación hormonal de gonadotropinas endógenas y estas ejercerán su acción en la foliculogénesis inicial. Por ello, en la mayoría de ciclos, se inicia la administración del agonista una o dos semanas antes de que termine el ciclo menstrual y comience el nuevo periodo menstrual, y con este la estimulación ovárica. Así, se evitará la alteración de la pauta de estimulación que se esté llevando a cabo, al impedir la ovulación espontánea y la elevación prematura de la progesterona antes del día para el que este programada la administración de la gonadotropina coriónica humana (hCG) con el fin de provocar la maduración ovocitaria final.

Dentro de las opciones de tratamiento están los protocolos largos, cortos y ultracortos (Figura 3). En todos se utiliza el fármaco diariamente, la diferencia radica en el momento en que se inicia el agonista y en algunos casos en la dosis que se emplea. Cuando se realizan protocolos largos, se inicia el GnRHa el día 21 del ciclo previo al tratamiento y se emplea de forma diaria hasta el final de la estimulación. La dosis inicial se reducirá a la mitad una vez se inicia el estímulo con las gonadotropinas. En el caso de protocolos cortos y ultracortos, el agonista se inicia el primer o segundo día del ciclo menstrual y las gonadotropinas al día siguiente. Si el protocolo es corto, tras tres días se bajará la dosis a la mitad y se continuará hasta el final de la estimulación; si es ultracorto, solo se empleará por tres días.

Figura 3: Empleo de los GnRHa en los protocolos largo, corto y ultracorto.

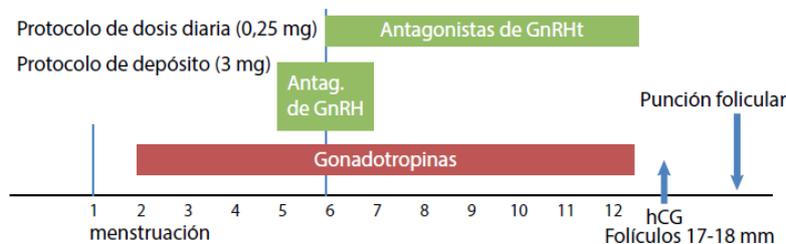


### 1.3.2. Antagonistas de la GnRH

Los antagonistas de la GnRH (GnRHant) son hormonas que actúan mediante un sistema de bloqueo competitivo de los receptores de GnRH de la hipófisis anterior; de esta forma se bloquea la producción de gonadotropinas (FSH y LH) de forma directa. A diferencia de los agonistas, no requieren de un periodo de desensibilización, su acción es inmediata. Al actuar bajo inhibición competitiva de los receptores de GnRH, no existe una activación de los mismos y por lo tanto no se produce el efecto *flare-up* que se ha descrito con el uso de los agonistas.

Existen dos protocolos para el uso de los antagonistas, dependiendo de la dosis que se emplee. Pueden ser de uso de depósito (una sola inyección de 3 mg), o de dosis diaria de 0.25mg, más empleado actualmente (Figura 4). En ambos casos, la estimulación con gonadotropinas se inicia el segundo día del ciclo; el antagonista se inicia el sexto día del ciclo o cuando en ecografía se vea que algún folículo ha alcanzado los 14mm de diámetro y la hCG se administrará cuando los folículos tengan un tamaño de 17-18mm de diámetro, para realizar la punción folicular en torno a las 36 horas posteriores.

Figura 4: Empleo de los GnRHant según protocolo de dosis diaria o de depósito.



### *1.3.3. Uso de gonadotropinas en pacientes con ovarios poliquísticos.*

La estimulación ovárica en pacientes con ovarios poliquísticos y resistencia a la insulina, ya sean o no obesas, conlleva un riesgo muy alto de desarrollar una forma severa del síndrome de hiperestimulación ovárica (SHO) (33).

Se cree que el SHO es más frecuente en estas pacientes debido a que en ellas se han detectado niveles basales bajos de las proteínas de unión IGFBP-1 y se especula que, en consecuencia, los niveles excesivamente altos de IGF-I libres, podrían incrementar la sensibilidad ovárica a la estimulación con gonadotropinas, lo cual incrementaría el riesgo de hiperestimulación ovárica (33).

Esta explicación estaría también en concordancia con lo recientemente explicado sobre la resistencia a la insulina como causa del SOP, ya que los niveles altos de insulina compensantes a ésta, serían la causa de estos bajos niveles de IGFBP-1 y por tanto de los altos niveles de IGF-I libre.

Por otro lado, existe la teoría de que los andrógenos, producidos en exceso debido a la hiperinsulinemia, aumentan la respuesta ovárica a la estimulación con gonadotropinas, mediante la estimulación de las primeras etapas del crecimiento folicular. Esto se cree que es debido a que los andrógenos aumentarían la expresión de receptores de FSH en las células de la granulosa, aumentando así el número de folículos respondedores a la estimulación con FSH (del entre ya aumentado número de folículos antrales que presentan las mujeres con SOP) y con ello, las probabilidades de desarrollar un SHO (26).

Así, la prevención de este síndrome en estas pacientes es bastante difícil, ya que existe un margen muy estrecho entre la dosis requerida para producir una estimulación razonable y la dosis que induce una hiperrespuesta (33). Esto convierte a las mujeres con SOP en uno de los grupos más difíciles a tratar.

Establecer un protocolo de baja dosis de gonadotropina menopaúsica humana (HMG) o FSH sería más seguro, tanto si la estimulación se va a realizar para una FIV, como si no (33).

De todas maneras, en mujeres con resistencia a la insulina y SOP, sobre todo si son obesas, los resultados de la FIV se ven empeorados en cuanto a tasas de embarazo, de SHO y de abortos, comparadas con mujeres control, sin patologías (31).

#### **1.4. El síndrome de hiperestimulación ovárica**

El SHO es una complicación iatrogénica consecuencia de una respuesta exagerada del ovario a la estimulación ovárica de los tratamientos de infertilidad, que puede amenazar la vida de las pacientes sometidas a estos tratamientos. Se asocia con la administración exógena de gonadotropinas para el reclutamiento y mantenimiento de múltiples folículos antrales dominantes. La incidencia del síndrome en los ciclos de fecundación in vitro varía entre 0.6% y 10% (20). El SHO grave ocurre en el 0.5- 2% de los ciclos de FIV (20).

La etiología de la enfermedad se desconoce, pero se sabe que el síndrome aparece en presencia de la hCG que, aunque no es el factor causante, si es el desencadenante de los mediadores implicados en la patofisiología.

La patofisiología del SHO se desarrolla por la luteinización folicular masiva provocada por la administración exógena de hCG con el fin de provocar la maduración final de los ovocitos para su extracción y uso en ciclos de FIV.

Esto ocasiona la liberación a la circulación sistémica de unos mediadores intraováricos vasoactivos, principalmente, el factor vascular de crecimiento endotelial (VEGF) que induce un aumento de la permeabilidad capilar asociada a un aumento en la angiogénesis. También se cree que pueden estar implicados otros mediadores como las interleucinas 1 y 6, IGF-1 o la angiotensina II.

El VEGF se encuentra localizado dentro de las células tecales de los folículos sanos y, en una mínima cantidad, en las células de la granulosa. No se expresa en los folículos atrésicos ni en el cuerpo lúteo en regresión, pero sí está presente en grandes cantidades en las células de la granulosa humanas luteinizadas de los cuerpos lúteos altamente vascularizados (33).

El VEGF, de origen folicular y producido en exceso debido a los múltiples y grandes folículos en desarrollo, da lugar a un aumento de la permeabilidad vascular, lo que provoca una salida a la cavidad peritoneal, a través de los vasos sanguíneos, del líquido folicular y perifolicular con alto contenido en VEGF, el cual es absorbido por el lecho vascular general conduciendo al daño y a la pérdida de la integridad funcional de éste, con el consiguiente desplazamiento masivo de agua y proteínas del fluido intravascular al tercer espacio (33). Esto provoca una depleción del volumen intravascular responsable de los síntomas del síndrome: hipotensión, oliguria, ascitis, aumento de la viscosidad sanguínea, hiponatremia e hiperkaliemia.

Se pueden distinguir dos tipos de SHO en función del momento de aparición de los signos clínicos (33):

1. SHO temprano: el comienzo de los síntomas ocurre unas 36 horas después de la administración de la hCG, pero puede debutar días después, de 3 a 10 días después de la administración de la hCG.
2. SHO tardío: se inicia de 12 a 17 días después de la administración de la hCG, más relacionado con la aparición del embarazo.

El cuadro clínico se limita a una o dos semanas, siempre y cuando la paciente no quede embarazada. La duración del síndrome es más larga y sus hallazgos clínicos más intensos cuando la paciente queda embarazada, por la producción endógena de  $\beta$ hCG por el trofoblasto, y sus manifestaciones persisten hasta que descienden sus niveles, a los 60-70 días de gestación.

Existen diversas clasificaciones que hacen referencia a la gravedad del SHO. El Comité de Práctica Médica de la ASRM publicó una guía en la que se clasifica el SHO en dos grupos (20):

1. El SHO leve puede presentarse en forma de náuseas, vómitos, diarrea, dolor abdominal y, en ocasiones, distensión abdominal.
2. La progresión de la enfermedad se evidencia con la persistencia de los síntomas, que muchas veces empeoran. De este modo, el SHO severo o grave se manifiesta con la presencia de dolor acompañado de uno o más de los

siguientes: aumento rápido de peso, ascitis, hipotensión, taquicardia, dificultad respiratoria, oliguria y anomalías analíticas tales como alteración de las enzimas hepáticas, hiponatremia, hiperkaliemia, leucocitosis, hemoconcentración o disminución del aclaramiento de creatinina (4).

Otras clasificaciones se realizan en base a tres grupos en lugar de dos (33), de modo que, el SHO leve estaría caracterizado por dolor abdominal leve, niveles de estradiol y progesterona excesivos en la fase inicial de la fase lútea y tamaño ovárico ligeramente aumentado. El SHO moderado por un notable aumento del tamaño ovárico, náuseas, vómitos, diarrea, aumento súbito de peso y signos ecográficos de ascitis. Y el SHO severo por evidencia clínica de ascitis, leucocitosis, oliguria, disfunción hepática, hiponatremia, hiperkaliemia y demás alteraciones recién mencionadas.

Se han descrito diferentes factores del riesgo de presentar un SHO (20), aunque cualquier mujer sometida a estos tratamientos lo puede desarrollar:

- Edad joven: parece que los ovarios de las mujeres jóvenes (< 30 años) poseen una mayor densidad de receptores para las gonadotropinas o un mayor número de folículos que les predisponen a una mayor respuesta.
- Bajo peso corporal: algunos autores encontraron una incidencia mayor de SHO en pacientes con bajo índice de masa corporal, aunque posteriormente otros no han hallado los mismos resultados.
- Síndrome de ovario poliquístico (SOP): el hiperinsulinismo, la hiperandrogenemia, el cociente LH/FSH>2 y el aumento del VEGF son condiciones que predisponen a una respuesta exagerada y a la aparición del SHO en las pacientes diagnosticadas de SOP.
- Niveles elevados de concentración de estradiol en suero inmediatamente antes de la administración de la hCG (más de 2500 pg/ml) o incrementos bruscos de los niveles de estradiol previos a la administración de la misma.
- Imagen ecográfica del signo de collar: caracterizado por la presencia de múltiples folículos pequeños antrales (2-8mm de diámetro) dispuestos alrededor de la periferia del ovario. Este signo se encuentra con frecuencia

en pacientes con ovarios poliquísticos, pero también pueden aparecer en mujeres que ovulan normalmente sin otros signos típicos de SOP.

- Mujeres que han desarrollado otras hiperestimulaciones en ciclos previos.
- Uso de hCG como soporte de fase lútea en lugar de progesterona.
- Instauración del embarazo y mayor riesgo si éste es múltiple, debido a la producción endógena de  $\beta$ hCG por el trofoblasto.

Centrándonos en el SOP, junto a lo que ya se ha desarrollado en el punto anterior en relación a la estimulación con gonadotropinas exógenas, se ha postulado además la existencia de una acción directa de la insulina sobre el incremento en la producción de VEGF por parte de las células de la granulosa luteinizadas, en respuesta a la administración de hCG que desencadenará la maduración final y ovulación.

Esto parece verse confirmado tras la realización de un estudio (32) en el que, como resultado de la incubación de células de la granulosa luteinizadas del fluido folicular obtenido el día de la punción ovárica, con hCG y LH, vieron incrementada la liberación de VEGF. Mientras que de la incubación de éstas solo con insulina, no vieron un aumento en los niveles de VEGF, sí observaron que la adición de insulina incrementaba la liberación del VEGF estimulada por la hCG.

Las concentraciones de VEGF en suero y fluido folicular, así como la cantidad de VEGF liberado por las células de la granulosa luteinizadas en mujeres con SOP, eran mayores que las obtenidas de mujeres con ovarios normales.

En conclusión se podría decir que, la cantidad de VEGF liberado por las células de la granulosa luteinizadas es dependiente de gonadotropinas y es aumentado por la insulina. Además, concluyeron que el aumento de las concentraciones circulantes de VEGF en mujeres con SOP, podría no ser solo debido a un incremento en el número de células de la granulosa luteinizadas que lo secretan activamente, sino también debido a un aumento en la capacidad secretora de cada célula de la granulosa.

### 1.5. La metformina en el SOP

La metformina es una biguanida oral, sensibilizante a la acción de la insulina y comúnmente usada para tratar la diabetes mellitus tipo 2 por su acción antihiperlipémica, con la particularidad de que no causa hipoglucemia.

Durante los últimos 15 años, la metformina ha sido ampliamente estudiada en pacientes con SOP, ya que, a la vista de que, tanto la resistencia a la insulina, como la hiperinsulinemia juegan un rol importante en la patofisiología del síndrome, se ha planteado la hipótesis de que los agentes sensibilizadores a la acción de la insulina, por medio de la mejora de dicha sensibilidad y la reducción de la hiperinsulinemia, podrían mejorar las alteraciones endocrinas, metabólicas y reproductivas asociadas al SOP (31).

En estas pacientes con SOP, la metformina se cree que actúa directa e indirectamente en la función ovárica, mejorando la ciclicidad menstrual, los niveles de LH, de andrógenos intraováricos, la respuesta ovárica a los tratamientos de fertilidad etc., aunque estos resultados aún suscitan mucha controversia (7,17,26,27).

La metformina actuaría a través de diversos mecanismos. Su acción principal en mujeres con SOP se localiza en el hígado, inhibiendo la gluconeogénesis, lo que reduce la producción de glucosa hepática, y aumentando la SHBG (29).

Además, tanto *in vitro* como *in vivo*, los datos sugieren que la metformina restituye la sensibilidad periférica a la insulina aumentando la captación de glucosa mediada por insulina en el músculo y adipocitos (36). El mecanismo exacto por el que realiza estas funciones es aún desconocido en parte. En experimentos realizados con animales, la metformina parece aumentar la translocación de los receptores de glucosa a la membrana de los adipocitos, el número de receptores de insulina, así como la unión de la insulina a su receptor (29).

También parece actuar mejorando la sensibilidad a la insulina a nivel post-receptor. Regula la fosforilación del receptor de insulina y la actividad del complejo PI3K en los adipocitos expuestos a hiperinsulinemia por un largo periodo de tiempo (7,29).

Y se cree que actúa directamente en las células de la teca de los folículos disminuyendo la producción de andrógenos (androstenediona) (36,37).

En cuanto a la eficacia del uso de la metformina durante los tratamientos de FIV, ésta no ha sido claramente establecida. No se recomienda el uso de la metformina a todas las pacientes con SOP que se sometan a una FIV. Aunque algunas pacientes se han beneficiado del uso de la metformina durante la FIV, no está claro a qué grupo de mujeres con SOP se le debería recomendar (19).

## **2. Hipótesis y Objetivos**

### **1) Acción de la metformina en la prevención del SHO en ciclos FIV en mujeres con SOP.**

Basándonos en lo expuesto en el apartado anterior, los datos aseguran que, en un alto porcentaje de las mujeres, el SOP va asociado a una resistencia a la insulina. La hiperinsulinemia compensante será la causante de la existencia de un mayor número de folículos reclutables en el ovario y de un incremento en la sensibilidad de estos folículos a la estimulación con gonadotropinas, lo cual incrementará el riesgo de hiperestimulación ovárica.

Por ello, a modo de hipótesis, cabría esperar que el tratamiento con metformina, mejorara la resistencia a la insulina de estas pacientes, y con ella la hiperinsulinemia, dando como resultado una disminución en la incidencia/riesgo de desarrollar un SHO.

Dado que la hiperestimulación ovárica es un riesgo al que muy frecuentemente se expone a las mujeres con SOP que se van a someter a estimulación con gonadotropinas para llevar a cabo un ciclo de FIV, el principal objetivo a analizar será la eficacia de la metformina en la prevención y/o disminución de la incidencia del SHO en mujeres con SOP sometidas a una estimulación ovárica controlada (EOC) con el fin de someterse a un tratamiento de FIV, a través de la comparación entre mujeres con SOP que han sido o no tratadas con metformina.

