



Efecto de diferentes concentraciones de propofol en los resultados reproductivos en pacientes tratadas con la técnica de inyección intracitoplasmática de espermatozoides

Zitta, Marcela Marta.

Aprobada: 2018

Tesis-Doctor en Medicina y Cirugía-Universidad Nacional de Córdoba. Facultad de Ciencias Médicas

Este documento está disponible para su consulta y descarga en RDU (Repositorio Digital de la Universidad Nacional de Córdoba). El mismo almacena, organiza, preserva, provee acceso libre y da visibilidad a nivel nacional e internacional a la producción científica, académica y cultural en formato digital, generada por los miembros de la Universidad Nacional de Córdoba. Para más información, visite el sitio <https://rdu.unc.edu.ar/>

Esta iniciativa está a cargo de la OCA (Oficina de Conocimiento Abierto), conjuntamente con la colaboración de la Prosecretaría de Informática de la Universidad Nacional de Córdoba y los Nodos OCA. Para más información, visite el sitio <http://oca.unc.edu.ar/>

Esta obra se encuentra protegida por una Licencia Creative Commons 4.0 Internacional



Efecto de diferentes concentraciones de propofol en los resultados reproductivos en pacientes tratadas con la técnica de inyección intracitoplasmática de espermatozoides por Zitta, Marcela Marta se distribuye bajo una [Licencia Creative Commons Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

UNIVERSIDAD NACIONAL CÓRDOBA

FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS

**“EFECTO DE DIFERENTES CONCENTRACIONES
DE PROPOFOL EN LOS RESULTADOS
REPRODUCTIVOS EN PACIENTES TRATADAS
CON LA TECNICA DE INYECCION
INTRACITOPLASMATICA DE ESPERMATOZOIDES”**

**Trabajo para optar al título de Doctor en Medicina y
Cirugía**

Médica Marcela Marta Zitta

CÓRDOBA

REPÚBLICA ARGENTINA

2018

COMISIÓN DE TESIS:

DIRECTOR: Prof. Dr. Carlos López

INTEGRANTES: Prof. Dra. Ana Carolina Martini

Prof. Dr. Guillermo Roberto Santiago

Artículo 30:

La Facultad de Ciencias Médicas no se hace solidaria con las opiniones de esta Tesis.

AGRADECIMIENTOS

Al Prof. Dr. Carlos López y a la Prof. Dra. Ana Carolina Martini, por el asesoramiento científico, al especialista en Andrología Dr. Conrado Avendaño y a los biólogos Ariela Mata, Iván Anduaga y Marcela Cullere por su contribución en el análisis de calidad ovocitaria y desarrollo embrionario; al ginecólogo Pablo Ávalos por su apoyo en la recolección de datos y a todo el personal de NASCENTIS por su apoyo. Una mención especial a mi esposo que contribuyó a la idea y realización de esta Tesis.

INDICE

	Pág.
RESUMEN	6
SUMMARY	8
INTRODUCCIÓN	10
Hipótesis	21
Objetivo Primario	21
Objetivos Secundarios	21
MATERIAL Y MÉTODOS	22
a. Población	22
b. Metodología	23
c. Análisis estadístico	29
RESULTADOS	30
DISCUSIÓN	39
CONCLUSIONES	49
BIBLIOGRAFÍA	50
ANEXOS (antecedentes sobre el Trabajo de Tesis)	62

RESUMEN

Introducción. Una de las etapas fundamentales en los procedimientos de reproducción asistida de alta complejidad es la de la aspiración folicular, por la vía transvaginal bajo guía ecográfica, procedimiento seguro, poco invasivo, con pocas complicaciones y rápida recuperación postoperatoria. Considerando las drogas empleadas en esta técnica, estudios en fertilización *in vitro* en animales y humanos no han revelado efectos deletéreos con el uso de fentanilo y midazolam. En cambio, el empleo de propofol como anestésico es un tema de debate y controversia. **Objetivo.** Evaluar si la disminución de la dosis y tiempo de exposición al propofol afecta la calidad embrionaria y las tasas de embarazo en el procedimiento de ICSI (Inyección Intracitoplasmática de Espermatozoides), sin alterar la calidad anestésica. **Diseño.** Estudio clínico prospectivo, randomizado, doble ciego. **Materiales y Métodos.** Se incluyeron 231 pacientes a las que se les realizó anestesia con propofol para la aspiración folicular, las cuales fueron randomizadas en 2 grupos. Grupo A: Recibieron Midazolam 0,015 mg/kg endovenoso (EV), Fentanilo 1 ug/kg EV y Propofol 2 mg/kg EV (Altas dosis de propofol), y Grupo B: Midazolam 0,05 mg/kg EV, Fentanilo 1,5 ug/kg EV y Propofol 1,5 mg/kg EV (Bajas dosis de propofol). A continuación, se realizó el mantenimiento con bolos intermitentes de propofol según necesidad a una dosis promedio de 0,5 mg/kg a 0,75 mg/kg EV para ambos grupos. Se evaluaron efectos hemodinámicos (tensión arterial sistólica, diastólica y media), respiratorios (saturación de oxígeno y frecuencia respiratoria) y neurológicos (somnolencia) antes, durante y después de la anestesia y la calidad de la misma. Se analizaron los efectos sobre los ovocitos, desarrollo embrionario y tasa de embarazo. **Resultados.** Los grupos fueron homogéneos en aspectos demográficos e indicación del ICSI y no se hallaron diferencias significativas en los patrones hemodinámicos. El tiempo transcurrido entre la administración del propofol y la aspiración del primer folículo fue

significativamente menor en el grupo de baja dosis. También lo fue la dosis media de propofol empleada (grupo A: 212,6 mg \pm 69,4 y grupo B: 191,7 \pm 71,7). La calidad anestésica fue muy satisfactoria en ambos grupos. La media de ovocitos metafase II (MII) y la calidad embrionaria fue similar en ambos grupos. La tasa de embarazo clínico en el grupo A fue de 17% y en el grupo B de 38%, diferencia que fue estadísticamente significativa. **Conclusión.** Los mencionados resultados permiten concluir que el uso de propofol a bajas dosis podría considerarse para su uso rutinario en el procedimiento de ICSI ya que no genera repercusiones a nivel hemodinámico y respiratorio ni afecta las calidades anestésica, analgésica y embrionaria, con la consiguiente menor exposición del ovocito a este agente anestésico; observándose un efecto positivo sobre el éxito reproductivo al aumentar las tasas de embarazo clínico.

Palabras clave. Propofol / dosis de propofol/ punción folicular / ovocito / fertilización *in vitro* / embarazo.

SUMMARY

Introduction. One of the fundamental stages in the procedures of assisted reproduction of high complexity is that of follicular aspiration, by the transvaginal route under ultrasound guidance, safe procedure, less invasive, fewer complications and rapid postoperative recovery. Considering the drugs used in this technique, in vitro fertilization studies in animals and humans have not revealed deleterious effects with the use of fentanyl and midazolam. On the other hand, the use of propofol as an anesthetic is a subject of debate and controversy. **Objective.** To assess whether decreasing the dose and time of exposure to propofol affects embryo quality and pregnancy rates in the ICSI (Intracytoplasmic Sperm Injection) procedure, without altering anaesthetic quality. **Design.** Prospective, randomized, double-blind clinical study. **Materials and methods.** We included 231 patients who underwent anesthesia with propofol for follicular aspiration, which were randomized into 2 groups. Group A: Midazolam 0.015 mg / kg intravenous (IV), Fentanyl 1 ug / kg IV and Propofol 2 mg / kg IV (High doses of propofol), and Group B: Midazolam 0.05 mg / kg IV, Fentanyl 1.5 ug / kg IV and Propofol 1,5 mg/ kg IV (Low doses of propofol). Next, maintenance was performed with intermittent boluses of propofol as needed at an average dose of 0.5 mg / kg to 0.75 mg / kg IV for both groups. Hemodynamic effects (systolic, diastolic and mean blood pressure), respiratory (oxygen saturation and respiratory rate) and neurological (sleepiness) effects before, during and after anesthesia and its quality were evaluated. The effects on oocytes, embryonic development and pregnancy rate were analyzed. **Results** The groups were homogeneous in demographic aspects and ICSI indication and no significant differences were found in the hemodynamic patterns. The time between propofol administration and first follicle was

significantly shorter in the low-dose group. So was the mean dose of propofol used (group A: 212.6 mg \pm 69.4 and group B 191.7 \pm 71.7). The anesthetic quality was very satisfactory in both groups. Mean MII oocytes and embryo quality were similar in both groups. The clinical pregnancy rate in group A was 17% and in group B 38%, which was significant. **Conclusion.** These results conclude that the use of low dose propofol could be considered for routine use in the ICSI procedure since it does not generate repercussions at hemodynamic and respiratory levels, doesn't affect the anaesthetic, analgesic or embryo quality, with the consequent lower exposure of the oocyte to this anaesthetic agent; with a positive effect on reproductive success by increasing clinical pregnancy rates.

Keywords. Propofol / dose of propofol / follicular puncture / oocyte / *in vitro* fertilization / pregnancy.

INTRODUCCIÓN

Desde el primer bebé nacido en 1978, Louise Brown, por tratamiento de reproducción asistida de alta complejidad, han surgido grandes controversias en ámbitos científicos, éticos y psicológicos en torno al empleo de esta técnica (1).

Con un estimado de 15 a 20 nacidos vivos a través de estos tratamientos en todo el mundo en el año 1981, estos procedimientos se han incrementado notablemente a los largo de los años. Sobre un total de 208.604 ciclos de tratamiento de fertilización asistida realizados en 2014 en Estados Unidos solamente resultaron 70.354 nacidos vivos (1). Las tasas de embarazo reportadas por la Red Latinoamericana de Reproducción Asistida (Red LARA) que involucra a quince países de Latinoamérica, reportó para el mismo año 38.086 ciclos de tratamientos de fertilización asistida (29.935 de ICSI), con 7.265 nacidos vivos. Solamente en Argentina para el año 2014 se reportaron 9.083 ciclos de fertilización asistida (2) (Tabla I).

El procedimiento de reproducción asistida de alta complejidad consta de varias etapas. Una de ellas es la estimulación ovárica controlada que tiene como objetivo inducir el desarrollo de múltiples folículos y de éstos, obtener ovocitos maduros capaces de ser fertilizados, generar embriones para ser transferidos al útero materno y lograr su implantación con el consiguiente embarazo evolutivo (3). Para ello se pueden utilizar protocolos de estimulación ovárica con agonistas o antagonistas de la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) asociados a gonadotropinas urinarias o recombinantes. La mujer inicia el tercer día del ciclo menstrual la colocación de las mismas en forma de inyecciones subcutáneas en la región abdominal. El objetivo es el reclutamiento, selección y crecimiento folicular (Figura 1).

Tabla I. Registro del número de ciclos de reproducción asistida de alta complejidad durante el año 2014. Incluye países que forman parte de la Red Latinoamericana de Reproducción Asistida.

País	Número de Clínicas	FIV/ICSI ^a	FIV ^b	ICSI ^b
Argentina	24	9.083	954	7.215
Bolivia	3	430	221	195
Brasil	54	16.474	878	14.473
Chile	9	2.111	124	1.792
Colombia	11	1.196	357	753
Ecuador	6	663	181	398
Guatemala	1	103	60	42
México	31	4.862	1.390	3.205
Nicaragua	1	98	17	68
Panamá	1	239	0	196
Paraguay	1	75	37	25
Perú	7	1.286	443	755
R. Dominicana	1	30	11	19
Uruguay	2	317	30	238
Venezuela	7	1.119	385	561
TOTAL	159	38.086	5.088	29.935

Referencias. Número de clínicas: total de clínicas presentes en cada país que realizan tratamientos de reproducción asistida de alta complejidad.