### **2) Acción de la metformina sobre la duración y dosis del tratamiento con gonadotropinas para ciclos FIV en mujeres con SOP.**

Como hipótesis y enlazando con el objetivo anterior, tras el tratamiento con metformina se esperaría una disminución en la sensibilidad a la acción de las gonadotropinas en estas mujeres, a través de la reducción en la hiperinsulinemia que la causa. Esto llevaría a una disminución en la respuesta de los ovarios a la estimulación con gonadotropinas y, por tanto, a un aumento en la duración y/o la

dosis total del tratamiento en comparación con mujeres con SOP que no han sido tratadas con metformina.

Desde esta base se plantea el presente objetivo secundario, enfocado principalmente a afianzar la hipótesis del principal. En este caso, tras la comparación entre mujeres con SOP, con y sin tratamiento con metformina, el objetivo será el de comprobar cómo actúa la metformina en relación a la duración y dosis de la EOC y si realmente disminuye la sensibilidad ovárica a las gonadotropinas, lo cual se traduciría en un aumento en la duración y/o dosis del tratamiento de EOC en aquellas mujeres tratadas con ella.

### **3) Acción de la metformina en la mejora de las tasas de implantación y embarazo en mujeres con SOP sometidas a ciclos de FIV.**

La última hipótesis planteada consiste en que, si efectivamente la metformina corrige la hiperinsulinemia, y por tanto, los trastornos del SOP que llevan a la anovulación e infertilidad, esperaríamos ver una mejoría también en tasas como las de implantación y embarazo.

Por tanto, otro de los objetivos secundarios a analizar será si, en último término, la acción de la metformina como correctora de los problemas asociados al SOP, produce un efecto lo suficientemente importante como para afectar directamente a estas tasas de implantación y embarazo, en mujeres sometidas a ciclos de FIV que han sido tratadas también con metformina, en comparación con las que no lo han sido.

### **3. Materiales y Métodos**

Al tratarse éste de un trabajo bibliográfico, los materiales con los que se ha trabajado han sido artículos ya publicados.

Para la búsqueda de estos artículos se ha recurrido a páginas web que constituyen grandes bases de datos como son:

- MEDLINE/Pubmed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>)
- Science Direct (<http://www.sciencedirect.com>)
- Biblioteca de la Universidad de Oviedo (<http://buo.uniovi.es>)

La búsqueda se realizó en base a los siguientes criterios: “in vitro fertilization”, “IVF”, “fecundación in vitro”, “FIV”, “síndrome de hiperestimulación ovárica”, “ovarian hyperstimulation síndrome”, “OHSS”, “SHO”, “metformina”, “metformin”, “polycystic ovary syndrome”, “síndrome de ovario poliquístico”, “PCOS”, “SOP”, “insulin resistance”, “resistencia a la insulina”.

Se encontraron 19 artículos que cumplían los criterios, de los cuáles se seleccionaron 6 artículos finales, a partir de los que se extraerán las conclusiones una vez analizados los datos.

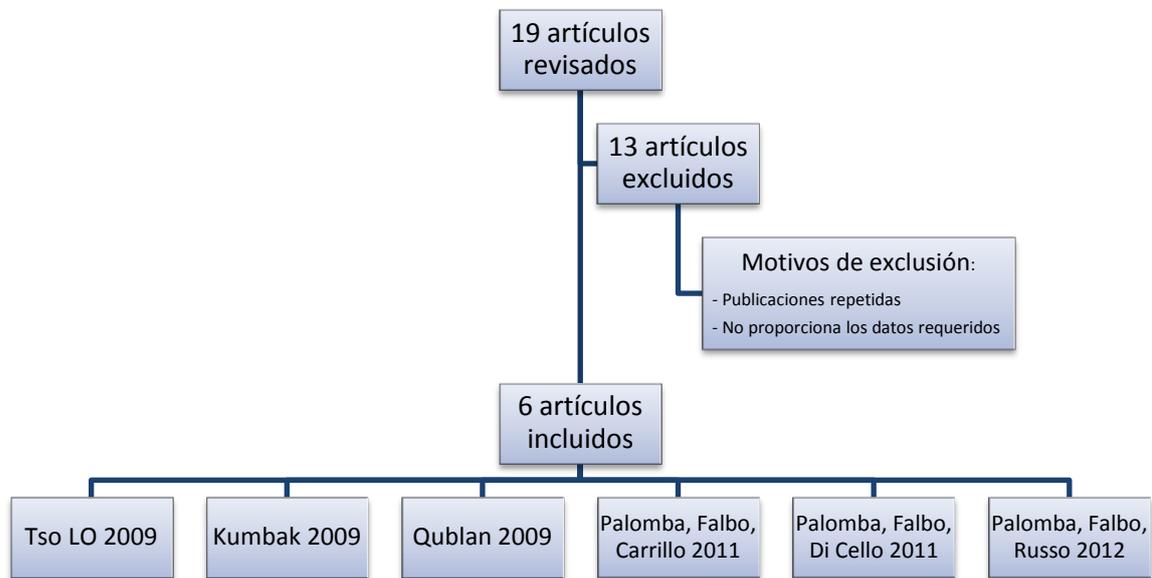
Los 13 artículos restantes se excluyen del estudio por uno o ambos de los siguientes motivos: publicaciones repetidas con datos ya incluidos en los estudios seleccionados, no proporcionar los datos requeridos.

Los 6 artículos seleccionados son:

- Tso LO 2009 (38)
- Kumbak 2009 (19)
- Qublan 2009 (31)
- Palomba, Falbo, Carrillo 2011 (26)
- Palomba, Falbo, Di Cello 2011 (24)
- Palomba, Falbo, Russo 2012 (25)

A continuación (Figura 5) se muestra esquematizado el proceso de selección de los artículos:

Figura 5: Diagrama del proceso de selección de artículos.



Las características de cada estudio tales como el tipo de estudio, de participantes y de intervenciones son las siguientes:

### 3.1. Tso LO 2009

Revisión Cochrane de ensayos controlados aleatorizados que comparan el tratamiento con metformina, frente al placebo o no tratamiento en mujeres con SOP sometidas a tratamientos de FIV o inyección intracitoplasmática de espermatozoide (ICSI). Solo la primera parte de ensayos cruzados fue considerada en el meta-análisis.

Los ensayos incluidos en el estudio fueron 6 (Fedorcak 2003, Visnova 2003, Kjetrod 2004, Onalan 2005, Doldi 2006, Tang 2006).

Un total de 482 mujeres fueron randomizadas; 23 abandonaron el tratamiento antes de la inducción de la ovulación para FIV/ICSI por embarazo espontáneo, pobre respuesta o motivos personales. En todos los ensayos menos uno (Fedorcak 2003, ensayo cruzado) se permitía solo un ciclo por participante.

Las participantes son mujeres en edad reproductiva con anovulación atribuida al SOP, con o sin otra causa de infertilidad en la pareja, las cuales fueron tratadas con metformina antes y durante un ciclo de FIV o ICSI.

El SOP fue definido en 5 de los 6 ensayos utilizando los criterios del consenso de Rotterdam de la ESHRE/ASRM 2003. Solo Visnova 2003 no los cumplía, ya que no se especifican como excluidas otras causas de hiperandrogenismo que simulen al SOP.

Cuatro de los ensayos (Fedorcsak 2003, Visnova 2003, Doldi 2006, Tang 2006) no especifican las causas de infertilidad.

Tres de los estudios (Kjotrod 2004, Onalan 2005, Tang 2006) proporcionan informes completos de las características basales de los grupo estudiados (edad, índice de masa corporal (IMC), duración de la infertilidad y tratamientos previos). Dos de ellos (Fedorcsak 2003, Visnova 2003) proporcionan informes incompletos (solo edad e IMC). El estudio de Doldi 2006 no da información acerca de las características basales de los grupos estudiados.

Se prestó particular atención a si existían diferencias en las características de las mujeres en los grupos comparados en edad, IMC, duración y causas de infertilidad, dosis y duración del tratamiento con metformina, nivel de andrógenos, niveles de glucosa e insulina y cirugías ováricas previas.

En cuanto al protocolo de intervención que se siguió en cada uno de los estudios, solo un estudio (Visnova 2003) empezó con la metformina el mismo día que se inició la estimulación con FSH; los otros estudios administraron metformina antes y durante el tratamiento con gonadotropinas. En estos últimos la metformina fue administrada, dependiendo del estudio, entre 16 semanas antes (el más temprano) y el primer día (el más tardío) de la administración del GnRH $\alpha$ . Su administración fue continuada, al menos, hasta el día de la administración de la hCG.

Se utilizaron dosis de metformina de 500mg dos veces al día (Visnova 2003); 850mg dos veces al día (Tang 2006); 500mg tres veces al día (Fedorcsak 2003, Doldi 2006); 850mg dos veces al día si el IMC<28Kg/m<sup>2</sup> o tres veces al día si el IMC≥28Kg/m<sup>2</sup> (Onalan 2005) y 1g dos veces al día (Kjotrod 2004).

En 5 de los 6 estudios se utilizó un protocolo largo con GnRH $\alpha$ , con FSH recombinante (rec-FSH); solo un estudio recurrió a un protocolo corto con GnRH $\alpha$  de dosis diaria con rec-FSH (Doldi 2006). Solo el estudio de Visnova 2003 utilizó rec-FSH o FSH altamente purificada (hp-FSH); el resto de los estudios utilizaron solo rec-FSH.

La dosis inicial de gonadotropinas varía entre los estudios, generalmente está entre 100-150UI/día; algunos (Visnova 2003, Onalan 2005) pueden llegar a las 225-300UI/día. Solo en un estudio (Fedorcsak 2003) no se especifica la dosis.

Todos los estudios utilizaron hCG (5000-10000UI) como desencadenante de la ovulación y realizaron la punción alrededor de las 36 horas posteriores a su administración.

El método de inseminación de los ovocitos varió entre los estudios incluyendo solo FIV (Doldi 2006); solo ICSI (Onalan 2005); o una combinación de FIV e ICSI dependiendo de la causa de infertilidad (Fedorcsak 2003, Kjotrod 2004, Tang 2006). El restante estudio (Visnova 2003) no especificaba el método utilizado.

Se transfirieron un máximo de 2 embriones en el día +2 tras la punción (Tang 2006), o en día +3 (Fedorcsak 2003, Kjotrod 2004). O un máximo de 3 embriones en día +2 (Doldi 2006) o en día +3 (Onalan 2005). El estudio de Visnova 2003 no especifica el número de embriones transferidos.

Solo 2 autores realizaron la embrio-transferencia (ET) guiados por ecografía (Doldi 2006, Tang 2006).

El tipo de soporte de la fase lútea también fue variable entre los estudios. Se administraron cápsulas de progesterona por vía vaginal (200mg tres veces al día) (Kjotrod 2004); gel de progesterona por vía vaginal (90mg (8%) al día) (Doldi 2006); supositorios vaginales de progesterona (400mg/día) (Tang 2006) y progesterona intramuscular (25mg/día) (Fedorcsak 2003). Los dos estudios restantes (Visnova 2003, Onalan 2005) no reportan estos datos.

Solo un estudio (Onalan 2005) realizó selectivamente *hatching* asistido por láser en casos de pacientes mayores de 35 años, zona pelúcida considerablemente

engrosada, zonas de forma anormal, fragmentación embrionaria excesiva o desarrollo embrionario lento. El uso de este procedimiento fue considerado una diferencia sustancial respecto a los otros estudios.

### 3.2. Kumbak 2009

Estudio retrospectivo en el que se incluyeron 339 pacientes con SOP, infértiles y con un IMC<28Kg/m<sup>2</sup>.

El diagnóstico del SOP se realizó en base a los criterios del consenso de Rotterdam 2003.

De las 339 pacientes, 220 habían sido tratadas con metformina en dosis de 850mg dos veces al día cuando se inició la administración del GnRHa para la supresión hipofisaria. El tratamiento con metformina continuó a lo largo de toda la estimulación con gonadotropinas y, en caso de embarazo, hasta la 12 semana de gestación. Las restantes 119 pacientes no habían recibido metformina.

Las características demográficas de las pacientes (edad, duración de la infertilidad, FSH y LH en día 3, IMC, niveles de glucosa e insulina) son similares en los dos grupos, a excepción del IMC, el cual fue significativamente mayor en el grupo tratado con metformina (Tabla 2).

Tabla 2: Características demográficas de las pacientes SOP con IMC<28Kg/m<sup>2</sup> de acuerdo al tratamiento con metformina.

	Metformin positive (n = 220)	Metformin negative (n = 119)	p
Age (years)	28.6 ± 3.9	28.4 ± 4.5	NS
Infertility duration (years)	6.3 ± 3.5	5.6 ± 3.7	NS
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	23.6 ± 2.5	22.7 ± 2.4	0.002
Day 3 FSH (mIU/ml)	5.6 ± 2.0	5.9 ± 2.0	NS
Day 3 LH (mIU/ml)	8.4 ± 5.8	6.9 ± 4.2	NS
Fasting glucose (mg/dl)	85 ± 12	86 ± 9	NS
Fasting insulin (µIU/ml)	10.1 ± 6.4	6.5 ± 2.4	NS

Los valores son medias ± desviación típica (DT). BMI=IMC; NS: no significativo; p>0.05. Test t-Student.

A la totalidad de las 339 pacientes se les administró un protocolo largo con GnRHa. En pacientes con ciclos regulares el agonista se inició el día 21 del ciclo anterior al estimulado. Las pacientes con ciclos irregulares fueron tratadas con píldoras anticonceptivas desde el tercer día del ciclo anterior al estimulado y el agonista se inició el día 21 de la toma de dicha píldora.

Las pacientes fueron estimuladas con rec-FSH en dosis entre 150-225UI/día dependiendo del IMC, edad y ciclos anteriores si los hubiera. Estas dosis se fueron ajustando posteriormente en base a controles ecográficos y analíticos de estradiol sérico.

Finalmente, cuando el folículo dominante alcanzó los 20mm de diámetro se les administró hCG para la inducción de la ovulación en dosis de entre 5000-10000UI, dependiendo de la concentración de estradiol sérico, y la extracción de los ovocitos se realizó 36 horas después.

Todas las pacientes recibieron progesterona (75mg/día) como soporte de la fase lútea a partir del día después a la punción.

La ET se realizó entre los días +3 y +5 guiada por ecografía. A los 12 días se midió la  $\beta$ hCG y, tras un test de embarazo positivo, una ecografía se realizó a las 3 semanas.

### **3.3. Qublan 2009**

Ensayo controlado aleatorizado en el que un total de 66 pacientes con SOP resistentes a la inducción de la ovulación con citrato de clomifeno (CC) como tratamiento de primera línea, fueron estudiadas prospectivamente.

El SOP fue diagnosticado en base a los criterios del consenso de Rotterdam de la ESHRE/ASRM.

La resistencia al CC fue definida como la falta de ovulación tras el tratamiento con CC en dosis diaria de 150mg desde el día 5 al 9 del ciclo durante al menos 3 ciclos consecutivos.

Las mujeres fueron aleatoriamente asignadas a dos grupos, uno recibiría un tratamiento con metformina y el otro con placebo. Treinta y cuatro mujeres recibieron 850mg de metformina, y 32 mujeres los mismos 850mg de placebo, dos veces al día empezando un mes antes del inicio del tratamiento de FIV y continuando a lo largo de todo el tratamiento con gonadotropinas y, en caso de embarazo, hasta la 12 semana de gestación.

No se observaron diferencias significativas entre los dos grupos en términos de edad, IMC, tipo, causa o duración de la infertilidad (Tabla 3). Tampoco existen diferencias en los parámetros clínicos, bioquímicos ni hormonales entre ambos grupos (Tabla 4).

Tabla 3: Datos demográficos de los dos grupos.

Characteristics	Group 1 (metformin) (n=34)	Group 2 (placebo) (n=32)	p value
Age (years)	34.6 ± 4.3 (26-43)	33.8 ± 3.9 (25-42)	NS
BMI*	32.2 (27-39)	31.9 (26-38)	NS
Type of infertility			
Primary	26 (76.5)	21 (70)	NS
Secondary	8 (23.5)	9 (30)	NS
Duration of infertility (years)	8 ± 2.4	8 ± 2.7	NS
Cause of infertility			
Male factor	18 (33.3)	16 (32)	NS
Unexplained infertility	12 (22.2)	12 (24)	NS
Tubal factor	14 (25.9)	12 (24)	NS
Others*	10 (18.5)	10 (20)	NS

Tabla 4: Datos clínicos, bioquímicos y hormonales de los dos grupos antes del tratamiento.

	Group 1 (metformin) (n=34)	Group 2 (placebo) (n=32)	p value
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	32.2 (29-43)	31.9 (29-44)	NS
Menstrual cycle			
Regular	3 (12.5%)	4 (18.2%)	NS
Irregular	21 (87.5%)	18 (81.8%)	NS
Hormonal profile			
T (ng/ml)	329 ± 49	336 ± 38	NS
A (ng/ml)	3 ± 0.7	3 ± 0.8	NS
DHEAS (µg/dl)	253 ± 32	250 ± 28	NS
17-OHP (µg/dl)	1.5 ± 0.2	1.5 ± 0.6	NS
LH (mU/ml)	11.8 ± 2.2	11.5 ± 1.8	NS
FSH (mU/ml)	6.6 ± 0.9	5.8 ± 1.8	NS
LH:FSH ratio	2.6 ± 0.3	2.6 ± 0.4	NS
Fasting glucose (mg/dl)	83 ± 3.6	82 ± 4.3	NS
Fasting insulin (µU/ml)	16 ± 3.8	17 ± 3.7	NS
Serum oestradiol level (pg/ml)	48 ± 5.1	47 ± 4.5	NS

17-OHP: 17α-hidroxiprogesterona; A: androstenediona; BMI=IMC; DHEAS: dehidroepiandrosterona sulfato; NS: no significativo; T: testosterona.

El protocolo de FIV/ICSI utilizado fue el protocolo largo con GnRH $\alpha$ , iniciado el día 21 del ciclo anterior al de estimulación. Tras la supresión hipofisaria se inició la estimulación ovárica con HMG. La dosis inicial de gonadotropinas fue ajustada de acuerdo con la edad, FSH basal en día 3, IMC y respuesta ovárica a estimulaciones previas, fijándose en 150UI diarias.

Para la inducción de la ovulación se administraron 10000UI de hCG cuando al menos 3 folículos hubieran alcanzado los de 17 mm de diámetro, y 36 horas después se realizó la extracción de los ovocitos.

Se utilizaron supositorios de progesterona como soporte de la fase lútea. Tres días tras la punción se transfirieron los mejores 2-4 embriones. Dos semanas tras la ET se midió la  $\beta$ hCG y a las mujeres que dieron positivo se les realizó una ecografía a las 6 semanas de gestación.

### 3.4. Palomba, Falbo, Carrillo 2011

Ensayo controlado aleatorizado en el que se incluyeron un total de 120 pacientes infértiles con SOP, las cuales tenían un historial de un ciclo previo cancelado por alto

riesgo de SHO (niveles de  $E_2 > 4000 \text{ pg/ml}$  y/o más de 20 folículos con un diámetro medio  $> 10 \text{ mm}$  el día de la administración de la hCG) y/o un historial de un caso moderado o severo de SHO durante un ciclo de FIV previo.

El SOP fue diagnosticado de acuerdo con los criterios especificados por la ESHRE/ASRM.

Para minimizar el sesgo debido al uso de diferentes regímenes o protocolos, solo se incluyeron las pacientes que, en su ciclo anterior, habían sido tratadas con un protocolo largo con GnRH $\alpha$  y un protocolo *step-down* de estimulación con gonadotropinas (pauta descendente en las dosis de gonadotropinas) con una dosis inicial de 225UI diarias.

Las pacientes fueron asignadas aleatoriamente en un ratio 1:1 en dos grupos (60 pacientes en cada grupo), ya fuera al grupo de la metformina o al del placebo.

Las pacientes de ambos grupos partían de unas características basales similares según mostraron los resultados de la realización de diferentes pruebas iniciales (mediciones, análisis, test), algunos de los cuales se muestran en la siguiente Tabla 5:

Tabla 5: Características basales entre ambos grupos.

Group	Metformin (n = 60)	Placebo (n = 60)
Age (y)	28.5 (8; 21–33)	29 (9; 22–34)
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	26.5 (7.5; 17.9–28.9)	27.0 (8.0; 18.4–29.3)
Duration of infertility (y)	3.5 (1; 2–4)	3.7 (1.5; 2–5)
Modified Ferriman-Gallwey score	13.9 (4; 11–21)	14.0 (5; 12–22)

Los datos se expresan en medias (rango intercuartil (IQR); rango min-max).  
Los datos no son significativamente diferentes entre los dos grupos. BMI=IMC.

Las pacientes tampoco diferían en términos de actividad diaria, dieta o número de dosis olvidadas.

Al grupo que recibió la metformina se le administró una dosis de 500mg tres veces al día, mientras que el otro grupo recibió la misma dosis con la misma pauta pero del placebo.

Los tratamientos, tanto con metformina como con placebo, empezaron el mismo día de la administración del GnRH $\alpha$  (pre-tratamiento) y continuaron a lo largo del tratamiento de estimulación con gonadotropinas (co-tratamiento) que se inició, al

menos, 14 días después. El tratamiento, tanto con metformina como con placebo, se finalizó tras un test positivo de embarazo o la aparición del sangrado menstrual.

Cada paciente fue tratada utilizando el mismo protocolo y fármacos que le habían sido administrados en su ciclo previo de FIV.

En todas las pacientes la supresión hipofisaria se realizó con un protocolo largo con GnRHa, desde el día 21 del ciclo anterior al estimulado en mujeres ovuladoras u oligomenorreicas, o aleatoriamente en mujeres anovuladoras.

También, en cada mujer, se utilizó el mismo tipo de gonadotropina que en su ciclo anterior de FIV. Ésta fue administrada utilizando una dosis inicial de 150UI diarias durante los 5 primeros días del protocolo *step-down* para, posteriormente, personalizar la dosis según la respuesta ovárica de cada mujer.

Las pacientes recibieron 3 tipos de gonadotropinas (rec-FSH, hp-FSH, hp-HMG). No se observaron diferencias entre los dos grupos en términos del tipo de gonadotropina utilizada.

Tras la monitorización ecográfica y de estradiol sérico, en presencia de al menos 3 folículos dominantes de diámetro >18mm, la ovulación se desencadenó transcurridas 24 horas de la última inyección de gonadotropina, utilizando el mismo fármaco (tipo y dosis) que el ciclo de FIV previo. La extracción de los ovocitos se realizó 36 horas después del desencadenamiento de la ovulación.

Tampoco se observaron diferencias entre los dos grupos en términos del tipo de fármaco utilizado para desencadenar la ovulación (250µg de rec-hCG o 10000UI de hCG).

Los ovocitos extraídos, clasificados como maduros tras la aparición del primer corpúsculo polar, fueron inseminados. La fertilización se evaluó 18 horas después de la FIV y se confirmó con la presencia de 2 pronúcleos y 2 corpúsculos polares. Al mismo tiempo, los cigotos se clasificaron en 4 grados (Z1-Z4). Los embriones no divididos tras 24 horas se consideraron parados.

En el caso de haber fertilizado más de 3 ovocitos, los embriones se transfirieron al útero en estadio de blastocisto (día +5/+6). En caso de menos, los embriones de 4-8 células se transfirieron en día +2 o +3.

Se seleccionaron un máximo de 2 embriones, los de mejor calidad, para la ET. Los embriones se estudiaron en día +3 y +5 desde la punción y se clasificaron de acuerdo con criterios estandarizados para embriones en división o blastocistos respectivamente. En día +5 se examinó la morfología y el desarrollo de los blastocistos y se clasificaron en base a la expansión de la cavidad del blastocele y a la cohesión y regularidad de las células del trofotodermo y de la masa celular interna.

Los embriones fueron transferidos sin guía ecográfica y se anotaron las dificultades acontecidas en cada caso.

El soporte de la fase lútea fue realizado con progesterona natural (50mg/día) inyectada por vía intramuscular.

### **3.5. Palomba, Falbo, Di Cello 2011**

Ensayo controlado aleatorizado en el que se incluyeron 88 pacientes infértiles con SOP y baja reserva ovárica, que iban a recibir tratamiento para un ciclo de FIV por primera vez.

Se utilizó el criterio de Rotterdam para definir el SOP. Mujeres mayores de 35 años o con niveles basales de FSH > 10 UI/L se eligieron como potenciales pobres respondedoras. La indicación para la FIV fue el no obtener embarazo tras 12 ciclos de ovulación espontánea o inducida, sin ninguna otra anormalidad detectada.

Las pacientes fueron asignadas aleatoriamente en dos grupos de 44 pacientes cada uno, para recibir metformina o placebo.

Ambos grupos no diferían respecto a los principales resultados antropométricos, clínicos o bioquímicos como se muestra en la Tabla 6. La proporción entre grupos, de mujeres con hiperandrogenismo, oligomenorrea y ovario poliquístico fue similar. Tampoco se observaron diferencias significativas entre los dos grupos en cuanto a

distribución por edad, niveles séricos de FSH, tamaño medio del ovario o número de folículos antrales.

Tabla 6: Datos de las principales características antropométricas, clínicas y bioquímicas entre ambos grupos.

Groups	Metformin (n = 44)	Placebo (n = 44)
Age (y)	40 (4.8; 31-42)	39 (5; 30-43)
Duration of infertility (mo)	27 (5; 13-38)	30 (6; 14-37)
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	25.4 (6.0; 18.5-29.7)	26.0 (6.5; 17.9-29.6)
WHR	0.85 (0.06; 0.72-1.1)	0.84 (0.14; 0.75-1.4)
Ferriman-Gallwey score	11.4 (4; 8-19)	12.0 (5; 8-22)
FSH (IU/L)	12.0 (3.9; 4.2-17.6)	11.0 (4.0; 2.0-11.0)
LH (IU/L)	16.5 (4.0; 6.0-19.0)	17.0 (3.9; 4.6-20.0)
E <sub>2</sub> (pg/mL)	56.4 (26.5; 33.4-88.0)	57.2 (20.0; 34.2-79.1)
P (ng/mL)	1.5 (0.5; 1.0-2.2)	1.4 (0.6; 0.9-1.8)
17-OHP (μg/L)	5.6 (1.5; 2.6-6.8)	5.5 (1.7; 2.8-6.9)
PRL (ng/mL)	7.2 (3.0; 5.3-12.0)	7.0 (4.0; 5.1-12.5)
TSH (μU/mL)	2.5 (1.3; 0.8-4.3)	2.3 (1.4; 0.7-4.5)
T (ng/mL)	5.0 (3.5; 2.5-7.7)	5.0 (2.4; 3.0-7.5)
A (ng/mL)	6.3 (1.5; 3.0-7.2)	6.2 (1.8; 3.4-7.7)
DHEAS (ng/mL)	2,679.5 (544.0; 2,408.1-3,009.4)	2,621.0 (520.3; 2,308.7-3,125.6)
SHBG (nmol/L)	27.0 (11.5; 18.0-37.6)	27.5 (12.0; 18.1-38.4)
FAI (%)	19.5 (8.2; 9.5-34.8)	20.2 (6.9; 10.3-33.0)
Fasting glucose (mmol/L)	4.7 (1.0; 2.9-5.9)	4.9 (0.9; 3.1-5.7)
Fasting insulin (μU/mL)	27.0 (12.5; 15.2-52.3)	26.8 (15.3; 14.7-49.9)
Ovarian size (cm <sup>3</sup> )	12.5 (4.0; 6.7-15.4)	12.3 (4.5; 6.3-15.0)
Total AFC (no.)	13.5 (5.0; 0-21)	14.0 (6.0; 0-24)

Los datos se expresan en medias (IQR; rango min-max). Los datos no son significativamente diferentes entre los dos grupos. 17-OHP: 17α-hidroxiprogesterona; A: androstenediona; AFC: recuento de folículos antrales; BMI=IMC; DHEAS: dehidroepiandrosterona sulfato; E<sub>2</sub>: 17β-estradiol; FAI: índice de andrógenos libres; P: progesterona; PRL: prolactina; SHBG: globulina fijadora de hormonas sexuales; T: testosterona; TSH: hormona estimulante de la tiroides; WHR: ratio cintura-cadera.

El grupo tratado con metformina recibió una dosis diaria de metformina de 500mg tres veces al día, mientras que el otro grupo recibió la misma pauta pero del placebo. El tratamiento empezó 1 mes antes del inicio de la EOC y continuó hasta un test de embarazo positivo o la aparición de sangrado menstrual.

En todas las pacientes la EOC consistió en un protocolo corto con GnRHa, con un régimen *step-down* personalizado de gonadotropinas. El análogo se administró desde el día 3 del ciclo menstrual hasta el día de la administración de la hCG. Durante los 5 primeros días se les administró una dosis inicial diaria de 300UI de rec-FSH, a partir de aquí las pacientes fueron monitorizadas con el fin de ajustar la dosis de rec-FSH de acuerdo con la respuesta ovárica.

La maduración final se desencadenó 24 horas después de la última inyección de rec-FSH con 250μg de rec-hCG, cuando se observaron al menos 3 folículos dominantes con un diámetro >18mm, y tras 36 horas de su administración, se procedió a la punción folicular.

Los ovocitos extraídos fueron clasificados como maduros después de presentar el primer corpúsculo polar. Estos ovocitos fueron inseminados transcurridas al menos 4 horas tras su recuperación con 10000-20000 espermatozoides móviles y fueron incubados a 37°C de temperatura y 5% de CO<sub>2</sub> en aire. Los resultados fueron evaluados

20 horas después y los cigotos obtenidos se puntuaron usando 4 grados (Z1-Z4) de acuerdo al número de precursores nucleolares, la presencia o ausencia de halo y el alineamiento de los núcleos en relación a los corpúsculos polares. Los embriones que no se dividieron tras 24 horas se consideraron parados.

Dos días después de la inseminación, los embriones se evaluaron de acuerdo a criterios estandarizados basados en el porcentaje de fragmentación y el número de células. Hasta 3 de los embriones de mejor calidad fueron transferidos al útero.

El soporte de la fase lútea se realizó con progesterona natural (50mg/día) inyectada por vía intramuscular.

Los niveles séricos de  $\beta$ hCG se evaluaron 14 días después de la transferencia embrionaria.

### **3.6. Palomba, Falbo, Russo 2012**

Estudio retrospectivo en el que se seleccionaron 378 pacientes infértiles con SOP diagnosticadas según los criterios de la NIH y de la ESHRE/ASRM y que hubieran recibido estimulación ovárica con gonadotropinas para ciclos de FIV tras no haber obtenido embarazo después de 6 ciclos de ovulación inducida para inseminación intrauterina.

Las pacientes se diferenciaron en dos grupos según hubieran recibido o no metformina, 191 y 187 respectivamente. Ambos grupos estuvieron formados por pacientes que habían recibido o no metformina arbitrariamente.

No se observó diferencia significativa en la distribución de los dos grupos en cuanto a los criterios utilizados para el diagnóstico del SOP, ni en la indicación para el tratamiento de infertilidad.

Ambos grupos tampoco diferían significativamente en los datos antropométricos, hormonales o metabólicos, como muestra la Tabla 7. Ni en los tratamientos recibidos para la estimulación ovárica, el tipo de gonadotropinas

utilizadas, el protocolo de tratamiento o los fármacos utilizados para desencadenar la ovulación como se observa en la Tabla 8.

Tabla 7: Datos antropométricos, hormonales y metabólicos entre los dos grupos.

	Metformin group	Control group
Age (years)	33 (8; 21-43)	35 (9; 22-42)
Duration of infertility (ms)	29 (4.5; 13-36)	30 (5.0; 14-35)
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	27.3 (6.4; 15.8-34.6)	26.5 (8.0; 16.7-35.2)
WHR	0.89 (0.08; 0.70-1.2)	0.80 (0.14; 0.74-1.3)
Ferriman-Gallwey score	12.0 (4; 7-20)	12.0 (5; 5-19)
FSH (mIU/mL)	6.3 (4.7; 2.2-13.0)	6.1 (4.8; 2.9-15.6)
T (ng/mL)	4.5 (2.9; 3.0-7.9)	4.7 (3.4; 2.9-8.7)
SHBG (nmol/L)	27.0 (12.0; 18.0-37.1)	27.0 (12.5; 17.3-38.0)
FAI (%)	19.5 (7.8; 9.4-34.3)	20.4 (6.3; 10.3-33.6)
Fasting glucose (mmol/L)	4.8 (0.9; 3.0-5.6)	4.6 (0.8; 3.2-5.3)
Fasting insulin (µU/mL)	26.7 (18.0; 14.0-51.7)	31.3 (16.5; 14.7-49.3)

Datos expresados en medias (IQR; rango min-max). BMI=IMC; FAI: índice de andrógenos libres; SHBG: globulina fijadora de hormonas sexuales; T: testosterona; WHR: ratio cintura-cadera

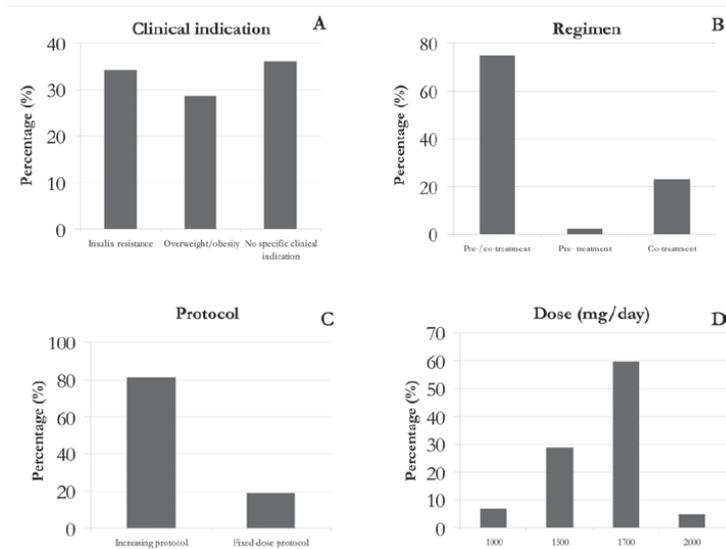
Tabla 8: Características del tratamiento.