FIV/ICSI^a: número de ciclos iniciados de reproducción asistida: Fertilización *In vitro* (FIV) e Inyección Intracitoplasmática de Espermatozoides (ICSI).

FIV^b: tratamientos de FIV realizados en cada país durante el año 2014, con recuperación de ovocitos en número ≥ 1 ovocito maduro.

ICSI^b: tratamientos de ICSI realizados en cada país durante el año 2014, con recuperación de ovocitos en número ≥ 1 ovocito maduro.

Al cabo de 8 a 10 días promedio de estimulación ovárica, ante la presencia de folículos en desarrollo con un tamaño que supere los 17 milímetros, se induce la maduración ovocitaria con gonadotrofina coriónica humana urinaria o recombinante (hCG); a las 34-36 horas se procede a la aspiración folicular bajo sedoanalgesia profunda (cuidados anestésicos monitorizados (CAM)), por vía transvaginal, y la obtención de ovocitos (4-5). La técnica de aspiración folicular vía transvaginal ofrece las siguientes ventajas: la distancia hasta los folículos es corta lo que facilita su localización; no se produce daño en la piel; no requiere hospitalización; se necesita poco personal para llevarla a cabo; el aprendizaje es rápido y relativamente sencillo y es menos costosa que otras técnicas (5).

El equipo necesario para la punción folicular es un equipo de ecografía con sonda transvaginal y una bomba de vacío que proporciona presión negativa de 120 a 140 mmHg. La misma, va conectada a un tubo de polietileno por medio de un catéter de teflón de 50 cm, adaptado a una cánula que acaba en un tapón de silicona que cierra el tubo. Otra cánula insertada en el tapón sirve para conectar otro tubo flexible de teflón con la aguja de punción. La aguja de punción que se utiliza mide aproximadamente 35 cm y 17G con bisel, y debe estar fija al transductor ecográfico por medio de una guía de punción (Figura 2A).

Una vez en el laboratorio, la calidad de los ovocitos aspirados se evalúa en base al aspecto de las células del cúmulus (corona radiada).

En los tratamientos de fertilización asistida, el gameto femenino (ovocito) juega un papel crucial en el desarrollo y competencia embrionaria. La calidad ovocitaria está influenciada por el genoma nuclear y mitocondrial además del microambiente ovárico y del folículo preovulatorio, que influyen en la transcripción y maduración ovocitaria (6).

La maduración citoplasmática y nuclear del ovocito son condiciones necesarias para una buena y exitosa fertilización. Un ovocito maduro ideal es aquel que presenta apariencia citoplasmática normal, un cuerpo polar único y una zona pelúcida normal en cuanto a su espesor y espacio perivitelino (7) (Figura 2B).

La presencia del primer cuerpo polar es normalmente considerada como marcador de maduración nuclear ovocitaria. Sin embargo, la evaluación de maduración citoplasmática ovocitaria aún no está definida con criterios estrictos. Para ello se evalúan ciertas características morfológicas normales previa remoción de la corona radiada como ser: ausencia de vacuolas intracitoplasmáticas y granularidad citoplasmática normal.

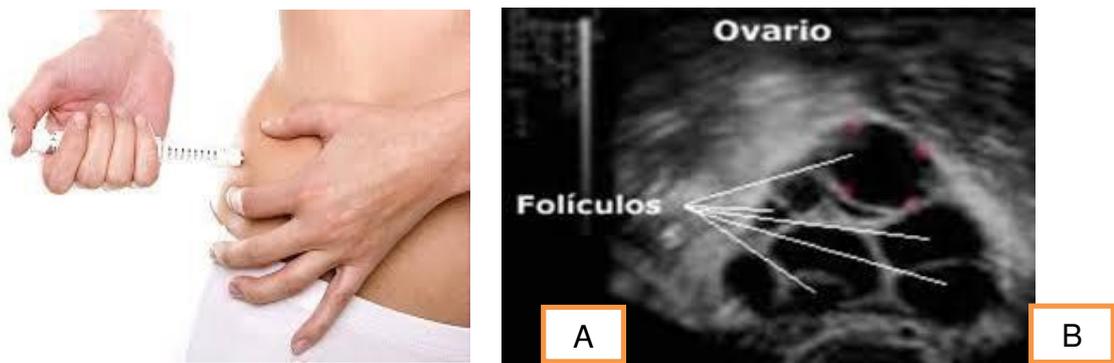


Figura 1- A- Colocación de hormonas en forma de inyecciones subcutáneas en abdomen.
B- Imagen donde se observa el ovario con múltiples folículos en crecimiento.

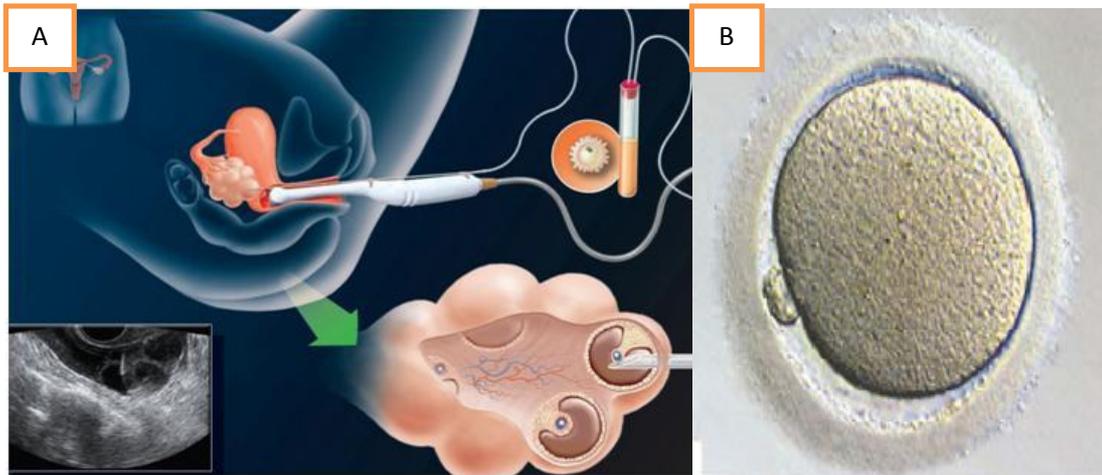


Figura 2- A- Procedimiento de aspiración folicular por vía transvaginal bajo sedoanalgesia.
B- Ovocito maduro desnudo previo a ser inyectado con la técnica de ICSI.

La calidad ovocitaria también depende de los protocolos de estimulación ovárica controlada empleados. Evidencias clínicas sugieren que la excesiva estimulación ovárica, puede provocar efectos perjudiciales en la calidad ovocitaria (8-10).

Si se reduce la duración y la intensidad de la intervención farmacológica (dosis de gonadotrofinas utilizadas para la estimulación ovárica), se favorece una selección más natural de los folículos y una mejoría en la calidad ovocitaria, atribuidas quizás a una segregación cromosómica más fisiológica durante la meiosis ovocitaria (11).

También se ha visto que la calidad ovocitaria puede verse afectada por alteraciones en la vascularización perifolicular, lo que puede inducir defectos citoplasmáticos ovocitarios, tasa de fertilización reducida y embriones con multinucleación de sus blastómeras (12-14).

Los ovocitos maduros o en Metafase II (MII) quedan bloqueados en esta etapa de la división meiótica. Luego de la entrada espermática, se reactiva y completa la segunda división meiótica. En estadio MII, los cromosomas están alineados en la región ecuatorial del huso meiótico. Sus microtúbulos son

responsables de la segregación cromosómica y éstos, son altamente sensibles a cambios físicos y químicos (15-19). Otro factor que puede afectar la estructura de los microtúbulos del huso meiótico es la edad materna avanzada (19).

La inyección intracitoplasmática de espermatozoides o ICSI (del inglés Intracytoplasmic Sperm Injection) es una técnica de reproducción asistida de alta complejidad que consiste en la fecundación de ovocitos MII por inyección de espermatozoides previamente capacitados (Figura 3A).

Luego de la fusión espermatozoide-ovocito y la activación ovocitaria, se conforman los pronúcleos femenino y masculino con su gradual migración a la posición central del ovocito y la extrusión del segundo cuerpo polar. Así queda constituido el cigoto u ovocito bipronucleado; su denominación se debe a la presencia de los pronúcleos materno y paterno (20). Por lo tanto, a las 16-18 horas postinyección, se evalúa la fertilización normal (presencia de ovocitos bipronucleados) (Figura 3B).

Aproximadamente doce horas después de la visualización de los pronúcleos va a ocurrir la primera división celular también denominada clivaje. El embrión parece actuar en forma autónoma, dirigido por un reloj interno denominado ciclo celular. Este ciclo está regulado en tres puntos: en el período de inicio, llamado G1 (ocurre la síntesis y transcripción del ARN), en el período S (síntesis de ADN) y en el periodo M (mitosis) (21-22). Por lo tanto, el cigoto va a dividirse en dos células llamadas blastómeras y cada una de ellas se dividirá a su vez siguiendo el mismo mecanismo de división celular. Así, a las 48 horas de vida se puede observar un embrión de dos a cuatro blastómeras, también llamado embrión en Día+2 y luego de seis a ocho blastómeras, a las 72 horas embrión en Día+3 (5) (Figura 4).



Figura 3- A- Procedimiento de ICSI, Se observa la penetración de la pipeta hasta el centro del ovocito donde el espermatozoide es expulsado hacia el interior del citoplasma ovocitario.
B- Cigoto u ovocito bipronucleado con dos cuerpos polares. Modificado de Palermo GP y col. *Textbook of Assisted Reproductive technologies. Laboratory and clinical perspectives. 5th edition.2018.*

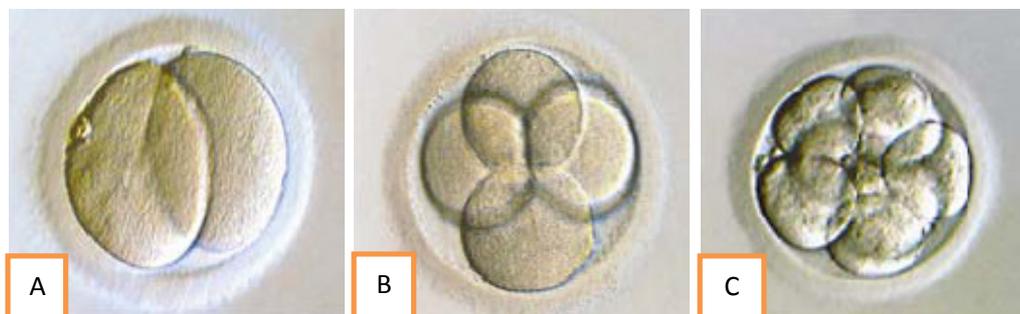


Figura 4- A- Embrión de dos blastómeras a las 48 horas. **B-** Embrión de cuatro blastómeras generados por ICSI, a las 48 horas. Se observan blastómeras simétricas; fue transferido y logró implantación embrionaria. **C-** Embrión de 8 blastómeras simétricas, a las 72 horas de desarrollo. Modificado de Palermo GP y col. *Textbook of Assisted Reproductive technologies. Laboratory and clinical perspectives. 5th edition.2018.*

La selección de embriones humanos con alto poder de implantación es de fundamental importancia en los procedimientos de fertilización asistida. La evaluación morfológica, con el empleo de microscopía óptica, sigue siendo un método de rutina para evaluar la calidad embrionaria. Existen muchos sistemas de clasificación embrionaria a nivel mundial (Giorgetti, Veeck, Fisch, de Placido, Baczkowski, Rienzi, Torelló, Holte), basados en la morfología embrionaria (23-30). Estos sistemas de clasificación se basan en la evaluación del número de blastómeras y el grado de fragmentación que se entiende como la extrusión de componentes citoplasmáticos anucleares derivados de las blastómeras al dividirse, y se realiza a las 48-72 horas (Figura 5).