	Metformin group	Control group
IVF cycles (n)	191	187
Treatment received for COS (n, %)		
Gonadotropins alone	55 (28.8)	53 (28.3)
GnRH agonist long protocol	68 (35.6)	64 (34.2)
GnRH agonist short protocol	58 (30.4)	55 (29.4)
GnRH antagonist protocol	10 (5.2)	15 (8.0)
Type of gonadotropin used (n, %)		
rFSH	69 (36.1)	72 (38.5)
hpFSH	76 (39.8)	82 (43.9)
hpHMG	32 (16.8)	25 (13.4)
HMG	14 (7.3)	8 (4.3)
Protocol (n, %)		
Step-up	4 (2.1)	6 (3.2)
Step-down	173 (90.6)	155 (82.9)
Other	14 (7.3)	26 (13.9)
Treatment used for triggering ovarian maturation (n, %)		
hpHCG	128 (67.0)	137 (73.3)
rHCG	58 (30.4)	46 (24.6)
GnRH agonist	5 (2.6)	4 (2.1)

Datos expresados en medias y porcentajes. COS=EOC; hp: altamente purificada; IVF=FIV; r: recombinante.

En el grupo que había recibido la metformina se evaluó la indicación clínica (resistencia a la insulina, obesidad, no indicación específica), régimen (pre/co-tratamiento, pre-tratamiento, co-tratamiento), dosis diaria (1000, 1500, 1700, 2000mg/día), duración del tratamiento y protocolo utilizado (creciente, dosis fija) (Figura 6).

Figura 6: Características para el uso de la metformina.



A continuación, con el fin de sintetizar y aunar la información recién expuesta, se muestran unas Tablas (Tablas 9 y 10) resumen de los protocolos de tratamiento, tanto de la metformina como de la EOC, utilizados en todos los estudios:

Tabla 9: Tabla resumen de las pautas de metformina administradas en cada uno de los ensayos estudiados.

<b>Protocolos Metformina</b>		
Tso LO 2009	Fedorcsak 2003	500mg tres veces al día empezando 3 semanas antes del GnRHa
	Visnova 2003	500mg dos veces al día desde el primer día de la estimulación con FSH
	Kjotrod 2004	1gr dos veces al día durante al menos 16 semanas
	Onalan 2005	IMC<28Kg/m <sup>2</sup> : 850mg dos veces al día durante 8 semanas antes de la ICSI IMC>28Kg/m <sup>2</sup> : 850mg tres veces al día durante 8 semanas antes de la ICSI
	Doldi 2006	500mg tres veces al día, pre-tratamiento durante 2 meses
	Tang 2006	850mg dos veces al día desde el inicio de la administración del GnRHa
Kumbak 2009	850mg dos veces al día desde el inicio de la administración del GnRHa hasta la 12sem gestación	
Qublan 2009	850mg dos veces al día empezando un mes antes del inicio de la EOC hasta la 12sem gestación	
Palomba, Falbo, Carrillo 2011	500mg tres veces al día desde el inicio de la administración del GnRHa hasta βhCG+ o sangrado	
Palomba, Falbo, Di Cello 2011	500mg tres veces al día empezando 1 mes antes del inicio de la EOC hasta βhCG+ o sangrado	
Palomba, Falbo, Russo 2012	1000, 1500, 1700 o 2000mg/día en pre-tratamiento, co-tratamiento o ambos	

Tabla 10: Tabla resumen de los protocolos de EOC llevados a cabo en cada uno de los ensayos estudiados.

Protocolos EOC		
Tso LO 2009	Fedorcsak 2003	Protocolo largo con GnRH $\alpha$ y rec-FSH <i>step-up</i> 10000UI hCG con al menos 2 folículos >18mm
	Visnova 2003	Protocolo largo con GnRH $\alpha$ y 150-225UI/día de rec-FSH o hp-FSH
	Kjotrod 2004	Protocolo largo con GnRH $\alpha$ y 100-150UI/día de rec-FSH 5000UI hCG
	Onalan 2005	Protocolo largo con GnRH $\alpha$ y rec-FSH con dosis inicial 150-300UI/día 10000UI hCG
	Doldi 2006	Protocolo corto con GnRHant y rec-FSH <i>step-up</i> con dosis inicial de 150UI/día 250mg hCG cuando 2-3 folículos >16mm
	Tang 2006	Protocolo largo con GnRH $\alpha$ y rec-FSH <i>step-up</i> con dosis inicial de 100UI/día 10000UI hCG con más de 3 folículos >17mm
Kumbak 2009	Protocolo largo con GnRH $\alpha$ y rec-FSH con dosis inicial entre 150-225 UI/día 5000-10000UI hCG con 1 folículo >20mm	
Qublan 2009	Protocolo largo con GnRH $\alpha$ y 150UI/día de HMG 10000UI hCG cuando al menos 3 folículos >17mm	

<b>Protocolos EOC</b>	
Palomba, Falbo, Carrillo 2011	Protocolo largo con GnRHa y rec-FSH, hp-FSH o hp-HMG <i>step-down</i> con dosis inicial de 150UI/día 250µg rec-hCG o 10000UI hCG con al menos 3 folículos >18mm
Palomba, Falbo, Di Cello 2011	Protocolo corto con GnRHa y rec-FSH <i>step-down</i> con dosis inicial de 300UI/día 250µg rec-hCG con al menos 3 folículos >18mm
Palomba, Falbo, Russo 2012	En este estudio se incluyen toda la variedad de protocolos, pautas y fármacos.

## 4. Resultados

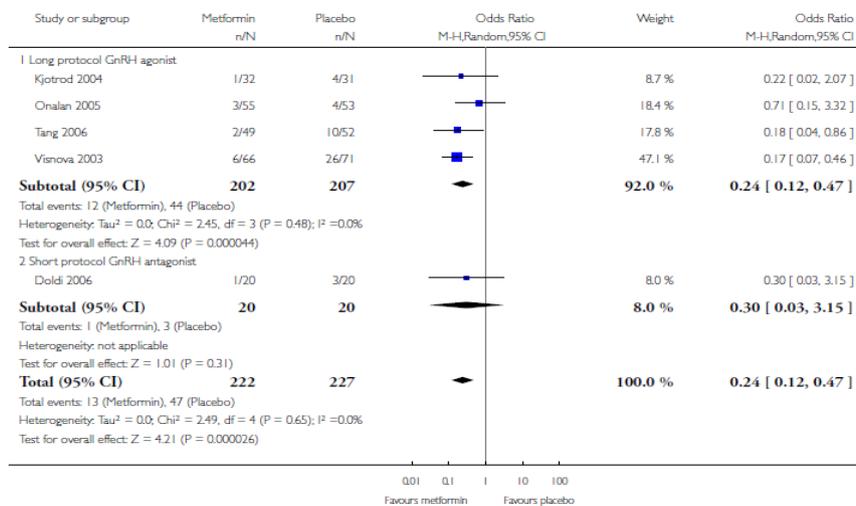
Los resultados obtenidos en cada uno de los estudios, diferenciados según los objetivos perseguidos, con el fin de analizarlos en base a los datos proporcionados en el apartado de Introducción son los siguientes:

### 4.1. Tso LO 2009

#### 4.1.1. Acción de la metformina en la prevención del SHO en ciclos FIV en mujeres con SOP

En este estudio, en cuanto a la incidencia de SHO (OHSS en inglés) se refiere, se tuvieron en cuenta 5 (Visnova 2003, Kjotrod 2004, Onalan 2005, Tang 2006, Doldi 2006) de los 6 ensayos analizados, con un total de 447 participantes divididas de modo que, 222 pertenecen al grupo tratado con metformina y 227 al grupo del placebo o no tratamiento.

Figura 7: Incidencia de SHO.



La incidencia del SHO se agrupó en dos subcategorías: los estudios que utilizaron un protocolo largo con GnRH $\alpha$  (Visnova 2003, Kjotrod 2004, Onalan 2005, Tang 2006) y el estudio que utilizó un protocolo corto con GnRHant (Doldi 2006).

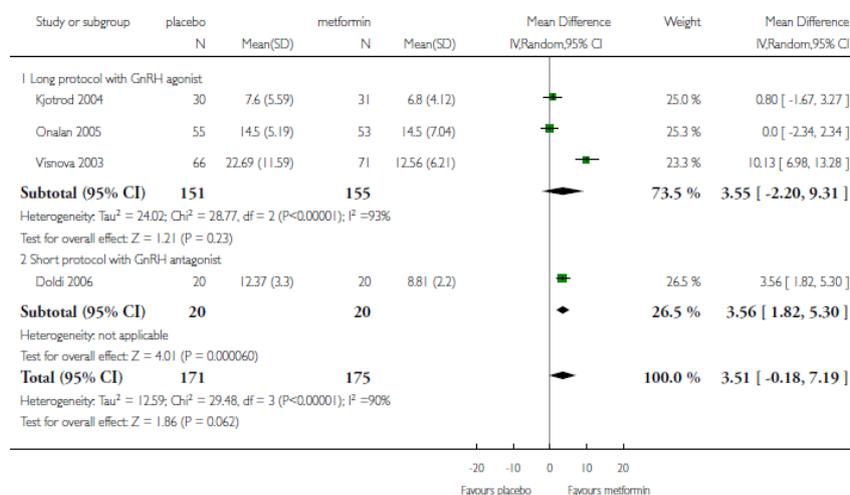
Como se observa en la Figura 7, la incidencia de SHO es estadísticamente inferior en el grupo de la metformina (13/222, 5.8%) comparado con el grupo del placebo o no tratamiento (47/227, 20.7%) con un Odds Ratio (OR) combinado de 0.27 y un intervalo

de confianza (CI) del 95% (0.16 a 0.47). Los 5 estudios individuales demostraron una reducción en la tasa de SHO, con 2 de ellos mostrando una reducción significativa (Visnova 2003, Tang 2006) en el grupo de la metformina.

Por otro lado, en esta revisión también se ha evaluado el nivel de estradiol sérico en el día de la administración de la hCG. Este dato es importante, ya que es un parámetro muy relacionado con el riesgo de SHO. El nivel de estradiol puede dar una idea del número y el tamaño de los folículos que se han reclutado y que se van a luteinizar con la administración de la hCG y por tanto, que van a producir VEGF, mediador estrechamente relacionado con el SHO como ya se ha mencionado.

En este caso se han tenido en cuenta 4 (Visnova 2003, Kjotrod 2004, Onalan 2005, Doldi 2006) de los 6 estudios, uno menos (Tang 2006) que para la incidencia del SHO, con un total de 346 participantes, 171 del grupo del placebo o no tratamiento y 175 del grupo de la metformina.

Figura 8: Nivel de estradiol sérico.



Los resultados también se agruparon en dos subcategorías según se hubiera utilizado el protocolo largo con GnRH<sub>a</sub> (Visnova 2003, Kjotrod 2004, Onalan 2005) o el corto con GnRH<sub>ant</sub> (Doldi 2006).

Se observa que la metformina reduce los niveles de estradiol sérico en ambas subcategorías (Figura 8).

En la subcategoría tratada con protocolo largo con GnRHa la media de los niveles de estradiol fue menor, aunque no significativamente diferente en las 155 mujeres tratadas con metformina, comparado con las 151 mujeres tratadas con placebo o no tratamiento (diferencia media (WMD) 3.55; 95% CI -2.20 a 9.31).

Sin embargo, en la subcategoría del tratamiento corto con GnRHant se observa una media de estradiol sérico significativamente mayor en el grupo del no tratamiento (20 mujeres), comparado con el grupo de la metformina (20 mujeres) (WMD 3.56; 95% CI 1.82 a 5.30).

Aunque se observa una reducción en el nivel de estradiol para el total de las 175 mujeres tratadas con metformina, frente a las 171 mujeres tratadas con placebo o no tratadas, ésta no fue estadísticamente significativa (WMD 3.51; 95% CI -0.18 a 7.19). Cabe mencionar aquí que la significación no se alcanza por una muy ligera diferencia, cuya explicación se podría encontrar analizando la heterogeneidad significativa que se observó entre los 4 estudios que dan lugar a los resultados para este parámetro.

En el estudio de Tang 2006 se reportó el nivel de estradiol sérico usando un análisis de regresión lineal múltiple. Tras ajustar la dosis total y el número de folículos, observó que la metformina reducía las concentraciones de estradiol el día de la administración de la hCG.

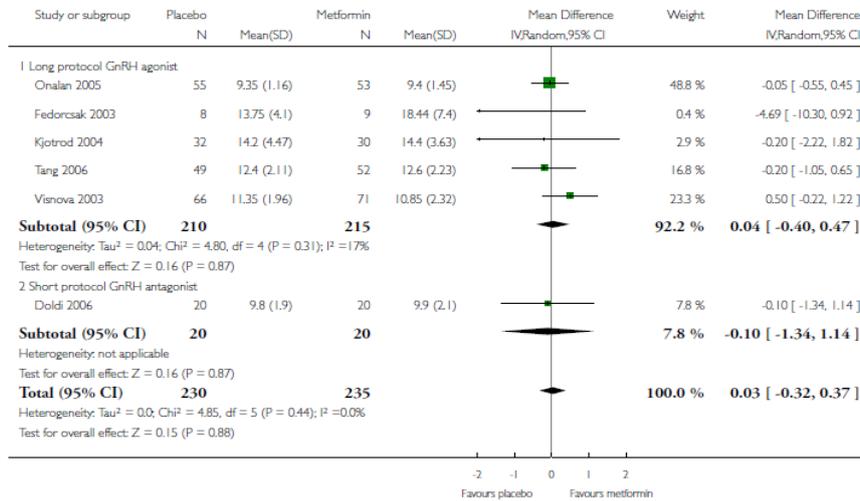
Es importante notar que ambas tasas (incidencia de SHO y niveles de estradiol) van correlacionadas. Esto se observa bien en el estudio de Visnova 2003, en el que se observó una reducción bastante significativa en la incidencia de SHO y ahora, en la gráfica de los niveles de estradiol, podemos ver también una reducción muy significativa de éstos.

#### *4.1.2. Acción de la metformina sobre la duración y dosis del tratamiento con gonadotropinas para ciclos FIV en mujeres con SOP*

En lo que al segundo objetivo respecta, tanto para determinar la duración como la dosis del tratamiento de la EOC se han tenido en cuenta los 6 estudios, con un total de 465 participantes, de los cuales 235 pertenecen al grupo de la metformina y 230 al del placebo o no tratamiento.

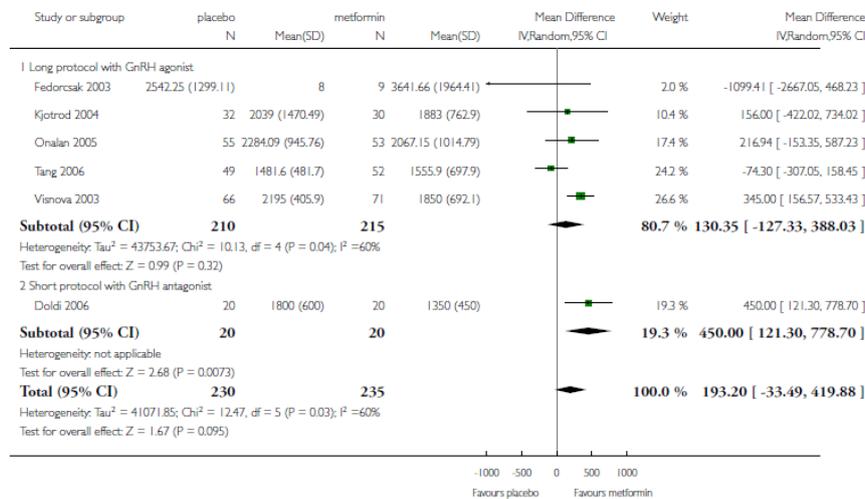
Los estudios fueron divididos en dos subcategorías según se hubiera utilizado el protocolo largo con GnRHa (Fedorcsak 2003, Visnova 2003, Kjotrod 2004, Onalan 2005, Tang 2006) o el protocolo corto con GnRHant (Doldi 2006).

Figura 9: Número de días del tratamiento con gonadotropinas.



El número medio de días del tratamiento con gonadotropinas incluyendo ambas subcategorías no fue significativamente diferente en las 230 mujeres tratadas con placebo o no tratamiento comparadas con las 235 mujeres tratadas con metformina (WMD 0.03; 95% CI -0.32 a 0.37), no pudiendo ni siquiera establecerse una tendencia hacia el beneficio de uno u otro grupo respecto a este parámetro. Ninguno de los estudios que forman el meta-análisis demostró diferencia significativa entre los dos grupos de tratamiento en el número de días de la estimulación (Figura 9).

Figura 10: Dosis total de FSH.



En cuanto a la dosis total de FSH (Figura 10), se obtuvo diferencia significativa a favor del grupo de la metformina en la subcategoría tratada con protocolo corto con GnRHant.

En la subcategoría del protocolo largo con GnRH $\alpha$ , parece beneficiarse ligeramente el grupo de la metformina, es decir, los tratados con metformina analizados de forma global dentro de la subcategoría, requerirían menor dosis de FSH en comparación con el placebo o no tratamiento. Sin embargo, dependiendo del estudio individual, se puede ver que en unos está favorecido el grupo de la metformina (Visnova 2003, Kjotrod 2004, Onalan 2005) y en otros sin embargo, el del placebo o no tratamiento (Fedorcsak 2003, Tang 2006). Esto es motivo para que se observe una heterogeneidad significativa a tener en cuenta en esta comparación entre los estudios analizados, para la cual, el grupo de Tso LO no pudo identificar explicación alguna.

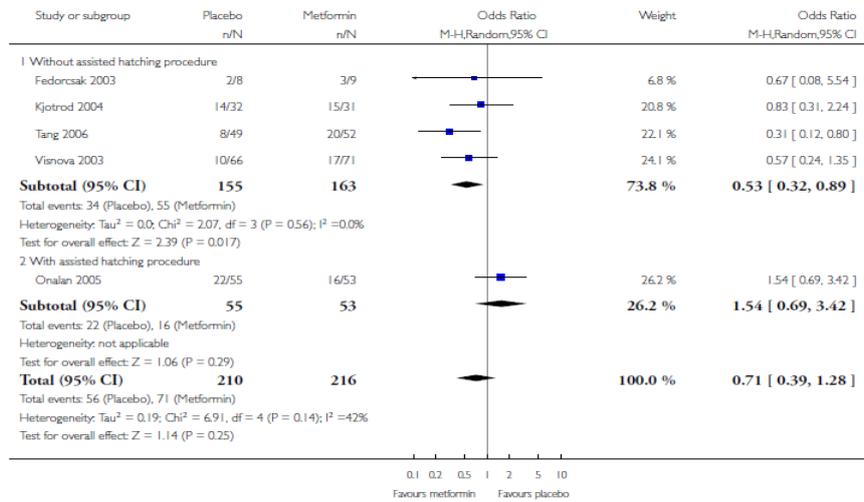
En la comparación entre ambas subcategorías no se observó diferencia significativa en las 230 mujeres tratadas con placebo o no tratamiento, en comparación con las 235 mujeres tratadas con metformina (WMD 193.20; 95% CI - 33.49 a 419.88) aunque en este caso parece salir beneficiado el grupo de la metformina.

#### *4.1.3. Acción de la metformina en la mejora de las tasas de implantación y embarazo de mujeres con SOP sometidas a ciclos de FIV*

En relación al tercero de los objetivos de este trabajo, el presente estudio no hace referencia a la tasa de implantación, pero sí a la tasa de embarazo clínico, resultados los cuales se ven reflejados en la Figura 11.

Para analizar esta tasa se tuvieron en cuenta 5 de los 6 estudios iniciales (Fedorcsak 2003, Visnova 2003, Kjotrod 2004, Onalan 2005, Tang 2006), con un total de 426 participantes de los cuales 216 pertenecen al grupo de la metformina y 210 al del placebo o no tratamiento.

Figura 11: Tasa de embarazo clínico.



La tasa de embarazo clínico fue además agrupada en dos subcategorías: con o sin *hatching* asistido, ya que, como se mencionó en el apartado de Materiales y Métodos, este procedimiento fue aplicado en el estudio de Onalan 2005 en casos seleccionados.

En la primera subcategoría (sin *hatching* asistido) se observa que la tasa de embarazo clínico fue significativamente superior en el grupo de la metformina (55/163, 33.7%) comparado con el del placebo o no tratamiento (34/155, 21.9%) (OR 0.53; 95% CI 0.32 a 0.89).

En la segunda subcategoría (con *hatching* asistido) la tasa de embarazo clínico fue de un 40% (22/55) en el grupo del placebo o no tratamiento y de un 30.2% (16/53) en el grupo de la metformina, saliendo favorecido, en este caso, el grupo del placebo o no tratamiento sin diferencia significativa (OR 1.54; 95% CI 0.69 a 3.42).

De este modo, la tasa de embarazo clínico incluyendo ambas subcategorías no es significativamente diferente entre el grupo de la metformina (71/216, 32.9%) y el del placebo o no tratamiento (56/210, 26.7%), aunque parece favorecer al grupo tratado con metformina (OR 0.71; 95% CI 0.39 a 1.28).

#### 4.2. Kumbak 2009

A continuación se muestran los resultados obtenidos en este estudio. Los datos fueron analizados utilizando el programa SPSS v13.0; los test estadísticos utilizados

para el análisis de los datos fueron el test t-Student y el test Chi-cuadrado. El nivel de significación fue fijado en  $p < 0.05$ .

Tabla 11: Características del ciclo de FIV y resultados en pacientes SOP con  $IMC < 28 \text{Kg/m}^2$  de acuerdo al tratamiento con metformina.

	Metformin positive (n=220)	Metformin negative (n=119)	p
Total gonadotropins used (IU)	1,656 ± 830	1,674 ± 659	NS
HCG day	12.8 ± 1.5	12.9 ± 1.6	NS
HCG E2 (pg/ml)	3,481 ± 1,258	4,192 ± 1,335	<0.0001
HCG endometrium (mm)	11.5 ± 2.0	11.7 ± 2.1	NS
Total oocyte (n)	21.4 ± 7.0	21.6 ± 8.0	NS
MII oocyte (n)	16.2 ± 5.7	16.0 ± 6.3	NS
Fertilization (%)	76	79	NS
Grade I embryos transferred (n)	3.1 ± 1.1	3.1 ± 1.0	NS
Eight-cell emb. no./total emb. no. on Day 3 (%)	30	25	NS
ET day	3.9 ± 0.9	3.9 ± 1.0	NS
Cleavage stage ET (%)	68	66	NS
Blastocyst stage ET (%)	32	34	NS
IR (%)	25.4	17.8	0.003
PR/ET (%)	57.7	45.4	0.04
Abortion (%)	25.9	29.6	NS
OHSS (moderate-severe) (%)	6.8	10.9	NS

Los valores son medias ± DT o porcentajes. IR: tasa de implantación; PR: tasa de embarazo;  $p > 0.05$ . Test t-Student y Chi-cuadrado.

#### 4.2.1. Acción de la metformina en la prevención del SHO en ciclos FIV en mujeres con SOP

Con respecto al primero y principal de los objetivos planteados en este trabajo, analizaremos de esta Tabla 11, al igual que en el estudio anterior, la incidencia de SHO y el nivel de estradiol sérico.

En cuanto a la incidencia de SHO en este caso solo se tienen en cuenta los casos moderados o severos de este síndrome. Se observa una disminución en el grupo tratado con metformina (6.8%), aunque no de manera significativa, con respecto al grupo que no ha sido tratado (10.9%).

Por otro lado, en el nivel de estradiol sérico el día de la administración de la hCG, se observa, esta vez significativamente, un menor pico en este nivel en el grupo al que se le administró la metformina (3481pg/ml vs 4192pg/ml;  $p < 0.0001$ ).

#### 4.2.2. Acción de la metformina sobre la duración y dosis del tratamiento con gonadotropinas para ciclos FIV en mujeres con SOP

Como se puede ver en la Tabla 11, las diferencias tanto en la duración de la estimulación (12.8 vs 12.9 días) como en la cantidad de gonadotropinas utilizadas (1656UI vs 1674UI) entre el grupo tratado con metformina y el no tratado son

prácticamente inexistentes, no pudiendo establecerse así ni siquiera una tendencia hacia el beneficio de ninguno de los dos grupos.

#### 4.2.3. Acción de la metformina en la mejora de las tasas de implantación y embarazo de mujeres con SOP sometidas a ciclos de FIV

Para este tercer objetivo en este estudio se obtuvieron resultados tanto de la tasa de implantación, medida como el número de sacos gestacionales por número de embriones transferido, como de la tasa de embarazo bioquímico, medido como un test  $\beta$ hCG positivo por embrión transferido.

En los resultado se observa que tanto la tasa de implantación (25.4% vs 17.8%,  $p=0.003$ ), como la de embarazo bioquímico (57.7% vs 45.4%,  $p=0.04$ ) fueron significativamente más altas en el grupo tratado con metformina en comparación con los que no recibieron metformina.

### 4.3. Qublan 2009

En la siguiente Tabla 12 se muestran los resultados obtenidos en este estudio, los cuales se analizarán a continuación. Un valor de  $p<0.05$  fue considerado estadísticamente significativo tras analizar los datos obtenidos con alguno de los siguientes test dependiendo de la variable analizada: test t-Student, test Chi-cuadrado o test de Fisher.

Tabla 12: Características del tratamiento y resultados reproductivos.

	Group 1 (metformin) (n= 34)	Group 2 (placebo) (n= 32)	p value
Days of stimulation with HMG	12.2 $\pm$ 3.1	15.1 $\pm$ 3.9	< 0.01
No. of ampoules of HMG	35 $\pm$ 8.6	46.5 $\pm$ 10.6	< 0.01
No. of follicles > 14 mm	11.3 $\pm$ 4.1	13 $\pm$ 3.8	< 0.05
No. of oocytes retrieved	14.2 $\pm$ 3.1	17.1 $\pm$ 4.1	< 0.05
Metaphase II oocytes	(78.2)	(59.4)	< 0.05
Oestradiol level on day of hCG	1878 $\pm$ 127	2017 $\pm$ 234	< 0.05
Fertilisation rate (%)	(74.8)	(56.2)	< 0.05
No. of day 2 embryos	7.7 $\pm$ 2.1	7.8 $\pm$ 2.8	NS
Grades of embryos (%)			
Good	56.2	36.7	< 0.05
Fair	18.1	21.4	NS
Poor	25.7	41.9	< 0.05
No. of embryos transferred	2.8 $\pm$ 1.6	2.8 $\pm$ 1.7	NS
Cancellation rate (%)	0	3/32 (9.3)	< 0.5
Implantation rate (%)	(16.7)	(12.9)	< 0.01
Pregnancy rate (%)	15/34 (44.1)	9/32 (28.1)	NS
Multiple pregnancy rate (%)	4/15 (26.7)	3/9 (33.3)	NS
Abortion rate (%)	1/15 (6.7)	4/9 (44.4)	< 0.05
Ovarian hypersimulation syndrome	0	3/32 (9.3)	< 0.05

Los valores están expresados en medias $\pm$ DT o porcentajes.

#### *4.3.1. Acción de la metformina en la prevención del SHO en ciclos FIV en mujeres con SOP*

De esta Tabla 12 se analizarán, en referencia al principal objetivo, la incidencia de SHO, el nivel de estradiol sérico el día de la administración de la hCG y además, otro dato que en los anteriores estudios no figuraba, que es el número de folículos de diámetro mayor a 14mm (periovulatorios), también en el día del desencadenamiento de la ovulación. Este dato también está relacionado con el riesgo de SHO y con el nivel de estradiol ya que, a mayor número de folículos que responden a la estimulación e inician su crecimiento hasta alcanzar este tamaño, más estradiol van a secretar y más VEGF van a producir en total sus células de la granulosa luteinizadas tras la administración de la hCG para desencadenar la ovulación, aumentando así el riesgo de SHO.

De este modo, en los resultados mostrados en la Tabla 12 se observa que el grupo tratado con metformina tiene, en relación al tratado con placebo, unos valores significativamente menores ( $p < 0.05$ ) tanto para la incidencia de SHO (0 vs 9.3%), como para el nivel de estradiol (1878pg/ml vs 2017pg/ml) y el número de folículos  $>14$ mm (11.3 vs 13).

#### *4.3.2. Acción de la metformina sobre la duración y dosis del tratamiento con gonadotropinas para ciclos FIV en mujeres con SOP*

Como se observa en la Tabla 12 de resultados, en comparación con el grupo tratado con metformina, las mujeres que recibieron un tratamiento con placebo muestran un significativo incremento en el número de días de estimulación con HMG (15.1 vs 12.2,  $p < 0.01$ ) y en el número de ampollas de HMG (46.5 vs 35,  $p < 0.01$ ). Esto otorga un beneficio, traducido en una menor duración y dosis, al grupo tratado con metformina.

#### *4.3.3. Acción de la metformina en la mejora de las tasas de implantación y embarazo de mujeres con SOP sometidas a ciclos de FIV*

Este estudio nos muestra resultados tanto de tasa de implantación, como de tasa de embarazo clínico demostrado como latido fetal positivo.

Las mujeres tratadas con metformina mostraron un incremento significativo en la tasa de implantación (16.7% vs 12.9%,  $p < 0.01$ ) comparadas con aquellas tratadas con placebo. Sin embargo, se observó un incremento no significativo en lo que a tasa de embarazo clínico se refiere en el grupo de la metformina frente al del placebo.

#### 4.4. Palomba, Falbo, Carrillo 2011

A continuación se muestra la Tabla 13 con los resultados obtenidos en este estudio. Para todos los análisis estadísticos se utilizó el programa SPSS v14.0.1; se utilizaron multitud de test (test Chi-cuadrado de Pearson, test de Fisher, test Kolmogorov-Smirnov y test Mann-Whitney), cada uno de ellos destinado a un tipo de análisis. La significación estadística fue fijada en  $p < 0.05$ .

Tabla 13: Características del tratamiento y resultados reproductivos.

Variable	Metformin (n = 60)	Placebo (n = 60)	P value
Stimulation length (d)	13.0 (4; 9-15)	12.0 (3; 9-14)	.006
Gonadotropins dose (IU)	1,350.0 (450; 950-1,800)	1,275.0 (350; 900-1,750)	.018
Periovulatory follicles on day of ovulation triggering (n)	13.0 (7; 3-18)	13.9 (7; 5-20)	.066
Non-periovulatory follicles on day of ovulation triggering (n)	4.3 (2; 0-6)	5.5 (2.5; 2-9)	.034
Cancellation rate	3/60 (5.0)	11/60 (18.3)	.023
Peak E <sub>2</sub> levels on day of ovulation triggering (pg/mL)	1,950.5 (105; 342-4,021)	2,345.7 (130; 709-4,123)	.029
E <sub>2</sub> levels for periovulatory follicle (pg/mL)	315.0 (40; 203-510)	421.5 (34; 279-615)	.011
Retrieved oocytes	9.5 (5; 3-17)	10.0 (5; 5-20)	.097
Transferred embryos (no. per fertilized oocytes)	114/290 (39.3)	98/306 (32.0)	.063
Implantation rate (no. per transferred embryos)	41/114 (36.0)	31/98 (31.6)	.507
Clinical pregnancy rate (no. per started cycles)	26/60 (43.3)	24/60 (40.0)	.711
Ongoing pregnancy rate (no. per started cycles)	21/60 (35.0)	19/60 (31.7)	.699
Multiple pregnancies rate (no. per pregnancy)	5/26 (19.2)	5/24 (20.8)	.887
Live-birth rate (no. per started cycles)	29/60 (48.3)	27/60 (45.0)	.855
OHSS (no. per started cycles)	5/60 (8.3)	18/60 (30.0)	.003
Mild	3/60 (5.0)	11/60 (18.3)	.012
Moderate	2/60 (3.3)	6/60 (10.0)	
Severe	0/60 (0.0)	1/60 (1.7)	

Datos expresados como porcentaje y analizados con los test Chi-cuadrado de Pearson o test de Fisher, o como medias (IQR; rango min-max) y analizados usando el test Mann-Whitney.

##### 4.4.1. Acción de la metformina en la prevención del SHO en ciclos FIV en mujeres con SOP

En lo que al principal objetivo del trabajo se refiere se tuvieron en cuenta, al igual que en el anterior estudio, la incidencia de SHO, los niveles de estradiol y el número de folículos.

Pero en este caso, el número de folículos el día del desencadenamiento de la ovulación se dividió en dos categorías: el número de folículos no-periovulatorios (<15mm) y el número de folículos periovulatorios. De acuerdo con esto, también en el

nivel de estradiol se diferenci6 entre el nivel de estradiol producido por los fol6culos periovulatorios y el nivel total de estradiol, en el d6a de la administraci6n de la hCG.

De este modo en los resultados se observa que la incidencia total de SHO es significativamente menor ( $p=0.003$ ) en el grupo tratado con metformina que con placebo.

A pesar de no estar reflejado en la Tabla 13, en el estudio se menciona que, de las mujeres que desarrollaron alg6n grado de SHO, en 4 de las 5 pacientes (80%) del grupo de la metformina y en 13 de las 18 (72.2%) del grupo del placebo, el SHO desarrollado fue temprano, mientras que en el resto de los casos fue tard6o, es decir, asociado al embarazo.

En cuanto a los niveles de estradiol, tanto el nivel total de estradiol ( $p=0.029$ ), como el nivel de estradiol producido por los fol6culos periovulatorios ( $p=0.011$ ), fueron significativamente menores en el grupo tratado con metformina que en el tratado con placebo.