Figura 5- Embrión de 6 blastómeras con 30-40% de fragmentación, generado por ICSI. Modificado de Palermo GP y col. *Textbook of Assisted Reproductive technologies. Laboratory and clinical perspectives. 5th edition.2018.*

Se ha demostrado que un alto grado de fragmentación embrionaria se correlaciona negativamente en las tasas de implantación y tasas de embarazo (31-32).

La transferencia se realiza entre el 2° o 3° día según la calidad embrionaria. Se efectúa además suplementación de “fase lútea” en la mujer, con progesterona micronizada 600 mg/día desde el día de la aspiración folicular. Este esquema se mantiene los primeros 14 días postransferencia, momento en el cual se realiza un dosaje de hCG sanguíneo como prueba de embarazo. En caso de obtener un resultado positivo, se solicita a las dos semanas ecografía transvaginal para valorar vitalidad embrionaria con latidos cardíacos positivos (lo que evidencia embarazo clínico evolutivo) (4-5). El soporte de fase lútea se continúa hasta las 12 semanas de gestación.

Una de las etapas fundamentales en los procedimientos de reproducción asistida de alta complejidad es la de la aspiración folicular. El reemplazo de la aspiración folicular vía laparoscópica por la vía transvaginal (bajo guía ecográfica), ha permitido que este procedimiento sea para la paciente menos invasivo, seguro, con menos complicaciones y con rápida recuperación postoperatoria (33-39).

Este es un procedimiento de corta duración y puede realizarse bajo sedoanalgesia (CAM), anestesia local (bloqueo paracervical) o anestesia general. Debido a sus propiedades farmacocinéticas y farmacodinámicas (profundidad anestésica, rápida recuperación, ausencia de efectos residuales y función antiemética), la combinación de propofol (2,6-diisopropylphenol) con fentanilo y midazolam es la estrategia más utilizada en los programas de fertilización asistida de alta complejidad (40-47).

Se ha visto que los agentes anestésicos empleados en estos procedimientos, son detectados en el líquido folicular y se ha sugerido que estas drogas podrían tener efectos adversos en la fertilización y/o en el desarrollo embrionario, dando como consecuencia, menores tasas de embarazo (48). Otros estudios no han demostrado alteraciones en los resultados de ICSI con el empleo de opioides, como el fentanilo y remifentanilo (49). Por ejemplo, Bruce y cols. encontraron que el empleo de fentanilo no afecta la tasa

de fertilización, ni la división celular (50). Shapira y cols., reportaron baja acumulación y concentración de alfentanilo en el líquido folicular (51).

Midazolam es la benzodiazepina mayormente empleada en los procedimientos de fertilización asistida. Aunque se puede encontrar una mínima cantidad de esta droga en el líquido folicular, no se ha demostrado que ejerza efectos deletéreos sobre los ovocitos (52). Swanson y Leavitt, describen que la administración de midazolam en fase preovulatoria a ratones, no altera la fertilización ni el desarrollo embrionario (tanto *in vivo* como en procedimientos *in vitro*), aún con el empleo de dosis 500 veces mayores a las empleadas clínicamente (53).

Propofol es un anestésico intravenoso sin relación química con otros anestésicos conocidos, con menores efectos excitatorios. El mismo es un agente altamente lipofílico, que posee un rápido inicio de acción (30 a 60 segundos) y corta duración (3 a 10 minutos) debido a la rápida penetración de la barrera hematoencefálica y distribución en el sistema nervioso central (SNC) (Vida $\frac{1}{2} \alpha$:

4,8 minutos). Además, se metaboliza rápidamente (30 a 40 minutos; Vida $\frac{1}{2} \beta$: 200 minutos), por lo cual es empleado en la inducción y mantenimiento de la anestesia (en infusión continua o bolos intermitentes) (24, 41, 42, 54-56). La dosis estándar para inducción en el adulto son de 2 a 2,5 mg/kg y la de mantenimiento de 6 a 12 mg/kg/hora, y esta última varía en función del empleo de otras drogas asociadas. El metabolismo es hepático y en otros tejidos (principalmente pulmonar) y su excreción es renal (43-47,54-57).

El mecanismo de acción del propofol es poco conocido como ocurre con la mayoría de los anestésicos. En diferentes publicaciones se refieren a inhibición de la neurotransmisión excitatoria polisináptica a nivel cerebral y medular, lo cual estaría mediado por bloqueo del receptor N-methyl-D-aspartato (NMDA) y potenciación de la acción inhibitoria del ácido gamma-aminobutírico (GABA), interaccionando con un sitio alostérico para anestésicos generales en el receptor GABA_A y facilitando así la apertura del canal de Cl⁻. Sus reacciones

adversas medicamentosas son apnea corta (menor a 60 segundos), bradicardia central, disminución de tensión arterial sistólica en 10 a 15% y diastólica en menor cuantía, tromboflebitis en venas pequeñas y depresión del SNC asociado a otros depresores del mismo. Es muy empleado en procedimientos ambulatorios incluyendo la recuperación ovocitaria debido al control rápido y fácil de la profundidad anestésica, a la rápida recuperación (efecto acumulativo mínimo), a la ausencia de efectos residuales anestésicos y a su acción antiemética demostrada por acción sobre receptores serotoninérgicos (41-43,57-68).

Como se ha explicado anteriormente, de las tres drogas antes mencionadas que se combinan para la anestesia en estos pacientes, tanto el midazolam como el fentanilo no han mostrado efectos deletéreos, ni en animales ni en humanos, en estudios de fertilización *in vitro* (69-71).

Con respecto al propofol, existen estudios en animales que muestran una significativa reducción de la tasa de maduración ovocitaria, incremento de la activación partenogénica (desarrollo de un embrión a partir de un gameto femenino sin contribución del gameto masculino, donde se produce la reactivación de la meiosis del ovocito sin la fusión espermática) (72-73). Además, un impacto negativo en la tasa de fertilización y una disminución del clivaje embrionario cuando se incubaron ovocitos en medios con dosis altas de este anestésico (74). Otros estudios no muestran efectos deletéreos de esta droga cuando se emplea en procedimientos de fertilización *in vitro* (75).

En humanos se ha demostrado que el uso del propofol durante la anestesia resulta en un significativo aumento de este agente en el fluido folicular, por lo que se ha propuesto que su utilización en los procedimientos de reproducción asistida de alta complejidad podría provocar efectos dañinos sobre los ovocitos y, en consecuencia, disminuiría las probabilidades de embarazo. Sin embargo esto podría evitarse con la modificación de la dosis y el tiempo de exposición del propofol administrado (75-77).

HIPOTESIS

El empleo de menores dosis y menor tiempo de exposición a propofol en procedimientos de fertilización asistida de alta complejidad podría mejorar la fertilización ovocitaria y el desarrollo embrionario y con ello, aumentar las tasas de embarazo.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar si la disminución de la dosis y tiempo de exposición al propofol afecta la calidad embrionaria y las tasas de embarazo en el procedimiento de ICSI, sin alterar la calidad anestésica.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Evaluar en pacientes tratadas con dos protocolos diferentes de administración de propofol, los siguientes parámetros reproductivos: número de ovocitos MII recuperados, tasa de fertilización ovocitaria, calidad embrionaria y tasa de embarazo clínico.
- Cuantificar la incidencia de abortos espontáneos y embarazos ectópicos.
- Valorar clínicamente los efectos hemodinámicos y respiratorios en el perioperatorio inmediato, y los efectos tóxicos sistémicos cardiovasculares y neurológicos en el per y postoperatorio inmediato, según las dosis de las drogas anestésicas empleadas.

- Cuantificar la incidencia de reacciones adversas por el empleo de las drogas utilizadas.
- Evaluar la calidad y eficacia de la anestesia y analgesia.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para la evaluación del presente estudio se siguieron los lineamientos de la declaración de Helsinki (Finlandia) de la Asociación Médica Mundial (1964); revisada y enmendada por la 64^a Asamblea General, Fortaleza, Brasil, 2013 (78).

El protocolo fue aprobado por el Comité Institucional de Ética de la Investigación en Salud (CIEIS) del Hospital Universitario de Maternidad y Neonatología de la ciudad de Córdoba y se realizó en el Centro Médico Nascentis: Especialistas en Fertilidad, (Montevideo 539, Guemes, Córdoba) con autorización del mismo para su desarrollo.

a. Población

Se estudiaron 231 pacientes randomizadas a doble ciego divididas en dos grupos: Grupo A: propofol a dosis standard (n= 106) y Grupo B: propofol a dosis reducida (n=125).

Criterios de Exclusión: se excluyeron de este trabajo los siguientes pacientes:

- Menores de 18 años y mayores de 35 años.
- Pacientes con intolerancia a las drogas empleadas en este estudio.
- Pacientes tratadas con opiáceos y/o otros depresores del SNC por vía sistémica.

- Pacientes con cualquier otra patología que imposibilitara la correcta valoración de los efectos clínicos y de las reacciones adversas de los anestésicos.
- Pacientes con menos de 4 ovocitos recuperados durante el procedimiento de aspiración folicular.

Criterios de inclusión: todas las pacientes candidatas a ICSI que no estuvieran englobadas dentro de los criterios de exclusión.

Se evaluaron los datos demográficos y antropométricos y la indicación de ICSI: factor andrológico, factor tubario, ovárico, esterilidad sin causa aparente (ESCA) y endometriosis.

b. Metodología

Estudio de investigación clínica estadístico-prospectivo, abierto a doble ciego; con incorporación de pacientes al azar. La misma fue realizada por una tercera persona que sorteó el método de anestesia (elección de un sobre cerrado dentro del cual se hallaba una letra: A correspondiente a dosis convencional de propofol o B correspondiente a bajas dosis de propofol).

Se obtuvo el consentimiento informado de la paciente con firma de testigo previa explicación de la técnica a implementar.

Estimulación ovárica: todas las pacientes recibieron tratamiento de estimulación ovárica para lograr la obtención de múltiples folículos. La estimulación ovárica controlada consistió en el empleo de: gonadotrofinas recombinantes FSHr (Gonal F™) colocadas durante tres días, seguidas de gonadotrofinas urinarias FSH + LH (Menopur™) a dosis de 225 -300 UI/día. El empleo de gonadotrofinas se da con el objetivo de reclutar, seleccionar folículos y estimular el crecimiento de un número mayor de folículos. La administración de un antagonista de hormona liberadora de gonadotrofina: Cetorelix (Cetrotide™) 0,25 mg/diario, subcutáneo, se inició al sexto día de la estimulación ovárica o ante folículos con tamaño ≥ 14 mm. El objetivo de su administración fue evitar el pico prematuro de LH que puede inducir una

ovulación prematura, así como un ascenso preovulatorio de progesterona con un consecuente efecto deletéreo para el ovocito, embrión y/o endometrio. La administración de gonadotrofinas y del antagonista de GnRH fue discontinuada el día de la administración de hCG. La gonadotrofina coriónica humana recombinante (Ovidrel™) se administró con el objetivo de inducir la maduración final de los ovocitos. Luego de 36 horas de la inyección de hCG se realizó el procedimiento de aspiración folicular por vía transvaginal. Se empleó para la aspiración folicular un set de aspiración con aguja de 17 Gauge (ART of CCD needle de Laboratoire CCD, France).