El n6mero de fol6culos periovulatorios fue menor en el grupo de la metformina ( $p=0.066$ ) aunque, a pesar de tener una clara tendencia a la significaci6n estad6stica, no llega a ser significativo. Mientras que el n6mero medio de fol6culos no-periovulatorios s6 fue significativamente menor ( $p=0.034$ ) en el grupo tratado con metformina en comparaci6n con el grupo del placebo.

#### *4.4.2. Acci6n de la metformina sobre la duraci6n y dosis del tratamiento con gonadotropinas para ciclos FIV en mujeres con SOP*

Respecto a este punto, la Tabla 13 de resultados muestra que, tanto la duraci6n de la estimulaci6n ( $p=0.006$ ), como el n6mero de unidades de gonadotropina utilizadas ( $p=0.018$ ), fueron significativamente mayores en el grupo tratado con metformina que en el tratado con placebo.

#### 4.4.3. Acción de la metformina en la mejora de las tasas de implantación y embarazo de mujeres con SOP sometidas a ciclos de FIV

En este estudio también podemos ver reflejados los resultados de las tasas de implantación y de embarazo clínico y además, la tasa de embarazos que continúan en el tiempo.

No se observaron diferencias significativas entre los dos grupos en ninguna de las tres tasas, ni en la de implantación ( $p=0.507$ ), ni en la de embarazo clínico ( $p=0.711$ ), ni en la de embarazos que se mantienen en el tiempo ( $p=0.699$ ). Aunque si se observa que en los tres casos, en el grupo tratado con metformina, se obtienen mejores resultados.

#### 4.5. Palomba, Falbo, Di Cello 2011

En la Tabla 14 mostrada a continuación se pueden ver los resultados obtenidos de este estudio. Dependiendo del tipo de variable o análisis a realizar se recurrió a los test Chi-cuadrado de Pearson, Fisher, Kolmogorov-Smirnov o Mann-Whitney; el programa SPSS v14.0.1 fue utilizado para realizar todos los análisis estadísticos. Una  $p < 0.05$  fue considerada como significativa, y en valores de  $p \geq 0.05 < 0.09$  se establecía una tendencia.

Tabla 14: Características del tratamiento y resultados reproductivos.

Groups	Metformin (n = 44)	Placebo (n = 44)	P value
Stimulation length (d)	13 (4; 9–15)	11 (4; 9–14)	.071
Gonadotropins dose (IU)	3,900 (1,462.5; 1,835–4,200)	2,400 (1,656; 2,100–4,125)	<.001
Dominant follicles on day of ovulation triggering (no.)	4 (4; 1–10)	6 (4; 2–12)	.002
Cancellation rate (no., %)	13/44 (29.5)	6/44 (13.6)	.089
Peak E <sub>2</sub> levels on day of ovulation triggering (pg/mL)	480.0 (503.8; 124.3–1,200)	733.5 (342.5; 230–1,400)	.001
Retrieved oocytes (no.)	3 (3.5; 0–8)	5 (4; 1–10)	.009
MII oocytes (no.)	2.3 (1.5; 0–6)	4 (2.5; 1–7)	.017
Fertilization rate (no., %)	157/205 (76.6)	248/328 (75.6)	.798
Zygote quality (no., %)			.659
Z1	72/157 (45.9)	99/248 (39.9)	
Z2	40/157 (25.5)	57/248 (23.0)	
Z3	29/157 (18.5)	53/248 (21.4)	
Z4	16/157 (10.2)	39/248 (15.7)	
Cleaved embryo quality (no., %)			.766
Grade 1	65/157 (41.4)	85/248 (34.3)	
Grade 2	33/157 (21.0)	64/248 (25.8)	
Grade 3	32/157 (20.4)	49/248 (19.8)	
Grade 4	14/157 (8.9)	30/248 (12.1)	
Grade 6	13/157 (8.3)	20/248 (8.1)	
Transferred embryos (no. per fertilized oocytes, %)	61/157 (38.9)	92/248 (37.1)	.722
Implantation rate (no. per transferred embryos, %)	26/61 (42.6)	34/92 (37.0)	.482
Clinical pregnancy rate (no. per started cycles, %)	13/44 (29.5)	16/44 (36.4)	.496
Ongoing pregnancy rate (no. per started cycles, %)	11/44 (25.0)	14/44 (31.8)	.637
Multiple pregnancies rate (no. per pregnancies, %)	1/12 (8.3)	2/15 (13.3)	.742
Live-birth rate (no. per started cycles, %)	12/44 (27.3)	13/44 (29.5)	.816

Datos expresados en número y porcentaje y analizados con los test Chi-cuadrado de Pearson o test de Fisher, o como medias (IQR; rango min-max) y analizados usando el test Mann-Whitney. MII: metafase 2.

#### *4.5.1. Acción de la metformina en la prevención del SHO en ciclos FIV en mujeres con SOP*

Aunque no se encuentre reflejado en la Tabla 14 de resultados, el artículo hace referencia a la incidencia del SHO, de modo que según los autores, en ningún caso (0 de 44; 0%) del grupo de la metformina y en 2 casos de 44 (4.5%) del grupo del placebo se desarrolló un grado leve de SHO ( $p=0.247$ ). Por lo que se observa una menor incidencia en el grupo tratado con metformina, aunque no de forma significativa.

Por otro lado, como se puede ver existe una diferencia estadísticamente significativa entre los dos grupos con respecto, tanto al nivel de estradiol ( $p=0.001$ ), como al número de folículos dominantes ( $p=0.002$ ) el día de la administración de la hCG. En ambos casos se obtuvieron unos valores menores en el grupo tratado con metformina.

#### *4.5.2. Acción de la metformina sobre la duración y dosis del tratamiento con gonadotropinas para ciclos FIV en mujeres con SOP*

En este estudio tanto la dosis de gonadotropina utilizada ( $p<0.001$ ) como la duración de la estimulación ovárica ( $p=0.071$ ) fueron mayores en el grupo tratado con metformina que en el grupo tratado con placebo. Aunque para esta última no se obtuvo significación estadística, sí se marca una clara tendencia.

#### *4.5.3. Acción de la metformina en la mejora de las tasas de implantación y embarazo de mujeres con SOP sometidas a ciclos de FIV*

Al igual que en el estudio anterior, en éste, se obtuvieron resultados de tasa de implantación, tasa de embarazo clínico y tasa de embarazo continuado en el tiempo.

Como se puede observar en la Tabla 14, tampoco se encontraron diferencias significativas en estos datos reproductivos entre los dos grupos ( $p=0.482$ ,  $p=0.496$  y  $p=0.637$  respectivamente), e incluso, al contrario que en el anterior estudio, los resultados en las tasas de embarazo fueron ligeramente peores en el grupo tratado con metformina que en el tratado con placebo.

#### 4.6. Palomba, Falbo, Russo 2012

Por último, se muestra la Tabla 15 de resultados del sexto de los estudios analizados. Un valor de  $p \leq 0.05$  fue considerado significativo tras la realización de numerosos test (Kolmogorov-Smirnov con nivel de significación de Lilliefors, Mann-Whitney, Chi-cuadrado y ANOVA) sobre los datos obtenidos, dependiendo del análisis a realizar. El programa SPSS v13.0.1 fue el utilizado para los análisis estadísticos.

Tabla 15: Características del tratamiento y resultados reproductivos.

	Metformin group	Control group
Stimulation length (days)	15.4 (4.2; 9–18) <sup>a</sup>	13.6 (4.2; 9–17)
Gonadotropins dose (IU)	2970 (290; 1200–3700) <sup>a</sup>	2650 (290; 1100–3500)
Cancellation rate (n, %)	20/191 (10.5)	17/187 (9.1)
Poor response	15/191 (7.9) <sup>a</sup>	4/187 (2.1)
High risk for OHSS	5/191 (2.6) <sup>a</sup>	13/187 (7.0)
Dominant follicles on day of ovulation triggering (n)	7.3 (1.2; 1–16) <sup>a</sup>	11.7 (1.5; 2–19)
Peak E <sub>2</sub> levels on day of ovulation triggering (nmol/L)	12.7 (9.5; 1.8–19.5) <sup>a</sup>	14.6 (8.0; 2.7–22.7)
Retrieved oocytes (n)	6.7 (1.0; 1–15)	7.2 (1.5; 1–18)
MII oocytes (n)	6.0 (1.5; 1–14)	6.5 (1.3; 1–17)
Fertilization rate (n, %)	225/289 (77.9)	231/310 (74.5)
Embryo transferred (n, %)	137/225 (60.9)	130/231 (56.3)
Cleaved embryo quality (n, %)		
Grade 4	92/225 (40.9)	88/231 (38.1)
Grade 3	74/225 (32.9)	69/231 (29.9)
Grade 2	51/225 (22.7)	65/231 (28.1)
Grade 1	8/225 (3.6)	9/231 (3.9)
Implantation rate (n, %)	41/137 (29.9)	32/130 (24.6)
Pregnancy rate (n, %)	48/191 (25.1)	56/187 (29.9)
Live-birth rate (n, %)	74/191 (38.8)	89/187 (47.6)
Multiple pregnancies rate (n, %)	13/48 (27.1)	21/56 (37.5)
OHSS (n, %)	23/191 (12.1)	35/187 (18.7)

Datos expresados como medias (IQR; rango min-max) o como número (porcentaje). <sup>a</sup> $p < 0.05$ .

##### 4.6.1. Acción de la metformina en la prevención del SHO en ciclos FIV en mujeres con SOP

En cuanto a la incidencia de SHO se observa una reducción en el grupo tratado con metformina aunque no de forma significativa. Mientras que el número de folículos dominantes y el nivel de estradiol el día de la administración de la hCG fueron significativamente menores en el grupo de la metformina en comparación con el del placebo.

##### 4.6.2. Acción de la metformina sobre la duración y dosis del tratamiento con gonadotropinas para ciclos FIV en mujeres con SOP

Como se observa en la Tabla 15 de resultados la duración de la estimulación y la dosis de gonadotropinas fueron significativamente mayores ( $p < 0.05$ ) en el grupo tratado con metformina en comparación con el grupo control.

#### *4.6.3. Acción de la metformina en la mejora de las tasas de implantación y embarazo de mujeres con SOP sometidas a ciclos de FIV*

En este estudio se proporcionan datos tanto de la tasa de implantación como de la tasa de embarazo clínico.

No se observan en la Tabla 15 diferencias significativas entre los dos grupos en ninguna de las dos tasas. Sin embargo, mientras que para la tasa de implantación, en el grupo tratado con metformina, se muestran mejores resultados, no ocurre así con la tasa de embarazo clínico, en la que parece verse favorecido el grupo control sin tratamiento.

Al igual que en el apartado anterior, a continuación, con el fin de sintetizar y aunar la información recién expuesta, se muestran unas tablas (Tabla 16, 17 y 18) resumen de los resultados obtenidos, esta vez separados, en lugar de por estudio, por objetivos, para ayudar al entendimiento del análisis y discusión de todos estos datos proporcionados en los estudios:

Tabla 16: Tabla resumen de los resultados obtenidos en relación al Objetivo 1.

<b>Resultados Objetivo 1</b>	
Tso LO 2009	<u>Incidencia de SHO</u> : menor en el grupo de la metformina con diferencia significativa (CDS) <u>Nivel de estradiol</u> : menor en el grupo de la metformina sin diferencia significativa (SDS)
Kumbak 2009	<u>Incidencia de SHO moderado/severo</u> : menor en el grupo de la metformina SDS <u>Nivel de estradiol</u> : menor en el grupo de la metformina CDS
Qublan 2009	<u>Incidencia de SHO</u> : menor en el grupo de la metformina CDS <u>Nivel de estradiol</u> : menor en el grupo de la metformina CDS <u>Número de folículos periovulatorios</u> : menor en el grupo de la metformina CDS
Palomba, Falbo, Carrillo 2011	<u>Incidencia de SHO leve/moderado/severo</u> : menor en el grupo de la metformina CDS <u>Nivel de estradiol por los folículos periovulatorios</u> : menor en el grupo de la metformina CDS <u>Nivel de estradiol total</u> : menor en el grupo de la metformina CDS <u>Número de folículos no-periovulatorios (&lt;15mm)</u> : menor en el grupo de la metformina CDS <u>Número de folículos periovulatorios</u> : menor en el grupo de la metformina SDS
Palomba, Falbo, Di Cello 2011	<u>Incidencia de SHO leve</u> : menor en el grupo de la metformina SDS <u>Nivel de estradiol</u> : menor en el grupo de la metformina CDS <u>Número de folículos periovulatorios</u> : menor en el grupo de la metformina CDS
Palomba, Falbo, Russo 2012	<u>Incidencia de SHO</u> : menor en el grupo de la metformina SDS <u>Nivel de estradiol</u> : menor en el grupo de la metformina CDS <u>Número de folículos periovulatorios</u> : menor en el grupo de la metformina CDS

Tabla 17: Tabla resumen de los resultados obtenidos en relación al Objetivo 2.

<b>Resultados Objetivo 2</b>	
Tso LO 2009	<u>Duración del tratamiento</u> : sin diferencia significativa <u>Dosis total de FSH</u> : menor en el grupo de la metformina SDS
Kumbak 2009	<u>Duración del tratamiento</u> : sin diferencia significativa <u>Dosis total de FSH</u> : sin diferencia significativa
Qublan 2009	<u>Duración del tratamiento</u> : menor en el grupo de la metformina CDS <u>Dosis total de FSH</u> : menor en el grupo de la metformina CDS
Palomba, Falbo, Carrillo 2011	<u>Duración del tratamiento</u> : mayor en el grupo de la metformina CDS <u>Dosis total de FSH</u> : mayor en el grupo de la metformina CDS
Palomba, Falbo, Di Cello 2011	<u>Duración del tratamiento</u> : mayor en el grupo de la metformina SDS <u>Dosis total de FSH</u> : mayor en el grupo de la metformina CDS
Palomba, Falbo, Russo 2012	<u>Duración del tratamiento</u> : mayor en el grupo de la metformina CDS <u>Dosis total de FSH</u> : mayor en el grupo de la metformina CDS

Tabla 18: Tabla resumen de los resultados obtenidos en relación al Objetivo 3.

<b>Resultados Objetivo 3</b>	
Tso LO 2009	<u>Tasa de embarazo clínico</u> : mayor en el grupo de la metformina SDS
Kumbak 2009	<u>Tasa de implantación</u> : mayor en el grupo de la metformina CDS <u>Tasa de embarazo bioquímico</u> : mayor en el grupo de la metformina CDS
Qublan 2009	<u>Tasa de implantación</u> : mayor en el grupo de la metformina CDS <u>Tasa de embarazo clínico</u> : mayor en el grupo de la metformina SDS
Palomba, Falbo, Carrillo 2011	<u>Tasa de implantación</u> : mayor en el grupo de la metformina SDS <u>Tasa de embarazo clínico</u> : mayor en el grupo de la metformina SDS <u>Tasa de embarazos continuados en el tiempo</u> : mayor en el grupo de la metformina SDS
Palomba, Falbo, Di Cello 2011	<u>Tasa de implantación</u> : mayor en el grupo de la metformina SDS <u>Tasa de embarazo clínico</u> : menor en el grupo de la metformina SDS <u>Tasa de embarazos continuados en el tiempo</u> : menor en el grupo de la metformina SDS
Palomba, Falbo, Russo 2012	<u>Tasa de implantación</u> : mayor en el grupo de la metformina SDS <u>Tasa de embarazo clínico</u> : menor en el grupo de la metformina SDS

## 5. Discusión

La estrecha relación que la resistencia a la insulina y la hiperinsulinemia compensante a ésta, parecen tener con el SOP y todo lo que ello conlleva, hacen de la metformina el principal motivo para este análisis. A lo largo de los estudios analizados en este trabajo, se encuentra que la metformina realmente podría tener efectos beneficiosos sobre estas mujeres en cuanto a ciertos aspectos de los tratamientos de FIV.

Según se ha expuesto a lo largo de este trabajo, las mujeres con SOP son altas respondedoras a la estimulación ovárica con gonadotropinas, dando lugar a un excesivo reclutamiento de folículos, a excesivos niveles de estradiol y a una liberación aumentada por parte de cada uno de estos folículos del mediador VEGF, principal implicado en el desencadenamiento del SHO.

De este modo, tras el tratamiento con metformina en estas mujeres se esperaría que los tres parámetros analizados: nivel de estradiol, número de folículos e incidencia de SHO, disminuyeran con respecto a aquellas mujeres con SOP sin tratamiento o tratadas con placebo.

En los resultados de los diferentes estudios se observa que en todos y cada uno de ellos existe una reducción en los valores de los tres parámetros analizados en el grupo tratado con metformina.

En cuanto a la incidencia de SHO, en los 6 estudios se observa una reducción en el grupo tratado con metformina respecto al grupo que no recibió metformina, si bien es cierto que, diferencias estadísticamente significativas se aprecian en tres de ellos (Tso LO 2009; Qublan 2009; Palomba, Falbo, Carrillo 2011), mientras que en los otros tres (Kumbak 2009; Palomba, Falbo, Di Cello 2011; Palomba, Falbo, Russo 2012) existe una tendencia, la incidencia es menor en el grupo tratado con metformina, pero no de forma significativa.