En ambos grupos, las drogas y dosis utilizadas para la inducción anestésica fueron:

Premedicación antiemética: Metoclopramida 10 mg (EV)

Grupo A: Midazolam 0,015 mg/kg (EV), Fentanilo 1 ug/kg (EV) y Propofol 2 mg/kg (EV).

Grupo B: Midazolam 0,05 mg/kg (EV), Fentanilo 1,5 ug/kg (EV) y Propofol 1,5 mg/kg (EV).

A continuación, se realizó el mantenimiento con bolos intermitentes de propofol según necesidad a una dosis promedio de 0,5 mg/kg a 0,75 mg/kg EV.

Requisitos preoperatorios

A todas las pacientes incluidas en el estudio se les realizó una evaluación clínico-anestésica completa previa al acto operatorio y con prequirúrgico completo, según normas del Centro Médico. Se abordó una vena del antebrazo con cánula 20 G para infusión de soluciones parenterales y vía accesible en sala. Ingresaron a quirófano con la medicación previa antiemética. Se valoraron los signos vitales (SV): frecuencia cardíaca (FC); tensión arterial sistólica (TAS); diastólica (TAD) y media (TAM) mediante monitoreo automático no invasivo, frecuencia respiratoria (FR); saturación de O₂ por pulsioximetría (SATO₂) y monitoreo cardíaco intraoperatorio por cardioscopía.

Procedimiento anestésico

A continuación se realizó la administración de midazolam y fentanilo y se esperaron 3 minutos. En el grupo A, al cabo de ese tiempo, se administró propofol hasta las dosis establecidas y a continuación se posicionó la paciente en litotomía y se dio lugar a la antisepsia y aspiración folicular. En el grupo B, en cambio, se posicionó a la paciente en litotomía, antisepsia genital y la administración de propofol se realizó previa a la aspiración folicular.

Control intraoperatorio

Se controlaron los SV al inicio del procedimiento, a los 10 minutos y al finalizar el procedimiento.

Se administró O₂ a flujo medio (6 a 8 litros/minuto) con máscara facial transparente y bolsa reservorio, mientras la paciente ventilaba espontáneamente.

Se realizó carga de Ketorolac (Dolgen™) 60 mg EV como analgesia perioperatoria al iniciar punción folicular del segundo ovario. Al finalizar la intervención se administró cefazolina 1 gr EV como antibiótico-profilaxis.

Se determinaron los tiempos desde la primera inyección de propofol hasta la aspiración del primer y último folículo. Además, se determinó la dosis total de propofol administrado por grupo en mg.

Se evaluaron tiempos quirúrgicos (tiempo comprendido desde la aspiración del primer al último folículo) y anestésicos (tiempo desde la administración del propofol hasta el despertar de la paciente), actividad ventilatoria, hemodinamia, y estado neurológico.

Se evaluó la hemodinamia de la paciente mediante: FC, TAS, TAD, FR, SATO₂, y nivel de conciencia, utilizándose cardioscopio, tensiómetro automático no invasivo y pulsioximetría. Se consideró bradicardia al descenso de FC por debajo de 60 por minuto (excepto deportista y/o vagotónica que fue de 50 por minuto) e hipotensión, al descenso de TAS a valores inferiores a 100 mmHg o al 30% de las cifras basales.

Se registró la presencia e incidencia de reacciones adversas a los fármacos y a la técnica (incluyendo síntomas neurológicos transitorios) durante el intraoperatorio y postoperatorio, hasta los 14 días del procedimiento.

Control postoperatorio

Desde la salida del quirófano y con la paciente en la sala de recuperación, se evaluaron los estados cardiovascular, neurológico, respiratorio, analgesia según Escala Visual Análoga (EVA) de 0 al 10 donde 0 es nada de dolor y 10 es el peor dolor posible y Escala de Aldrete Ambulatorio, con venoclisis (ver tabla anexo)(40,54).

Los niveles de satisfacción que valoran la calidad anestésica se evaluaron a través de una escala de Likert que constó de 5 cinco niveles: muy insatisfecho, insatisfecho, indeciso, satisfecho, muy satisfecho.

Las pacientes se recuperaron en sala de recuperación con control de sus SV cada 15 min. Se realizó analgesia de rescate postoperatoria si la paciente refería EVA superior de 3, con morfina 3 mg EV titulable.

Luego, a los 45 minutos, se realizó tolerancia oral con infusión de té endulzado.

El alta médica se realizó en 2 horas, con una escala de Aldrete ambulatorio igual o superior a 18 sobre un puntaje total de 20 (40).

Proceso de obtención y lavado de ovocitos

Tras la punción folicular que se realizó en el quirófano, se trasladaron los tubos de punción con el líquido folicular al laboratorio de embriología. Una vez allí, se vertió el líquido folicular sobre placas de Petri precalentadas, buscando los ovocitos mediante inspección directa a través de estereomicroscopio–lupa con el objetivo de menor aumento. Una vez localizado cada uno de los ovocitos, se recogió el mismo y se lo colocó en placa de Petri. Al concluir la punción, se limpiaron los ovocitos con la ayuda de agujas y jeringas de tuberculina, quitando

el material oscuro de los cúmulos y los restos de sangre. Una vez limpios, se llevaron los ovocitos a placas de cultivo.

Sistema de cultivo

La colecta de los ovocitos se realizó en medio HTF Modificado suplementado al 10% con suero sintético sustituto (Irvine Scientific®). El cultivo de ovocitos y preembriones se realizó individualmente en gotas de 25 µl de medio SSM suplementado al 10% con suero sintético sustituto, bajo aceite para cultivo embrionario (Irvine Scientific®) en placas Falcon 3001, a 37°C y 5%CO₂.

Preparación del semen e inseminación

Durante el momento de la aspiración folicular, se recolectó una muestra fresca de semen que se procesó por la técnica de gradientes de densidad con Isolate (Irvine Scientific®).

Se efectuó la remoción del cúmulus del ovocito con hialuronidasa (Irvine Scientific®) entre tres y cuatro horas luego de la aspiración folicular. Los ovocitos MII se inyectaron a continuación, con un único espermatozoide y, 16 a 18 horas después, se evaluó la presencia de dos pronúcleos y dos cuerpos polares.

Fertilización y desarrollo embrionario

Se analizaron el número de ovocitos recuperados, ovocitos MII, tasa de fertilización normal (número de ovocitos con presencia de dos pronúcleos y dos cuerpos polares / el número total de ovocitos inyectados).

La calidad embrionaria se evaluó a las 48 y 72 horas del clivaje embrionario y se tomó en cuenta el número de células y porcentaje de fragmentación (79-80).

Se diseñó un índice o score de calidad embrionaria basado en la multiplicación de un índice celular y un índice de fragmentación que se detallan a continuación (Tabla II y III).

Tabla II. Índice celular

Índice celular	Día+ 2 Número de células	Día +3 Número de células
10	4	7-8
9	2-3	5-6-9
8	5-6	10-11-12
7	1	3-4

Representa un número que varía de 7 a 10 según el número de células que el embrión presente en Día+2 o Día+ 3 de desarrollo embrionario.

Tabla III. Índice de fragmentación celular

Índice de fragmentación celular	Porcentaje Fragmentación celular (%)
1	<10
2	10-20
3	>25

Representa un número que varía de 1 a 3 según el porcentaje de fragmentación celular que presente el embrión.

El índice de calidad embrionaria se obtuvo de la multiplicación del índice celular por el índice de fragmentación (rango 7-30). Un índice 7 representa el de menor calidad embrionaria o calidad subóptima, siendo un embrión con índice 30 aquel de mejor calidad (también llamado, de calidad óptima).

La transferencia se realizó a las 48 o 72 horas post inseminación en estadio embrionario Día+2 o Día+3. El soporte de fase lútea se realizó con la administración intravaginal de progesterona micronizada, 600 mgr/día, desde el día de punción folicular hasta el día de análisis de la subunidad beta de hCG

(43). A las dos semanas postransferencia, se realizó dosaje de hCG sanguíneo como evidencia de embarazo. En caso de resultado positivo se solicitó a los 14 días posteriores, ecografía transvaginal para valorar vitalidad embrionaria con latidos cardíacos positivos (evidencia de embarazo clínico evolutivo).

Se analizaron las tasas de embarazo clínico, porcentaje de abortos y de embarazos ectópicos.

c) Análisis Estadístico

Con la información recopilada en fichas de recolección, se creó una base de datos de tipo Excel que posteriormente sirvió para realizar los procedimientos estadísticos. Se calcularon los valores medios y desviación estándar (DS) de las variables continuas y los porcentajes de las variables categóricas. Para la comparación de medias por grupos se aplicó un T-Test de Student para muestras independientes, y en el caso de comparación de proporciones porcentuales por grupos, un test de Chi-cuadrado. El nivel de significancia utilizado fue $< 0,05$. Este análisis fue realizado usando SPSS software (versión 11.5).

RESULTADOS

Un total de 231 pacientes fueron sometidas al procedimiento de aspiración folicular bajo anestesia general con propofol: 106 pacientes en el grupo A (alta dosis de propofol) y 125 pacientes en el grupo B (baja dosis de propofol).

En el grupo A de un total de 109 pacientes, quedaron excluidas del trabajo 3 pacientes, 2 por riesgo de síndrome de hiperestimulación ovárica, en las que se congelaron embriones en estado de dos pronúcleos; y otra paciente en la que se aspiró un solo ovocito que no fertilizó.

No se hallaron diferencias significativas en cuanto a edad, peso y talla, entre ambos grupos, como así tampoco en la indicación de ICSI (Tabla IV y V).

Tabla IV. Valoración de datos demográficos de pacientes sometidas a aspiración folicular bajo anestesia con propofol a altas dosis (grupo A) versus propofol a bajas dosis (Grupo B).

Datos Demográficos	Grupo A (n=106)		Grupo B (n=125)		p
	Media	±DS	Media	±DS	

Edad (años)	30,9	4,1	29,9	4,8	0,142
Peso (Kg)	61,2	8,4	61,6	10,1	0,818
Altura (mts)	1,60	0,1	1,60	0,1	0,124
IMC (Kg/mts ²)	22,9	2,8	23,3	3,9	0,304

Referencias: IMC: Índice de Masa Corporal. Grupo A: dosis de propofol: 2mg/kg; Grupo B dosis de propofol 1,5 mg/kg. \pm DS: Desviación estándar.

Tabla V. Valoración de la indicación de ICSI de pacientes sometidas a aspiración folicular bajo anestesia con propofol a altas dosis (grupo A) versus propofol a bajas dosis (grupo B).

Indicación ICSI (%)	Grupo A (n=106)	Grupo B (n=125)	p
Factor andrológico	44	43	0,900
Factor tubario	10	13	0,203
Factor ovárico	19	19	0,713
ESCA	15	14	0,845
Endometriosis	12	11	0,854

Referencias: ESCA: Esterilidad Sin Causa Aparente. Grupo A: dosis de propofol: 2mg/kg; Grupo B dosis de propofol 1,5 mg/kg. Los resultados se expresan en porcentajes absolutos (%).

El tiempo transcurrido entre la administración del propofol y la aspiración del primer folículo fue estadísticamente menor en el grupo de baja dosis, como se aprecia en la tabla VI.

Tabla VI. Comparación intergrupala (Grupo A: altas dosis de propofol versus Grupo B: bajas dosis de propofol) de los tiempos anestésico, quirúrgico, desde administración de propofol hasta la aspiración del 1° folículo y tiempo desde la administración de propofol hasta la aspiración del último folículo.

Tiempos (minutos)	Grupo A (n=106)		Grupo B (n=125)		p
	Media	±DS	Media	±DS	
Anestésico	22,4	11	22	7,6	0,607
Quirúrgico	11,7	10,6	11	5,7	0,49
Administración de propofol hasta aspiración del primer folículo	4,3	5,7	3,2	3,6	<0,0001
Administración de propofol hasta aspiración del último folículo	14,6	7,5	14,7	8,6	0,665

Referencias: Grupo A: dosis de propofol 2 mg/kg; Grupo B: dosis de propofol 1,5 mg/kg. Tiempo Anestésico: tiempo expresado en minutos desde la administración del propofol hasta el despertar de la paciente. Tiempo quirúrgico: tiempo expresado en minutos desde la punción del primero hasta el último folículo. ± DS: Desviación estándar.

La dosis media de propofol empleada en el grupo A fue de 212,6 mg \pm 69,4 y de 191,7 \pm 71,7 para el grupo B, diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,005$).

No se hallaron diferencias intergrupo en la evaluación hemodinámica de las pacientes durante el procedimiento de aspiración folicular. (Tabla VII).

Tabla VII. Evaluación Hemodinámica antes de la administración de midazolam, a los 10 minutos de la administración de propofol y al despertar la paciente, durante el procedimiento de aspiración folicular con el empleo de diferentes dosis de propofol.

	Variables Hemodinámicas	Grupo A (n=106)		Grupo B (n=125)		p
		Media	\pm DS	Media	\pm DS	
Antes del Midazolam	TAS(mmHg)	109,2	16,1	110,5	10,8	0,5202
	TAD(mmHg)	66,2	8,5	67,1	7,5	0,4963
	FC(Lat/min)	84	13,0	86,3	13,8	0,2121
	FR (resp/min)	19,2	3,5	19,8	3,4	0,3836
	SAT0 ₂ (%)	98,9	8,7	99,7	0,8	0,1729
A los 10 minutos del propofol	TAS(mmHg)	97,5	10,8	99,0	11,5	0,2844
	TAD(mmHg)	61,0	8,3	62,7	9,3	0,5703
	FC(Lat/min)	74,5	10,0	76,2	11,1	0,4768
	FR (resp/min)	14,9	4,3	15,2	4,0	0,2935
	SAT0 ₂ (%)	99,1	8,2	99,6	2,4	0,8718
Al despertar	TAS(mmHg)	101,5	10,9	99,7	10,2	0,5704
	TAD(mmHg)	62,8	8,0	62,5	7,9	0,9599

	FC(Lat/min)	79,0	10,8	80,3	11,1	0,4383
	FR (resp/min)	18,3	7,2	17,9	3,5	0,5202
	SAT0 ₂ (%)	99,9	1,1	99,6	2,2	0,4963

Referencias: TAS: Tensión Arterial Sistólica. TAD: Tensión Arterial Diastólica. FC: Frecuencia Cardíaca. FR: Frecuencia Respiratoria. SAT0₂: Saturación parcial de Oxígeno. Grupo A: dosis de propofol 2 mg/kg; Grupo B: dosis de propofol 1,5 mg/kg. ±DS: Desviación estándar.

En la recuperación postanestésica, no se observaron diferencias entre ambos grupos (Tabla VIII).

Tabla VIII. Comparación intergrupar de calidad analgésica evaluada mediante Escala Visual Análoga luego del procedimiento de aspiración folicular con distintas dosis de propofol.

EVA	Grupo A (n=106)		Grupo B (n=125)		p
	Con dolor %	Sin dolor %	Con dolor %	Sin dolor %	
Basal	1	99	0	100	0,2760
30 minutos	11	89	5	95	0,0644
60 minutos	15	85	7	93	0,0535

Referencias: Grupo A: dosis de propofol 2 mg/kg; Grupo B: dosis de propofol 1,5 mg/kg. EVA: Escala Visual Análoga. Los resultados se expresan en porcentajes absolutos (%).

La única reacción adversa hallada en las pacientes fue la presencia de somnolencia (2% en el grupo de alta dosis, 1% en el grupo de bajas dosis), la cual no fue estadísticamente significativa entre ambos grupos.

La calidad de la anestesia mediante los lineamientos de Escala de Likert fue muy satisfactoria en ambos grupos (Tabla IX).

Tabla IX. Comparación intergrupar de calidad anestésica mediante satisfacción con Escala de Likert luego del procedimiento de aspiración folicular con distintas dosis de propofol.

Respuesta (%)	Grupo A (n=106)	Grupo B (n=125)
Muy satisfecho	94%	92%
Satisfecho	5%	7%
Muy Insatisfecho	1%	1%

Referencias: Grupo A: dosis de propofol 2 mg/kg; Grupo B: dosis de propofol 1,5 mg/kg. Los resultados se expresan en porcentajes absolutos (%).

En cuanto a los resultados de fertilización y desarrollo embrionario (Tabla X), se visualiza que no hubo diferencias intergrupo en la cantidad de ovocitos aspirados durante el procedimiento de aspiración folicular. La mayoría de los ovocitos recuperados fueron maduros (MII) como lo reflejan los resultados. No hubo diferencias en la tasa de fertilización entre ambos grupos analizados. Fue muy baja la ocurrencia de alteraciones en la fertilización por mala dotación genética en el futuro embrión, como es la visualización de cigotos con un o tres pronúcleos (1PN ó 3PN), y no hubo diferencias entre ambos grupos. Se analizaron las características morfológicas de los embriones transferidos, que

fue de dos embriones en todos los casos. Se observa que la calidad embrionaria valorada por su índice fue similar en ambos grupos.

Tabla X. Representación y evaluación comparativa intergrupala de ovocitos recuperados, ovocitos MII, tasa de fertilización, presencia de 1, 2 o 3 PN (pronúcleos) y desarrollo embrionario, luego del procedimiento de aspiración folicular con diferentes dosis de propofol.

	Grupo A (n= 106)		Grupo B (n= 125)		p
	Media	±DS	Media	±DS	
<i>Ovocitos recuperados</i>	8,5	4	7,9	3,7	0,3444
<i>Ovocitos MII</i>	7,0	3,2	6,8	3,1	0,6756
<i>Tasa Fertilización (%)</i>	72,2	22,5	73,6	19,5	0,6950
<i>2PN</i>	4,8	2,4	4,9	2,5	0,7429
<i>3PN</i>	0,2	2,4	0,9	2,5	0,7429
<i>1PN</i>	0,1	0,4	0,2	0,5	0,7968
<i>Células 1</i>	6,1	2,1	6,4	2,1	0,3550
<i>% fragm 1</i>	9,3	10	8,4	9,6	0,5683
<i>Índice celular 1</i>	9,6	0,7	9,6	0,6	0,2653
<i>Índice fragm 1</i>	2,6	1,8	2,5	0,6	0,5908
<i>Índice calidad embrionaria 1</i>	23,6	6,3	24,2	6	0,4004
<i>Células 2</i>	6,0	2,1	5,9	2,7	0,7363
<i>% fragm 2</i>	13,0	15	14,4	16	0,6352
<i>Índice celular 2</i>	9,6	0,7	8,9	2,6	0,3124

<i>Índice fragm 2</i>	2,2	0,8	2,3	0,8	0,3072
<i>Índice calidad embrionaria 2</i>	21,7	7,7	22,2	8,4	0,4687

Se evaluaron en cada grupo calidad embrionaria de dos embriones transferidos según N° (número) de células, %(porcentaje) de fragmentación, índice celular, índice de fragm (fragmentación) e índice de calidad embrionaria. Se valoraron según media, \pm DS y valoración de p.

Referencias: PN: pronúcleo; 1: primer embrión transferido; 2: segundo embrión transferido. Grupo A: dosis de propofol 2 mg/kg; Grupo B: dosis de propofol 1,5 mg/kg. \pm DS: Desviación estándar.

Aquellos ovocitos en profase I o metafase I, obtenidos en ambos grupos, se mantuvieron en incubación y ninguno de ellos presentó actividad partenogénica.

En cuanto a las tasas de embarazo clínico, se observó una mayor tasa en el grupo de bajas dosis de propofol con respecto al grupo de altas dosis, la cual fue estadísticamente significativa ($p < 0,0003$) (Figura VI).

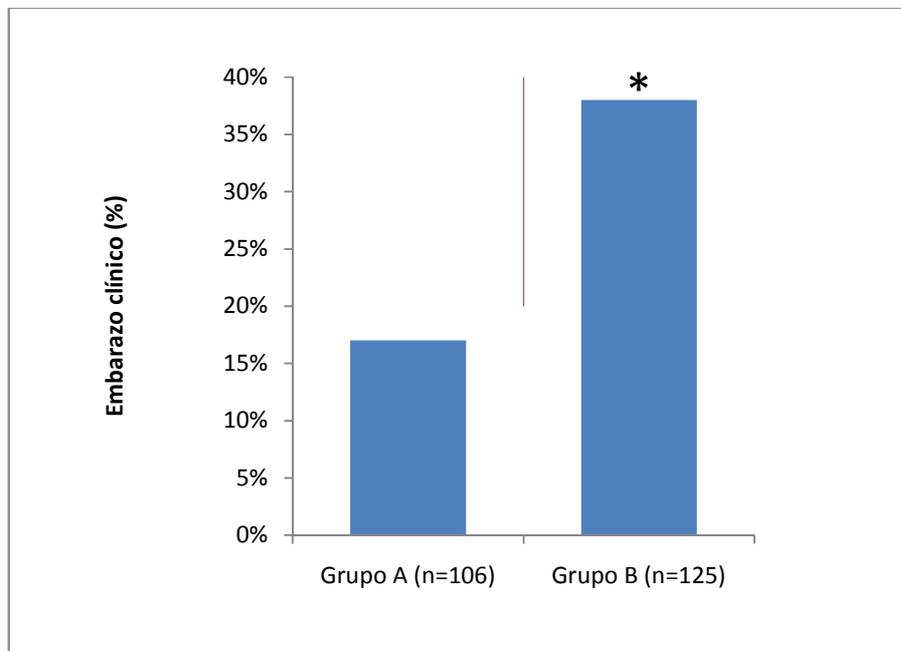


Figura VI- Se compara intergrupo la tasa de embarazo clínico, expresada en porcentaje. Grupo A (106 pacientes, en las que se empleó propofol a dosis de 2 mg/kg), Grupo B (125 pacientes, en las que se empleó propofol a dosis de 1,5 mg/kg). * = $p < 0,0003$.

Se observó un mayor porcentaje de abortos en el grupo de altas dosis de propofol con respecto al de bajas dosis, pero el mismo no fue estadísticamente significativo. Fue mayor el porcentaje de embarazos ectópicos en el grupo de bajas dosis de propofol, pero el mismo no fue estadísticamente significativo (Figura VII).