Analizando los tres estudios en los que la diferencia en la incidencia de SHO no es significativa, en los tres sí se observa una reducción estadísticamente significativa

tanto en el número de folículos, como en el nivel de estradiol. En teoría, la incidencia de SHO debería ir acorde con estos otros dos parámetros, por lo que analizando los estudios, esta leve discordancia puede ser debida a diferentes motivos dependiendo del estudio.

En el estudio de Kumbak 2009 podría ser causa de que solo se están teniendo en cuenta los casos de SHO moderados y severos, y no la totalidad de los casos de SHO, como en el resto de los estudios. La omisión de los casos leves podría ser la causa de la no significación en la incidencia del SHO, ya que, como se observa en el estudio de Palomba, Falbo, Carrillo 2011, el único que diferencia los valores entre los tres grados de SHO, el SHO leve es el que se da con mayor frecuencia, por lo que si se omite, podría dar lugar a una ligera desviación en los datos.

También podría ser a causa de que en este estudio solo se están teniendo en cuenta mujeres delgadas, con  $IMC < 28 \text{Kg/m}^2$ , y una media de IMC en cada uno de los dos grupos de estudio comparados que no supera los  $25 \text{Kg/m}^2$ . Mientras que en el resto de los estudios no hacen esta distinción, y la media del IMC entre los distintos grupos se encuentra siempre por encima de los  $25 \text{Kg/m}^2$ , lo cual ya se considera sobrepeso, e incluso en alguno de los estudios, por encima de los  $30 \text{Kg/m}^2$  (obesidad).

En este caso podría deberse a que, en cuanto a la incidencia de SHO, la metformina podría no tener los mismos efectos en mujeres delgadas que en aquellas con sobrepeso u obesidad. Hay que tener en cuenta que algunos autores postulan la existencia de un riesgo aumentado de SHO en mujeres delgadas (22). Por lo que, aunque hay controversia en cuanto a esta afirmación, la causa de este aumento del riesgo en mujeres delgadas, junto con el desconocimiento exacto de las causas por las que se da lugar a la resistencia a la insulina en estas mujeres y que se trata además de mujeres jóvenes, lo cual es otro factor de riesgo de SHO debido al gran número de folículos existentes, podrían ser a su vez las causas de que la metformina no consiga reducir de forma significativa la incidencia de SHO.

En el estudio de Palomba, Falbo, Di Cello 2011 esta discordancia puede deberse a que se incluye una variable diferente al resto de los estudios, y es el hecho de que las

mujeres incluidas en el estudio, parten de una reserva ovárica disminuida. Por lo que, a pesar de que se observa una disminución significativa tanto en el número de folículos periovulatorios como en el nivel de estradiol, la disminución en la incidencia del SHO no llegaría a ser estadísticamente significativa, porque el número de folículos que van a responder a la estimulación, debido a esta baja reserva ovárica, no sería suficiente como para llegar a existir peligro de desarrollar un SHO importante. Es por esto también, que en este estudio solo se ha tenido en cuenta el SHO leve.

En el estudio de Palomba, Falbo, Russo 2012, una explicación posible a esta discordancia, puede ser que se trata de un estudio retrospectivo, en el que la población seleccionada para el estudio no ha sido sometida a un mismo protocolo y pauta de EOC, ni de tratamiento con metformina, por lo que estas variaciones podrían dar lugar a una cierta variabilidad en los datos.

El estudio de Kumbak 2009 también es un estudio retrospectivo, pero en él, todas las pacientes habían recibido el mismo protocolo tanto de EOC como de metformina.

Aunque se observen niveles de estradiol y un número de folículos significativamente menor en aquellos grupos a los que se les ha administrado metformina, pero en algunos de estos estudios, esto no concuerde del todo con los resultados en la incidencia del SHO, podría ser justificable, ya que el mecanismo por el que éste síndrome se desarrolla es todavía controvertido. Por lo que estos dos parámetros, aunque sí nos proporcionarían una información importante a cerca de la probabilidad de desarrollar un SHO, y su disminución ayudaría a corregir este síndrome, podrían no ser los únicos implicados en su patofisiología.

Como se ve, no en todos los estudios se observa una diferencia significativa entre los dos grupos estudiados que favorezca claramente al grupo tratado con metformina para los tres parámetros estudiados, pero sí que en todos existe una mejoría en todos estos parámetros en este grupo.

Además, se observa que en todos los estudios, nunca es más de uno el parámetro que difiere (el no significativo) y que existe variación en cuanto a cual es

este parámetro no significativo, es decir, no siempre es el mismo. Esto podría indicar la veracidad de los motivos alegados en cuanto a las posibles causas de estos parámetros discordantes, es decir, podrían ser más debidos al diseño del estudio, que al hecho de que no exista un verdadero efecto de la metformina sobre ellos, ya que en otros estudios sí que se observa un beneficio significativo.

El mecanismo exacto por el que la metformina ejercería a sus efectos es aún desconocido. Se cree que podría mejorar los niveles de andrógenos y la resistencia a la insulina mediante acciones tanto locales como sistémicas. En base a los datos que nos proporcionan los resultados de los estudios, podríamos intentar deducir algunos niveles a los que actuaría.

Aunque la metformina no es en principio un fármaco utilizado para mejorar la fertilidad, se ha descrito que sus efectos afectan al metabolismo. El mecanismo por el cual la metformina reduciría la incidencia del SHO en mujeres con SOP, podría ser por medio de un aumento en la sensibilidad a la insulina, que conduciría a la reducción de los niveles circulantes de insulina y corregiría, al menos en parte, los desarreglos que a ella van asociada.

De este modo, con la reducción de la hiperinsulinemia cabría esperar una reducción en:

- La concentración de LH: al reducir los niveles de insulina se mejoraría la alteración en los pulsos de secreción de GnRH por el hipotálamo, y con ellos también la secreción de gonadotropinas por la hipófisis, corrigiendo los excesivos niveles de LH.
- Las IGF-I libres por aumento de las IGFBP-I.
- Los andrógenos: por una disminución del efecto directo de la insulina en la estimulación de la secreción de andrógenos ováricos mediante la estimulación de enzimas implicadas en la esteroidogénesis. Y también, al reducirse tanto las IGF-I libres como la insulina, por una disminución en el número de receptores de LH, y por un aumento en las SHBG, que reducirían los andrógenos libres en circulación y por tanto biodisponibles.

- El VEGF, mediante la disminución del efecto directo de la insulina en combinación con la administración de la hCG en el aumento de la secreción de este mediador por parte de las células de la granulosa luteinizadas.

Esto parece verse confirmado en los resultados de los estudios, al verse reflejado en la reducción del número de folículos y por tanto del nivel de estradiol, y en último término, en la incidencia de SHO.

La corrección de los niveles de andrógenos e IGF-I libres, llevarían presumiblemente a una mejora en las alteraciones en la foliculogénesis temprana por las que se parte de un número aumentado de folículos que han iniciado el desarrollo y llegan al estadio de antrales, dando lugar por tanto, a una reducción en este número. Además, gracias a esta corrección, se daría lugar también a una disminución en la sensibilidad ovárica a la estimulación con gonadotropinas, mediante la reducción de los receptores de FSH en las células de la granulosa y por tanto del número de folículos respondedores a FSH y del nivel de estradiol producido por éstos.

Esta explicación también concordaría con la importante reducción que el grupo de Palomba, Falbo, Carrillo 2011 observó en el número de folículos no-periovulatorios, ya que esta reducción respondería a la mencionada disminución tanto en el número de folículos que llegan a antrales, como en el número de receptores de FSH en las células de la granulosa de estos folículos.

Con la estimulación sin metformina, y bajo la influencia del exceso de andrógenos, responderían a la estimulación folículos que en condiciones normales (sin SOP y/o sin estimulación) no habrían respondido. Por lo que en estas condiciones, tendrán el número suficiente de receptores de FSH como para responder a la estimulación, pero no para llegar a crecer y convertirse en periovulatorios, o al menos no tan rápido, por eso no han alcanzado el tamaño periovulatorio.

La metformina, mediante la reducción de los andrógenos, evitaría que estos folículos desarrollaran receptores para FSH, por lo que ya no responderán a la estimulación, y de ahí la reducción en el número de folículos no-periovulatorios.

La misma teoría podría aplicarse a la disminución, ya sea o no significativa, que tanto éste como el resto de los estudios (Tso LO 2009; Kumbak 2009; Qublan 2009; Palomba, Falbo, Di Cello 2011; Palomba, Falbo, Russo 2012) observan en el número de folículos periovulatorios. Sin metformina, habría folículos que tendrían un número de receptores de FSH suficientes para alcanzar el tamaño periovulatorio. Sin embargo, con metformina, este número de receptores se reduciría, por lo que parte de los folículos que antes habrían llegado a periovulatorios, ahora formarían parte de los folículos no-periovulatorios. A esto se suma también la disminución en el número inicial de folículos antrales del que se parte.

En cuanto a la disminución del nivel de estradiol producido por los folículos periovulatorios que observó este mismo grupo (Palomba, Falbo, Carrillo 2011), también se puede englobar dentro de la explicación anterior.

En este caso, con estimulación y sin metformina, los folículos que han llegado a periovulatorios, debido al exceso de andrógenos, tendrán un exceso de receptores de FSH que hará que produzcan mayores cantidades de estradiol.

Con la metformina, se corregirá este exceso de receptores de FSH, disminuyendo la cantidad de estradiol producido por cada uno de estos folículos, que al disminuir también en número, se traduciría en una disminución del nivel de estradiol total producido por los folículos periovulatorios en respuesta a la estimulación.

De este modo, tanto la reducción en el número de folículos reclutados (periovulatorios y no-periovulatorios), como la reducción del estradiol secretado por cada uno de los folículos, debido a una disminución en el número de receptores de FSH de las células de la granulosa de cada uno de los folículos reclutados, serían la causa de la disminución del nivel total de estradiol que se observa en todos los estudios (Tso LO 2009; Kumbak 2009; Qublan 2009; Palomba, Falbo, Carrillo 2011; Palomba, Falbo, Di Cello 2011; Palomba, Falbo, Russo 2012).

Esta explicación lleva a pensar que en las mujeres con SOP sometidas a estimulación, el nivel de estradiol no está relacionado de igual modo con el número de folículos que en una mujer normal. Al tener cada folículo mayor número de receptores

de FSH, se va a secretar una cantidad mayor de estradiol de la que correspondería por número y tamaño de los folículos.

Por otro lado y continuado con el mecanismo de acción de la metformina, la disminución del número de folículos que van a ser capaces de responder a la estimulación y continuar su desarrollo, junto a la disminución en la producción de VEGF secretado por cada uno de los folículos que sí respondan, llevarán a una reducción de los niveles de totales de VEGF secretados tras la administración de la hCG y en consecuencia, a un menor riesgo de desarrollar un SHO.

De esta manera, éste podría ser uno de los posibles mecanismos utilizados por la metformina, el cual llevaría a los resultados finales que se pueden observar en los estudios (Tso LO 2009; Kumbak 2009; Qublan 2009; Palomba, Falbo, Carrillo 2011; Palomba, Falbo, Di Cello 2011; Palomba, Falbo, Russo 2012) y que se traducen, en último término, en una disminución en el riesgo de SHO al que se exponen las mujeres con SOP que se van a someter a una estimulación ovárica con gonadotropinas para realizar un ciclo de FIV, el cual es el primero y principal objetivo de este trabajo.

Haciendo una reflexión de todo lo explicado y dada la gran importancia que los niveles de andrógenos parecen tener en todo el proceso, algunos autores ya se han planteado la interesante idea de establecer el nivel de andrógenos como un predictor para la identificación, antes de la estimulación, de las mujeres que, según estos niveles, estarían en riesgo de sufrir un SHO (16).

Además, el concepto de que los andrógenos aumenten la respuesta ovárica a la estimulación con gonadotropinas, podría ser un hallazgo importante para aquellas mujeres con baja reserva ovárica y mala respuesta a los tratamientos de estimulación.

En referencia ahora a la duración y dosis de la estimulación, como se puede observar en los resultados del objetivo 2 representados en la Tabla 17, existe una gran discrepancia a la hora de analizar todos los estudios en conjunto.

En tres de los estudios (Tso LO 2009; Kumbak 2009; Qublan 2009), el efecto de la metformina parece provocar una disminución o no tener efecto alguno en los parámetros medidos; mientras que en los otros tres (Palomba, Falbo, Carrillo 2011;

Palomba, Falbo, Di Cello 2011; Palomba, Falbo, Russo 2012) la metformina da lugar a un aumento tanto en la duración como en la dosis total del tratamiento con gonadotropinas.

En estos tres últimos estudios, se observa una diferencia significativa a favor de un aumento para los dos parámetros estudiados en el grupo tratado con metformina, a excepción de la duración del tratamiento en el estudio de Palomba, Falbo, Di Cello 2011, en el que, a pesar no llegar a ser significativa, sí que se establece una clara tendencia en la misma dirección.

Los resultados obtenidos de los estudios de Palomba, Falbo, Carrillo 2011; Palomba, Falbo, Di Cello 2011 y Palomba, Falbo, Russo 2012 indicarían un efecto supresor por parte de la metformina en la respuesta ovárica a gonadotropinas, lo cual sería lo esperable de cara tanto a la hipótesis planteada, como a afianzar lo expuesto anteriormente.

Como ya se expuso, los altos niveles de andrógenos incrementarían la expresión de receptores de FSH en las células de la granulosa de los folículos, viéndose así aumentada la sensibilidad ovárica a la estimulación con gonadotropinas, típico de las mujeres con SOP.

De este modo, la reducción en los niveles de andrógenos a los que daría lugar la metformina por medio de la corrección de la hiperinsulinemia, contribuirían a una menor respuesta ovárica a la estimulación con gonadotropinas, según se ha explicado ya, traducándose esto en un aumento en la duración y dosis total del tratamiento, en comparación con aquellas mujeres con SOP que no han recibido metformina, y por lo tanto, teniendo más sentido los resultados obtenidos en los tres últimos estudios (Palomba, Falbo, Carrillo 2011; Palomba, Falbo, Di Cello 2011; Palomba, Falbo, Russo 2012) que en los anteriores (Tso LO 2009; Kumbak 2009; Qublan 2009).

Además, tras la reducción de los andrógenos, habría también un menor número de folículos que llegarían a antrales, lo que implicaría también un menor número de folículos iniciales susceptibles de responder a la estimulación.

Sin embargo, si nos ponemos en el caso contrario, es decir, en el de que la metformina disminuye tanto la duración como la dosis total del tratamiento, estaríamos incurriendo en una contradicción en los resultados.

De este modo, no se encontraría una explicación a la razón de por qué la metformina da lugar a una disminución en las unidades de gonadotropinas necesarias y a una duración reducida de la estimulación, lo cual parece indicar una sensibilidad ovárica aumentada a las gonadotropinas en combinación con metformina; cuando por otro lado, la reducción en los niveles de estradiol, el número de folículos y la incidencia del SHO, parecen indicar una reducción en la sensibilidad ovárica a las gonadotropinas en combinación con la metformina, es decir, todo lo contrario, de modo que actuaría disminuyendo la respuesta a las gonadotropinas.

De cualquiera de las maneras, en cuanto al presente objetivo, la bibliografía nos proporciona resultados contradictorios, no pudiendo así llegarse a una conclusión definitiva a cerca del efecto de la metformina en este sentido. Aunque, basándonos en los 6 estudios analizados, parece existir una mayor tendencia en la acción de la metformina hacia el aumento tanto en la duración como en la dosis de la EOC, ya que, en 3 de los estudios (Palomba, Falbo, Carrillo 2011; Palomba, Falbo, Di Cello 2011; Palomba, Falbo, Russo 2012) se obtuvieron resultados significativos en esta dirección, mientras que en 2 de ellos (Tso LO 2009; Kumbak 2009) no se observó diferencia entre los dos grupos estudiados o ésta no fue significativa y solo en 1 de los estudios (Qublan 2009) se obtuvo significación en la dirección opuesta, es decir, observaron que la metformina disminuía tanto la duración como la dosis del tratamiento con gonadotropinas.

Cabría mencionar aquí, que en el caso de suponer cierta la hipótesis planteada para este objetivo, esto sería traducible en un empeoramiento en la respuesta ovárica a la administración de gonadotropinas para programas de FIV, lo cual podría verse compensado con la disminución en la incidencia del SHO.

Sin embargo, hay que tener en cuenta, que en las mujeres con baja reserva ovárica estaríamos empeorando una respuesta que ya de por sí va a ser deficiente, sin

una notable mejoría en lo que a riesgo de SHO se refiere. Por lo que en estas mujeres, no se debería realizar la co-administración de metformina en una estimulación con gonadotropinas, con el fin de evitar un aumento injustificado en el riesgo de obtener una pobre respuesta ovárica.