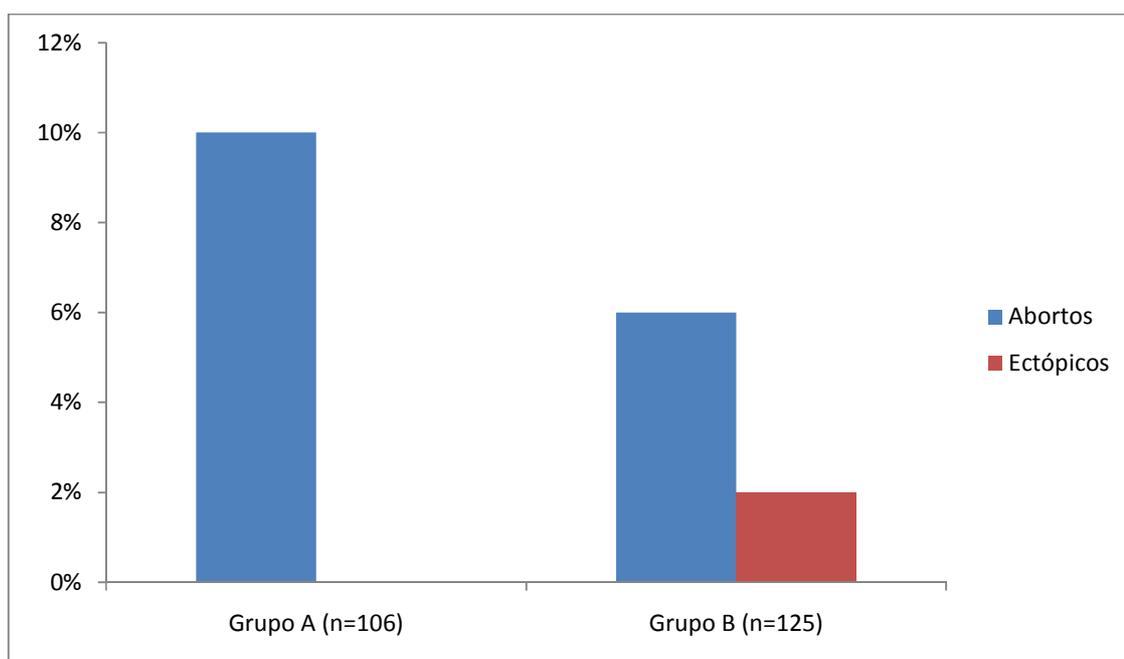


Figura VII- Se evalúan en cada grupo los valores de aborto y embarazo ectópico, expresados en porcentajes. Grupo A (106 pacientes, en las que se empleó propofol a dosis de 2 mg/kg), Grupo B (125 pacientes, en las que se empleó propofol a dosis de 1,5 mg/kg).

DISCUSION

La técnica de ICSI tuvo lugar por primera vez en el año 1992 y se aplicaba en aquellas parejas con alteraciones importantes de los parámetros seminales o en parejas que sin presentar anomalías de éstos, tenían antecedentes de fallas de fertilización al realizar tratamientos de reproducción asistida con la técnica de fertilización *in vitro* convencional (81-82).

Sin embargo, el empleo de la técnica de ICSI se ha vuelto más común en los últimos tiempos. Su indicación se ha extendido a aquellas parejas con ESCA, bajo recuento de ovocitos obtenidos tras la aspiración folicular, edad materna avanzada, fertilización de ovocitos madurados *in vitro*, en tratamientos de alta complejidad en los que debe realizarse la evaluación genética preimplantacional y en la fertilización de ovocitos criopreservados (83-84). Incluso se ha propuesto el uso rutinario de ICSI independientemente de la etiología de la infertilidad, con el objeto de reducir probabilidades de fallas de implantación y de incrementar potencialmente el número de embriones obtenidos (85). Esto ha llevado a que la utilización clínica de la FIV convencional haya disminuido.

Se sabe que a nivel mundial, los resultados de los tratamientos de reproducción asistida de alta complejidad pueden verse afectados por muchos factores como: edad de la mujer, índice de masa corporal (IMC), esquema de estimulación ovárica controlada o factor etiológico que llevó a la indicación de la técnica de reproducción asistida. Pero poco se conoce si la técnica anestésica

con las drogas mayormente utilizadas durante la sedoanalgesia (CAM) para la aspiración folicular, puede tener algún impacto en los resultados reproductivos.

En cuanto a la edad de la mujer, la fecundidad disminuye gradualmente comenzando a la edad aproximada de 32 años y decreciendo rápidamente a partir de los 37 años, reflejo de la disminución de la cantidad y calidad ovocitaria debido a los incrementos de la hormona folículoestimulante circulante y al descenso de la hormona antimulleriana e inhibina B que acontecen con el avance de la edad de la mujer. Los mecanismos involucrados aún no están totalmente dilucidados, pero se cree podrían estar interviniendo múltiples factores codificados genéticamente (86-87). En este trabajo se excluyeron aquellas mujeres mayores de 35 años y en los resultados se observa que la media de edad de la mujer no sobrepasa los 31 años, por lo cual el factor edad se descarta como factor adyuvante en los resultados de ICSI.

El sobrepeso y la obesidad en la mujer pueden asociarse a disfunción ovulatoria y, en el caso de tratamientos de reproducción asistida, pueden causar disminución de la respuesta ovárica a los agentes inductores de ovulación, recuperación de menor número de ovocitos, menor cantidad de ovocitos maduros, menores tasas de fertilización ovocitaria y, consecuentemente, menores tasas de embarazo. Además, la obesidad incrementa las tasas de aborto (88-89). Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) un IMC menor a 25 kg/mts² indica normopeso. En este trabajo no hubo diferencias en cuanto al peso en ambos grupos; de hecho la media de IMC corresponde a normopeso. Por consiguiente, esta variable no parece haber afectado los resultados reproductivos analizados.

El esquema de estimulación ovárica también puede influir en la calidad ovocitaria y en las tasas de implantación, tal como fue explicado anteriormente (90-92). Como en ambos grupos se empleó un esquema similar, este factor no debería haber impactado en los resultados.

El factor etiológico indicativo de ICSI también puede afectar los resultados reproductivos. En este estudio se valoraron las siguientes indicaciones para ICSI:

1- Endometriosis, afecta la calidad ovocitaria y el desarrollo embrionario. Además, puede afectar la capacidad de transporte tubouterina, alterar la anatomía pelviana por la presencia de adherencias, producir alteraciones endócrinas y ovulatorias (picos de elevación plasmática prematura de hormona luteinizante, disfunción de fase lútea) y alterar la receptividad endometrial por reducción en la expresión de ciertas integrinas, lo que conlleva a bajas tasas de implantación (93).

2- ESCA, se da en una pareja donde la causa no puede ser explicada por los estudios rutinarios de infertilidad (94).

3- Factor ovárico, representado por el síndrome de ovario poliquístico, el cual genera un estado de disfunción ovulatoria (95).

4- Factor andrológico: se refiere a la presencia de oligospermia (bajo conteo espermático: ≤ 15 millones/ml según Manual OMS 2010), astenozoospermia (alteración de la movilidad espermática: $\leq 32\%$ de espermatozoides traslativos móviles según manual OMS 2010) o teratozoospermia (alteración en la morfología espermática: según criterio estricto de Kruger $\leq 4\%$ de espermatozoides normales según manual OMS 2010).

5-Factor tubario: se refiere a obstrucción tubaria de causa inflamatoria o infecciosa.

En este trabajo todas estas variables analizadas fueron homogenizadas ya que no hubo diferencias en la causa etiológica indicativa de ICSI en ambos grupos.

Descartando estos factores que podrían contribuir a alguna alteración en los resultados reproductivos, se evaluó si el proceso anestésico durante la obtención de los ovocitos para la técnica de ICSI, podría generar algún impacto en los resultados reproductivos.

La sedoanalgesia es la técnica más empleada para la aspiración folicular en los tratamientos de reproducción asistida de tipo ICSI; el empleo de propofol, midazolam y fentanilo son las combinaciones más utilizadas para tal propósito (39). Dicha sedoanalgesia se emplea para reducir el dolor expresado durante la aspiración ovocitaria. Este dolor se percibe en forma muy similar a un dolor menstrual intenso y es producido por la inserción de la aguja de aspiración a través de la pared vaginal y de la punción mecánica de los ovarios. El número de folículos y la duración del procedimiento de aspiración folicular pueden afectar la intensidad del dolor. Por lo tanto, un régimen adecuado anestésico y analgésico debe tener bajos o nulos efectos tóxicos sobre los ovocitos, ser de fácil administración y monitoreo, y lograr una rápida recuperación de la paciente, con escasos efectos adversos (96-97).

Por ello, empleamos la técnica de sedoanalgesia que consiste en la administración de medicación inductora de un estado que permita la realización del procedimiento y que el paciente lo tolere manteniendo la función cardiorrespiratoria. El deterioro y/o alteración del nivel de conciencia (en diversos grados) es una característica propia de esta técnica (98-99).

El incremento en la demanda del uso de técnicas de sedación o anestesia para procedimientos fuera de quirófano por las diferentes especialidades (gastroenterología, neumología, cardiología, radiología, ginecología, etc.) puede suponer hasta un 20-30% de la actividad de los servicios de anestesiología. La Sociedad Española de Anestesia y Reanimación (SEDAR) y American Society of Anesthesiologists (ASA) consideran que la protocolización de las sedaciones es muy necesaria y que se debe realizar de acuerdo a la evidencia científica y a las recomendaciones internacionales (Declaración de Helsinki, Joint Commission, Food and Drug Administration) (100-105). En este trabajo se siguieron dichas normas de realización en concordancia con los estándares internacionales.

En el trabajo se empleó la analgesia multimodal que es la asociación de fármacos analgésicos (fentanilo y ketorolac) con distinto mecanismo de acción

que consigue mayor potencia analgésica y menos efectos secundarios, permitiendo disminuir las dosis de los fármacos empleados durante el procedimiento. Además, se completó con coanalgesia mediante el uso de fármacos no analgésicos pero potenciadores del mismo, como benzodiacepinas (102).

Las tasas de satisfacción anestésica y la calidad analgésica fueron similares en ambos grupos, al igual que las bajas reacciones adversas por el empleo de propofol. Un hecho importante es que no hubo ningún caso de retraso en el alta médica atribuido al uso de midazolam y fentanilo. Esto concuerda con el estudio de Murthy y cols., en el cual la utilización de dos modelos anestésicos (propofol más remifentanilo o propofol más fentanilo), mostró mínimos efectos adversos y rápida recuperación anestésica cuando se emplean en los procedimientos de aspiración folicular (106).

Analizando los resultados en este estudio, no hubo diferencias hemodinámicas entre ambos grupos, lo que concuerda con la bibliografía (96). Esto se demuestra en el estudio de Necmiye Hadimioglu y cols. donde en el mismo se aleatorizaron cuatro grupos de 15 pacientes cada uno; Grupo 1: propofol más fentanilo, Grupo 2: propofol más alfentanilo, Grupo 3: midazolam más fentanilo y Grupo 4: midazolam más alfentanilo. En ningún grupo se presentaron diferencias hemodinámicas durante el procedimiento de aspiración folicular (107).

Existe un limitado número de estudios clínicos que evalúen si el propofol por sí mismo, puede afectar adversamente la fertilización ovocitaria y la calidad embrionaria, dependiendo de la dosis y tiempo de exposición al mismo. Existen trabajos en roedores que dan soporte a esta inquietud (72-74). Distintos autores refieren un incremento en la concentración de propofol intrafolicular durante el transcurso del procedimiento de aspiración, existiendo acumulación de dicha droga en el líquido folicular y mayor exposición a la misma en los últimos ovocitos aspirados, por lo que el procedimiento de aspiración debería ser lo más breve posible (45,108). El incremento de los niveles de propofol en el

líquido folicular es proporcional a la dosis total administrada y al tiempo de exposición del mismo (73). Como manifiesta Christiaens y cols., la detección de propofol intrafolicular se evidencia a los 10 minutos de comenzado el procedimiento anestésico y la cantidad de propofol hallada es directamente proporcional a las dosis y tiempo de exposición a dicha droga (75). También Depypere y cols. demuestran un efecto tóxico del propofol en la fertilización ovocitaria, la cual es dosis y tiempo dependiente (109). Ben-Sholmo y cols. determinaron que la concentración de propofol intrafolicular se incrementa de forma directamente proporcional a su concentración plasmática y a la duración de la infusión sanguínea que presente cada paciente (110). Janssenswillen y cols. estudiaron la exposición de ovocitos de ratón a altas concentraciones de propofol observando una reducción en la tasa de fertilización, aunque este efecto solo fue observado con el empleo de dosis que serían supra farmacológicas en ciclos *in vitro* en humanos (73).

En los resultados de este estudio las dosis de propofol empleadas en el grupo B fueron significativamente menores a las del grupo A. A pesar de esta diferencia en las dosis de propofol, no se evidencian diferencias significativas entre ambos grupos al comparar tasas de fertilización y calidad embrionaria. Esto coincide con un estudio de Alsalili y cols. (72). En dicho trabajo se incubaron *in vitro* durante 30 minutos ovocitos aspirados de ratones en medios conteniendo 0, 100, 1000 y 10.000 ng/ml de propofol previo a la maduración de los mismos; no se hallaron diferencias en la tasa de fertilización ni en el clivaje con respecto a los controles. Matsota y cols. estudiaron 58 pacientes sometidas a procedimiento de aspiración folicular, las cuales se dividieron en dos grupos: 29 recibieron anestesia con remifentanilo y las otras 29 con propofol y alfentanilo. Al comparar las variables (número de ovocitos maduros recuperados, tasa de fertilización, tasa de clivaje, calidad embrionaria y tasa de embarazo) no se hallaron diferencias estadísticamente significativas (47). Ben-Shlomo y cols. demostraron ausencia de diferencias significativas en la tasa de

clivaje y desarrollo embrionario al exponer los ovocitos a dosis crecientes de propofol (110).

En nuestro estudio no se observó activación partenogenética del ovocito, tal como se informó en un estudio de Janssenswillen y cols. Se trata de la activación ovocitaria sin participación espermática con la consiguiente formación de ovocitos bipronucleados con extrusión del segundo cuerpo polar. Ésta si se evidencia en el estudio de Janssenswillen, cuando se incuban ovocitos de ratón en medios con 50 ngr/ml de propofol por 15, 30, 60, 90 y 120 minutos (73).

Según Tatone y cols. la exposición de ovocitos murinos a propofol en dosis de 0,4, 1 y 10 μ gr/ml en forma previa a su inseminación, produce reducción en la tasa de dos PN y en la formación o extrusión del segundo cuerpo polar. Sin embargo, no se hallaron diferencias en cuanto al clivaje embrionario. Tatone propone entonces, que el propofol puede afectar negativamente la habilidad de fusión espermática sin interferir con los eventos posfusión donde estarían involucradas diferentes componentes de membrana (74).

Una limitación del presente trabajo fue que no se determinó la concentración de propofol a nivel folicular. Es importante destacar que en los dos grupos estudiados (altas y bajas dosis de propofol) los tiempos quirúrgicos fueron semejantes, pero en el grupo B el tiempo desde la administración del propofol y la aspiración del primer folículo fue menor y estadísticamente significativo. No se halló diferencias en el tiempo desde la administración del propofol hasta la aspiración del último folículo. Esto puede explicarse por la cantidad de folículos aspirados; cuanto mayor es el número de folículos mayor es el tiempo de aspiración folicular requerida, que no siempre conlleva a mayor número de ovocitos recuperados, ya que puede existir la posibilidad de hallar folículos vacíos. Es posible que esto haya ocurrido en el presente estudio, por eso es que la media de ovocitos recuperados fue similar en ambos grupos.

En cuanto a las repercusiones que el empleo de opioides durante el procedimiento de aspiración folicular puede producir en las tasas de

fertilización, clivaje y tasas de embarazo, se exponen algunos trabajos reportados a nivel mundial. Sarikaya HB y cols. aleatorizaron dos grupos de pacientes: grupo 1, recibió 0.1 µg/kg/minuto de remifentanilo mientras que el grupo 2, recibió 0.15 µg/kg/minuto. Como resultados, no hubo diferencias en la tasa de fertilización, clivaje ni embarazo entre ambos grupos analizados (111).

En cuanto al empleo de benzodiazepinas (midazolam) un estudio en murinos, evidenció que la administración de esta droga no afectaba la fertilización ni el desarrollo embrionario *in vivo* o *in vitro*, incluso cuando se utilizaron dosis 500 veces mayores a las empleadas clínicamente (112).

Por ello, considerando las evidencias anteriormente descritas, parece poco probable que las diferencias reproductivas detectadas en nuestro trabajo sean atribuibles a las variaciones en las concentraciones de fentanilo y midazolam entre los grupos A y B.

En este trabajo, la tasa de embarazo clínico fue significativamente mayor en el grupo de bajas dosis de propofol. Aunque no se han encontrado estudios que comparen el mismo esquema anestésico de drogas (fentanilo más midazolam y propofol), con diferentes dosis, como fue analizado en este estudio, se detallarán algunos estudios que comparan el propofol con algún otro anestésico para valorar las tasas de embarazo. Según Gouziomitrou E y cols. que compararon un grupo de 20 pacientes sometidas a propofol versus otras 20 pacientes sometidas a pentotal, se hallaron diferencias aunque no estadísticamente significativas en las tasas de embarazo a favor del empleo de propofol (29% para propofol y 12% para pentotal) (113). Según Pierce y cols. no se observaron diferencias en cuanto a las tasa de embarazo entre el grupo de pacientes sometidas a thiopental (24.6%) o a propofol (25.8%) en un estudio retrospectivo que involucró 230 pacientes sometidas a procedimiento de aspiración folicular (114). Vincent y cols., estudiando a 112 pacientes, observaron que el grupo sometido a propofol /óxido nitroso se asociaba a menores tasas de embarazo comparadas con pacientes sometidas a isoflurano/óxido nitroso (tasa de embarazo del 54% en el grupo de isoflurano vs.

29% en el grupo de propofol); sin embargo, este estudio no valoró la tasa de fertilización (115). Según Huang y cols. no se hallaron diferencias estadísticamente significativas en cuanto a tasas de embarazo en pacientes sometidas a propofol (68,9%) o a tiopental (66,7%). Fue un estudio retrospectivo, donde 72 pacientes fueron sometidas a propofol y 20 pacientes a tiopental (116). Un estudio utilizó como referencia bibliográfica nuestro protocolo de investigación, utilizando el mismo esquema de drogas anestésicas (propofol 40 mg EV bolo, midazolam 2 mg EV y 100 µg EV fentanilo). Realizaban el mantenimiento de la sedoanalgesia con bolos intermitentes de propofol según necesidad a una dosis promedio de 0,5 mg/kg a 0,75 mg/kg EV. Compararon la dosis de propofol empleada en el procedimiento de aspiración folicular expresada en mg/kg/minuto: es decir dosis de propofol expresada en mg según peso de la paciente y según tiempo de exposición de los ovocitos al propofol expresado en minutos; la dosis media de propofol por ovocito MII en el grupo de recién nacidos vivos (0,04 mg/kg/min de propofol) fue similar al grupo sin embarazo (0,03 mg/Kg/min de propofol). Por lo tanto, no se hallaron diferencias significativas en la dosis media de propofol empleada por ovocito MII entre ambos grupos (117).

En este trabajo, a pesar de no hallarse una diferencia estadísticamente significativa en tasas de fertilización y calidad embrionaria intergrupo, se observa una mayor tasa de embarazo clínico en el grupo de bajas dosis de propofol. No se han encontrado estudios que muestren esta tendencia. Podría postularse algún efecto deletéreo del propofol a nivel celular, como por ejemplo, interferir en la continuidad de la división celular normal o alterar la calidad embrionaria; probablemente estos cambios podrían evidenciarse en estadio de blastocisto (quinto día) o en estadios más avanzados, limitación de este trabajo ya que solo se transfirieron embriones en el segundo o tercer día evolutivo (Día+2 y Día+3). En el estadio de blastocisto, ocurre la activación del genoma paterno. Sería importante investigar si el propofol ejerce algún efecto perjudicial en dicha activación genómica. Otra hipótesis es que el propofol en altas dosis,

podría afectar a través de señales propias del embrión, la expresión molecular de factores implantatorios, lo cual ejercería efectos negativos en las tasas de implantación. Existen marcadores de decidualización materna durante la ventana de implantación tales como integrinas, el factor inhibitorio de leucemia (LIF), receptor tipo 1 de interleuquina 1, mucina 1, expresión del receptor de progesterona e interleuquina 6 entre otros. Asimismo no existen estudios que evalúen si el embrión puede sufrir alteraciones en su desarrollo provocadas por el propofol; de hecho, se desconoce si éste podría hallarse a nivel citoplasmático en el ovocito (ya que solo se ha estudiado en el líquido folicular). Todas estas hipótesis deberían ser evaluadas en nuevos estudios.

Para finalizar, en nuestro estudio hallamos también una mayor tendencia en el grupo de altas dosis de propofol a sufrir abortos (aunque la diferencia no fue estadísticamente significativa). No hemos hallado estudios que apoyen o nieguen un efecto del propofol como agente causal de abortos.

En resumen, la exposición farmacológica a bajas dosis de propofol durante el procedimiento de aspiración folicular junto al menor tiempo de exposición de los ovocitos, alcanzó el efecto anestésico esperado, ya que no alteró los parámetros hemodinámicos y logró una buena calidad y eficacia anestésica y analgésica. Asimismo, no se vio aumentada la incidencia de reacciones adversas potenciales. Si bien la disminución en la dosis y tiempo de exposición al propofol no mejoró las tasas de fertilización ni la calidad embrionaria, sí aumentaron las tasas de embarazo clínico.

CONCLUSIÓN

El uso de propofol a bajas dosis (1,5 mg/kg EV) versus dosis mayores, no afectó el número de ovocitos MII recuperados, la tasa de fertilización, el desarrollo embrionario, como así tampoco la calidad anestésica y analgésica en comparación con el esquema habitual. No se vieron afectados los patrones hemodinámicos ni respiratorios en el per y postoperatorio inmediato, ni tampoco se observaron efectos tóxicos sistémicos cardiovasculares y neurológicos utilizando las dosis habituales o bajas de propofol.

El porcentaje de abortos espontáneos y embarazos ectópicos no mostró diferencias de significación estadística entre ambos grupos de estudio.

Sí se observó un efecto positivo sobre el éxito reproductivo al emplear dosis menores de propofol, mediante un aumento en las tasas de embarazo clínico.

Por lo antes expuesto, se podría emplear propofol a bajas dosis en una anestesia balanceada, durante la aspiración folicular en técnicas de ICSI, ya que no genera repercusiones a nivel hemodinámico y respiratorio, ni afecta las

calidades anestésica, analgésica y embrionaria, con la consiguiente menor exposición del ovocito a este agente, disminuyendo sus potenciales efectos tóxicos. Además, sería conveniente que el procedimiento de aspiración folicular sea lo más breve posible para limitar la acumulación de este anestésico en el líquido folicular. Nuestros resultados sugieren que el uso del propofol a bajas dosis en ciclos de ICSI podría considerarse para su uso rutinario.