En cuanto a la tasa de implantación en los 5 estudios analizados, encontramos que esta tasa se ve aumentada en el grupo tratado con metformina frente al que no recibió la metformina. Si bien es cierto que la significación estadística solo se encuentra en dos de ellos (Kumbak 2009; Qublan 2009), mientras que en los tres restantes (Palomba, Falbo, Carrillo 2011; Palomba, Falbo, Di Cello 2011; Palomba, Falbo, Russo 2012) la tasa de implantación es mayor pero no se alcanza una diferencia significativa.

La significación observada en el estudio de Kumbak 2009 podría indicar un efecto beneficioso en la implantación en mujeres delgadas, que podría ser atribuido a que en estas mujeres, tanto la resistencia a la insulina como el SOP, tienden a presentar cuadros más leves que en mujeres obesas, por lo que la corrección de las alteraciones por parte de la metformina sería más efectiva.

Hay autores (40) que afirman que existe una relación entre los niveles elevados de estradiol y la tasa de implantación, de modo que existiría un efecto deletéreo de unos altos niveles de estradiol sobre la adhesión embrionaria, debido principalmente a que ejercerían un efecto tóxico directo sobre la división embrionaria (20) y la receptividad endometrial (26).

Por lo que, una posible explicación a la mejoría observada en los 5 estudios, se podría encontrar en dos hechos, ambos relacionados con la reducción del nivel de estradiol a causa de la metformina.

El primero de estos hechos es, la ya explicada, reducción del nivel de estradiol por la reducción tanto en el número de folículos en desarrollo, como en la cantidad de estradiol producido por cada uno de los folículos en desarrollo.

El segundo de ellos, radica en que gracias a la metformina, existiría además una reducción a nivel sistémico, no solo local, de los niveles de estradiol circulantes. Esto

sería debido a que, al reducirse la hiperinsulinemia, disminuiría la producción de andrógenos, no solo de origen ovárico, sino también de origen adrenal, los cuales sufren aromatización a estradiol en el tejido adiposo (12). De este modo, al no tener el tejido adiposo ese exceso de sustrato para la aromatización, tendría lugar una disminución en la producción, y por tanto en los niveles, de estradiol circulantes, lo cual podría ser beneficioso a su vez para la implantación.

Sin embargo, el impacto fisiológico de un elevado nivel de estradiol el día de la administración de la hCG sobre la tasa de implantación sigue siendo muy debatido. Algunos investigadores no han observado efectos adversos, mientras que otros han reseñado una disminución en la tasa de implantación (20).

Además, aunque lo recién explicado podría ser plausible, y en los 5 estudios en los que se basa esta discusión se observa un aumento en la tasa de implantación, lo alejados de la significación que parecen encontrarse los estudios de Palomba, Falbo, Carrillo 2011 ( $p=0.507$ ) y Palomba, Falbo, Di Cello 2011 ( $p=0.482$ ), no permiten asegurar estas deducciones con certeza.

En referencia ahora a tasa de embarazo, en los datos de los 6 estudios analizados se observa variedad en los resultados. En 4 de los 6 estudios analizados, se observa un aumento en la tasa de embarazo en el grupo tratado con metformina, siendo esta no significativa en 3 de ellos (Tso LO 2009; Qublan 2009; Palomba, Falbo, Carrillo 2011) y significativa en el restante (Kumbak 2009). Mientras que en los otros dos estudios (Palomba, Falbo, Di Cello 2011; Palomba, Falbo, Russo 2012), la tasa de embarazo es menor sin diferencia significativa en el grupo de la metformina.

La significación en el estudio de Kumbak 2009 a favor de un aumento en la tasa de embarazo en el grupo de mujeres tratado con metformina, dado que es el único estudio en el que observa un beneficio significativo, se podría atribuir a la misma causa por la que se observó, también en este mismo estudio, un aumento significativo en la tasa de implantación, es decir, al hecho de que, en las mujeres delgadas, la resistencia a la insulina y el SOP, no presentan unos síntomas tan acentuados como en las mujeres

obesas. Al ser las alteraciones menos graves, la metformina sería capaz de corregirlas mejor, dando lugar a un incremento en estas tasas.

A pesar de esto, en este caso es muy importante tener en cuenta que este estudio hace referencia únicamente a la tasa de embarazo bioquímico, reflejada en un test de embarazo  $\beta$ hCG positivo, mientras que en el resto de los estudios, se está valorando la tasa de embarazo clínico, es decir, aquellos embarazos en los que se llega a observar latido fetal. Por lo que es muy probable que la significación obtenida tenga mucho que ver con este hecho.

En cuanto al resto de los estudios, dados los resultados contradictorios obtenidos en la comparación entre ellos y que, salvo el recién comentado, en ninguno se observa diferencia estadística, resulta imposible extraer una conclusión del efecto de la metformina en cuanto a la tasa de embarazo se refiere. Aun así, en conjunto, parece existir cierto beneficio en esta tasa hacia el grupo tratado con metformina.

Hay que tener en cuenta que las diferencias en la indicación clínica para el tratamiento, los protocolos de EOC, la duración y dosis del tratamiento con metformina antes y durante la EOC y el perfil de las mujeres incluidas en los diferentes estudios analizados, hacen difícil que sea posible comparar los resultados de los diferentes estudios, haciendo necesarios estudios con una mayor homogeneidad a todos los niveles, para sacar conclusiones certeras, válidas y definitivas.

Por lo analizado a lo largo de todo este apartado podríamos deducir entonces, que la metformina sí tendría efectos beneficiosos en cuanto a los resultados globales de FIV en mujeres con SOP dado que, tanto la relación del SOP con la resistencia a la insulina, como los posibles efectos mencionados de la metformina sobre ella, parecen estar en consonancia con los resultados.

La gran variedad de presentaciones en las que este síndrome se manifiesta, no hace fácil el poder extrapolar resultados entre diferentes mujeres. Si bien es cierto, que para poder proporcionar resultados definitivos, como se ya dicho, harían falta estudios con protocolos estandarizados tanto de EOC como de metformina.

## **6. Conclusiones**

Por todo lo anteriormente expuesto podemos concluir que:

- 1) El tratamiento con metformina en mujeres con SOP sometidas a EOC para ciclos de FIV, actuaría de forma beneficiosa evitando el alto riesgo de SHO que estas mujeres presentan, mediante la corrección de las alteraciones derivadas de la hiperinsulinemia que dan lugar a él.
  
- 2) Aunque la bibliografía proporciona resultados contradictorios, parece ser que el tratamiento con metformina permitiría un aumento tanto en la duración como en la dosis de la EOC en mujeres con SOP, ayudando así a reforzar la idea de sus beneficios sobre la incidencia del SHO.
  
- 3) El tratamiento con metformina en mujeres con SOP sometidas a EOC para ciclos de FIV mejoraría la tasa de implantación y posiblemente la de embarazo, si bien no se conoce su mecanismo de acción en ambos fenómenos.

## 7. Referencias Bibliográficas

1. Adipoquinas, ¿causantes del exceso de grasas? *Bienestar180* at. Recuperado el 3 de Abril de 2014, de <<http://bienestar.salud180.com/salud-dia-dia/adipoquinas-causantes-del-exceso-de-grasas>>.
2. Aguirre González, C. & Campos Aguiar, J. La metformina en el síndrome de ovario poliquístico. *Med. Leg. Costa Rica*. **24**, 123–135 (2007).
3. Álvarez, J. C. & Nottola, N. Tratamiento del síndrome de ovario poliquístico: Inductores de ovulación. *Rev. Venez. Endocrinol. Metab.* **5**, 67–71 (2007).
4. Azcona, B., Campo, G. & Zabaleta, J. Síndrome de hiperestimulación ovárica. *An. Sist. Sanit. Navar.* **32**, 19–27 (2009).
5. Baptiste, C. G., Battista, M.-C., Trottier, A. & Baillargeon, J.-P. Insulin and hyperandrogenism in women with polycystic ovary syndrome. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* **122**, (2010).
6. De la Jara Díaz, J. F., & Ortega Gonzalez, C. Síndrome de ovario poliquístico. *Revista Mexicana de Medicina de la Reproducción*, **4(2)**:51-62 (2011).
7. Doldi, N., Persico, P., Di Sebastiano, F., Marsiglio, E. & Ferrari, A. Gonadotropin-releasing hormone antagonist and metformin for treatment of polycystic ovary syndrome patients undergoing in vitro fertilization-embryo transfer. *Gynecol. Endocrinol. Off. J. Int. Soc. Gynecol. Endocrinol.* **22**, 235–238 (2006).
8. Franks, S. & Hardy, K. Aberrant follicle development and anovulation in polycystic ovary syndrome. *Ann. Endocrinol.* **71**, 228–230 (2010).
9. Franks, S., Stark, J. & Hardy, K. Follicle dynamics and anovulation in polycystic ovary syndrome. *Hum. Reprod. Update* **14**, 367–378 (2008).
10. Galluzzo, A., Amato, M. C. & Giordano, C. Insulin resistance and polycystic ovary syndrome. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* **18**, 511–518 (2008).
11. Gambineri, A. & Pasquali, R. Resistencia a la insulina, obesidad y síndrome metabólico en el síndrome del ovario poliquístico. *Endocrinol. Nutr. Órgano Soc. Esp. Endocrinol. Nutr.* **53**, 41–55 (2006).

12. Gambineri, A., Pelusi, C., Vicennati, V., Pagotto, U. & Pasquali, R. Obesity and the polycystic ovary syndrome. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord. J. Int. Assoc. Study Obes.* **26**, 883–896 (2002).
13. García Sánchez, E. Factores de riesgo de la población mexicana con respecto a los criterios actuales para síndrome metabólico (2014). Recuperado el 12 de Abril de 2014, de <<http://cdigital.uv.mx/handle/123456789/34754>>.
14. Giallauria, F. *et al.* Androgens in polycystic ovary syndrome: the role of exercise and diet. *Semin. Reprod. Med.* **27**, 306–315 (2009).
15. Giudice, L. C. Insulin-like growth factors and ovarian follicular development. *Endocr. Rev.* **13**, 641–669 (1992).
16. Gustafson, O., Carlström, K. & Nylund, L. Androstenedione as a predictor of ovarian hyperstimulation syndrome. *Hum. Reprod. Oxf. Engl.* **7**, 918–921 (1992).
17. Henry Aristóteles Mateo Sáñez, E. M. El uso de la metformina en el síndrome de ovario poliquístico *Clínica de la Fertilidad de Baja California* (2011). Recuperado el 17 de Abril de 2014, de <[www.clinicadefertilidaddebajacalifornia.com](http://www.clinicadefertilidaddebajacalifornia.com)>.
18. Jonard, S. & Dewailly, D. The follicular excess in polycystic ovaries, due to intra-ovarian hyperandrogenism, may be the main culprit for the follicular arrest. *Hum. Reprod. Update* **10**, 107–117 (2004).
19. Kumbak, B. & Kahraman, S. Efficacy of metformin supplementation during ovarian stimulation of lean PCOS patients undergoing in vitro fertilization. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* **88**, 563–568 (2009).
20. Matorras R, Hernández J (eds): Estudio y tratamiento de la pareja estéril: Recomendaciones de la Sociedad Española de Fertilidad, con la colaboración de la Asociación Española para el Estudio de la Biología de la Reproducción, de la Asociación Española de Andrología y de la Sociedad Española de Contracepción. Adalia, Madrid (2007).
21. Mois, P. Obesidad y resistencia insulínica ¿qué es, cómo se mide, cuáles son sus mecanismos etiopatogénicos y sus consecuencias? *Medwave* **5**, (2005).
22. Navot D, Relou A, Birkenfeld A, Rabinowitz R, Brzezinski A, Margalioth EJ. Risk factors and prognostic variables in the ovarian hyperstimulation syndrome. *Am J Obstet Gynecol.* **159**: 210-15 (1988).

23. Ong, K. J., Theodoru, E. & Ledger, W. Long-term consequence of polycystic ovarian syndrome. *Curr. Obstet. Gynaecol.* **16**, 333–336 (2006).
24. Palomba, S. *et al.* Does metformin affect the ovarian response to gonadotropins for in vitro fertilization treatment in patients with polycystic ovary syndrome and reduced ovarian reserve? A randomized controlled trial. *Fertil. Steril.* **96**, 1128–1133 (2011).
25. Palomba, S. *et al.* Metformin administration in patients with polycystic ovary syndrome who receive gonadotropins for in vitro fertilization cycles: 10-year experience in a large infertile population. *Gynecol. Endocrinol. Off. J. Int. Soc. Gynecol. Endocrinol.* **28**, 81–86 (2012).
26. Palomba, S. *et al.* Metformin reduces risk of ovarian hyperstimulation syndrome in patients with polycystic ovary syndrome during gonadotropin-stimulated in vitro fertilization cycles: a randomized, controlled trial. *Fertil. Steril.* **96**, 1384–1390.e4 (2011).
27. Palomba, S., Falbo, A. & La Sala, G. B. Effects of metformin in women with polycystic ovary syndrome treated with gonadotrophins for in vitro fertilisation and intracytoplasmic sperm injection cycles: a systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. *BJOG Int. J. Obstet. Gynaecol.* **120**, 267–276 (2013).
28. Palomba, S., Falbo, A., Zullo, F. & Orio, F., Jr. Evidence-based and potential benefits of metformin in the polycystic ovary syndrome: a comprehensive review. *Endocr. Rev.* **30**, 1–50 (2009).
29. Palomba, S., Oppedisano, R., Tolino, A., Orio, F. & Zullo, F. Outlook: metformin use in infertile patients with polycystic ovary syndrome: an evidence-based overview. *Reprod. Biomed. Online* **16**, 327–335 (2008).
30. Poretsky, L., Cataldo, N. A., Rosenwaks, Z. & Giudice, L. C. The insulin-related ovarian regulatory system in health and disease. *Endocr. Rev.* **20**, 535–582 (1999).
31. Qublan, H. S. *et al.* Metformin in the treatment of clomiphene citrate-resistant women with polycystic ovary syndrome undergoing in vitro fertilisation treatment: a randomised controlled trial. *J. Obstet. Gynaecol. J. Inst. Obstet. Gynaecol.* **29**, 651–655 (2009).

32. Rina Agrawal, H. J. Concentration of vascular endothelial growth factor released by cultured human luteinized granulosa cells is higher in women with polycystic ovaries than in women with normal ovaries. *Fertil. Steril.* **78**, 1164–9 (2003).
33. Saavedra, J. S. Síndrome De Hiperestimulación Ovárica: Clasificación, Fisiopatología Y Manejo. *Rev. Colomb. Obstet. Ginecol.* **53**, 263–278 (2002).
34. Sakumoto Tetsurou, Yoshimitsu Tokunaga, Yoko Terada, Hideaki Tanaka, Makoto Nohara, Aritoshi Nakazaka and Masahiro Higashi. Implications of Insulin Resistance/Hyperinsulinemia on Reproductive Function in Infertile Women with Polycystic Ovary Syndrome, Dr. Srabani Mukherjee (Ed.), ISBN: 978-953-51-0094-2, *InTech* (2012). Recuperado el 10 de Abril de 2014, de <<http://www.intechopen.com/books/polycystic-ovary-syndrome/implications-of-insulin-resistance-hyperinsulinemia-on-reproductive-function-in-infertile-women-with>>.
35. Silva, R. Síndrome de ovario poliquístico e infertilidad. *Clínica Las Condes* (3 de Mayo de 2010). Recuperado el 14 de Abril de 2014, de <<http://www.clc.cl/DOCENCIA/Revista-Medica/Revista-Medica/Volumen-21-Mayo.aspx>>.
36. Stadtmauer, L. A., Wong, B. C. & Oehninger, S. Should patients with polycystic ovary syndrome be treated with metformin? Benefits of insulin sensitizing drugs in polycystic ovary syndrome--beyond ovulation induction. *Hum. Reprod. Oxf. Engl.* **17**, 3016–3026 (2002).
37. Tso, L. O. The use of metformin in assisted reproductive techniques for polycystic ovary syndrome patients. *Middle East Fertil. Soc. J.* **15**, 243–244 (2010).
38. Tso, L. O., Costello, M. F., Albuquerque, L. E., Andriolo, R. B. & Freitas, V. Metformin treatment before and during IVF or ICSI in women with polycystic ovary syndrome. *Cochrane Database Syst. Rev.* CD006105 (2009). doi:10.1002/14651858.CD006105.pub2.
39. Urbina, M. T. & Biber, J. L. Fertilidad y Reproducción Asistida. *Ed. Médica Panamericana* (2008).
40. Valbuena D, Martin J, De Pablo JL, Remohi J, Pellicer A, Simon C. Increasing levels of estradiol are deleterious to embryonic implantation because they directly affect the embryo. *Fertil Steril.* **76**: 962-8 (2001).

41. Velando, E. & Ernesto, L. Estimulación ovárica en reproducción asistida. *Rev. Peru. Ginecol. Obstet.* **58**, 191–200 (2012).
42. Willis, D. S. *et al.* Premature response to luteinizing hormone of granulosa cells from anovulatory women with polycystic ovary syndrome: relevance to mechanism of anovulation. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **83**, 3984–3991 (1998).