BIBLIOGRAFIA

- 1- Number of cycles in the country divided by its population in 2014 (World Population Data Sheet, World Bank).
- 2- Zegers-Hochschild F, Schwarze JE, Crosby JA, Musri C, Urbina MT. Assisted reproductive techniques in Latin America: The Latin American Registry, 2014. JBRA Assisted Reproduction. 21(3):164-165. 2017.
- 3- Ying Cheong NB, Macklon N. Human Assisted Reproduction Technology. Future trends in laboratory and clinical practice. First Edition. Cambridge, United Kingdom. Gardner DK, Risk Botros RMB, Falcone T. 54-66.2011.
- 4- Elder K, Dale B. In-Vitro Fertilization. Third Edition. Cambridge, United Kingdom. Ed Cambridge University Press; (5):88-92.2011.
- 5- Gardner DK, Weissman A, Howles CM. textbook of Assisted Reproductive technologies. Laboratory and clinical perspectives. Third Edition. London, United Kingdom. Ed Informa UK Ltd. 171-174.2009.
- 6- Rienzi L, Balaban B, Ebner T, Mandelbaum J. The oocyte. Hum Reprod. 27(51): 2-21. 2012.

- 7- Swain JE, Pool TB. ART failure: oocyte contributions to unsuccessful fertilization. *Hum Reprod Update*.14:431–446. 2008.
- 8- Pena JE, Chang PL, Chan LK. Supraphysiological estradiol levels do not affect oocyte and embryo quality in oocyte donation cycles. *Hum Reprod*.17: 83–87. 2002.
- 9- Greb RR, Behre HM, Simoni M. Pharmacogenetics in ovarian stimulation – current concepts and future options. *Reprod Biomed Online*. 11:589–600. 2005.
- 10-Baart EB, Martini E, Eijkemans MJ. Milder ovarian stimulation for in-vitro fertilization reduces aneuploidy in the human preimplantation embryo: a randomized controlled trial. *Hum Reprod*. 22: 980–988. 2007.

- 11-Hohmann FP, Macklon NS, Fauser BC. A randomized comparison of two ovarian stimulation protocols with gonadotropin-releasing hormone (GnRH) antagonist cotreatment for in vitro fertilization commencing recombinant follicle-stimulating hormone on cycle day 2 or 5 with the standard long GnRH agonist protocol. *J Clin Endocrinol Metab*.88: 166–163. 2003.
- 12-Van Blerkom J. The influence of intrinsic and extrinsic factors on the developmental potential and chromosomal normality of the human oocyte. *J Soc Gynecol Investig*.3: 3–11. 1996.
- 13-Van Blerkom J, Antezak M, Schrader R. The developmental potential of human oocyte is related to the dissolved oxygen content of follicular fluid: association with vascular endothelial growth factor levels and perifollicular blood flow characteristics. *Hum Reprod*.12: 1047–1055. 1997.
- 14-Battaglia C, Genazzani AD, Regnani G, et al. Perifollicular Doppler flow and follicular fluid vascular endothelial growth factor concentrations in poor responders. *Fertil Steril*.74: 809–812. 2000.
- 15-Sathananthan AH, Trounson A, Freemann L, Brady T. The effects of cooling human oocytes. *Hum Reprod*.3: 968–977. 1988.

- 16-Pickering SJ, Braude PR, Johnson MH, Cant A, Currie J. Transient cooling to room temperature can cause irreversible disruption of the meiotic spindle in the human oocyte. *Fertil Steril*.54: 102–108.1990.
- 17-Almeida PA, Bolton VN. The effect of temperature fluctuations on the cytoskeletal organization and chromosomal constitution of the human oocyte. *Zygote*.3: 357–365. 1995.
- 18-Zenzes MT, Bielecki R, Casper RF, Leibo SP. Effects of chilling to 0°C on the morphology of meiotic spindles in human metaphase II oocytes. *Fertil Steril*. 75: 769–777. 1995.
- 19-Wang WH, Meng L, Hackett RJ, Odenbourg R, Keefe DL. Limited recovery of meiotic spindles in living human oocytes after cooling–rewarming observed using polarized light microscopy. *Hum Reprod*.16: 2374–2378. 2001.
- 20-Papale L, Fiorentino A, Montag M, Tomasi G. The zygote. *Human Reprod*. 27(1): 22–49. 2012.
- 21-Veeck LL, Zaninovic N. *An atlas of Human Blastocysts*. New York: The Parthenon Publishing Group. 2003.
- 22-Prados FJ, Debrock S, Lemmen JG, Agerholm I. The cleavage stage embryo. *Hum Reprod*. 27(1):50-71. 2012.
- 23-Giorgetti C, Terriou P, Auquier P, Hans E, Spach JL, Salzmann J, et. al. Embryo score to predict implantation after in-vitro fertilization: based on 957 single embryo transfers. *Hum Reprod*.10: 2427– 2431. 1995.
- 24-Veeck LL. Pre-embryo grading and degree of cytoplasmic fragmentation. *Atlas of Human Gametes and Conceptuses: An Illustrated Reference for Assisted Reproductive Technology*. First Edition. New York, USA. Parthenon. 46–51. 1999.
- 25-Fisch JD, Rodriguez H, Ross R, Overby G, Sher G. The Graduated Embryo Score (GES) predicts blastocyst formation and pregnancy rate from cleavage-stage embryos. *Hum Reprod*.16:1970–1975. 2001.

- 26-De Placido G, Wilding M, Strina I, Alviggi E, Alviggi C, Mollo A, Varicchio M.T, Tolino A, Schiattarella C, Dale B. High outcome predictability after IVF using a combined score for zygote and embryo morphology and growth rate. *Hum Reprod.*17:2402–2409. 2002.
- 27-Baczkowski T, Kurzawa R, Głabowski W. Methods of embryo scoring in in vitro fertilization. *Reprod Biol.*4:5–22. 2004.
- 28-Rienzi L, Ubaldi F, Iacobelli M, Romano S, Minasi M, Ferrero S, Sapienza F, Baroni E, Greco E. Significance of morphological attributes of the early embryo. *Reprod Biomed Online.*10:669 –681. 2005.
- 29-Torello´ MJ, Ardoy M, Calderon G, Cuadros J, Herrero R, Moreno JM, Ortiz A, Prados F, Rodríguez L, Ten J. Criterios ASEBIR de valoración morfológica de Ovocitos, Embriones tempranos y Blastocistos. ASEBIR Congress, Zaragoza, 2005.
- 30-Holte J, Berglund L, Milton K, Garello C, Gennarelli G, Revelli A, Bergh T. Construction of an evidence-based integrated morphology cleavage embryo score for implantation potential of embryos scored and transferred on day 2 after oocyte retrieval. *Hum Reprod.*22:548–557. 2007.
- 31-Racowsky C, Jackson KV, Cekleniak NA, Fox JH, Hornstein MD, Ginsburg ES. The number of eight-cell embryos is a key determinant for selecting day 3 or day 5 transfer. *Fertil Steril.*73:558–564. 2000.
- 32-Alikani M, Cohen J, Tomkin G, Garrisi GJ, Mack C, Scott RT. Human embryo fragmentation in vitro and its implications for pregnancy and implantation. *Fertil Steril.*71:836 –842. 1999.
- 33-Ditkoff EC, Plumb J, Selick A. Anaesthesia practices in the United States common to in vitro fertilization (FIV) centers. *J Assist Reprod Genet.*14:145-147.1997.
- 34-Yasmin E, Dresner M, Balen A. Sedation and anaesthesia for transvaginal oocyte collection: an evaluation of practice in the UK. *Hum Reprod.*19:2942-2945. 2004.

- 35-Tewari S, Bhadoria P, Wadhawan S, Prasad S, Kohli A. Entropy versus standard clinical monitoring using total intravenous anesthesia during transvaginal oocyte retrieval in patients for in vitro fertilization. *J Clin Anesth.* 34:105-112. 2016.
- 36-Goutziomitrou E, Venetis CA, Kolibianakis EM, Bosdou JK, Parlapani A, Grimbizis G, Tarlatzis BC. Propofol versus thiopental sodium as anaesthetic agents for oocyte retrieval: a randomized controlled trial. *Reprod Biomed Online.* 31(6):752-759. 2015.
- 37-Ng EH, Tang OS, Chui DK, Ho PC. A prospective, randomized, double-blind and placebo controlled study to assess the efficacy of paracervical block in the pain relief during egg collection in IVF. *Hum Reprod.* 14:2783-2787. 1999.
- 38-Aghaamoo S, Azmoodeh A, Yousefshahi F, Berjis K, Ahmady F, Qods K, Mirmohammadkhani M. Does Spinal Analgesia have Advantage over General Anesthesia for Achieving Success in In-Vitro Fertilization?. *Oman Med J.* 29(2):97-101. 2014.
- 39-Vlahos NF, Giannakikou I, Vlachos A, Vitoratos N. Analgesia and anesthesia for assisted reproductive technologies. *Int J Gynaecol Obstet.* 105(3):201-205. 2009.
- 40-Aldrete JA, Paladino MA. *Farmacología para Anestesiólogos, Intensivistas, Emergentólogos y Medicina del Dolor; 1ra Edición ampliada y corregida.* Rosario, Argentina. Ediciones Corpus. 14:138-9; 16: 151-154. 2007.
- 41-Goodman & Gillman's: *Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica; 10a Edición.* Distrito Federal. México .Editorial Mc Graw - Hill Interamericana. Volumen 1; 14: 295-306. 2003.
- 42-Florez J, Armijo JA, Mediavilla A. *Farmacología Humana. 5a Edición.* Barcelona. Ediciones Masson. 28: 505-511. 2008.
- 43-Monk SE, Raeder J. Why do women wake up faster than men from propofol anesthesia? *Br. J. Anaesthesia.* 95: 927-933. 2005.
- 44-Smith I, White PF, Nathanson M et al. Propofol: An update on its Clinical use. *Anesthesiology.* 81:1005-1043. 1994.

- 45-Coetsier T, Dhont M, De Sutter P et. al. Propofol anaesthesia for ultrasound guided oocyte retrieval: accumulation of the anesthetic agent in follicular fluid. *Hum Reprod.*7:1422-1424. 1992.
- 46-Kim WO, Kil HK, Koh SO, Kim JI. Effects of general and locoregional anesthesia on reproductive outcome for in vitro fertilization: a meta-analysis. *J Korean Med Sci.*15(1): 68–72. 2000.
- 47-Matsota P, Sidiropoulou T, Batistaki C, Giannaris D, Pandazi A, Krepi H, Christodoulaki K, Kostopanagiotou G. Analgesia with remifentanil versus anesthesia with propofol-alfentanil for transvaginal oocyte retrieval: a randomized trial on their impact on in vitro fertilization outcome. *Middle East J Anesthesiol.*21(5):685-692. 2012.
- 48-Hayes MF, Sacco AG, Savoy-Moore RT, Magyar DM, Endler GC, Moghissi KS. Effect of general anesthesia on fertilization and cleavage of human oocytes in vitro. *Fertil Steril.*48:975-981. 1987.
- 49-Wilhelm W, Biedler A, Hammadeh ME, Fleser R, Grüness V. Remifentanil for oocyte retrieval: A new single-agent monitored anaesthesia care technique. *Anaesthesist.*48:698-704. 1999.
- 50-Bruce DL, Hinkley R, Norman PF. Fentanyl does not inhibit fertilization or early development of sea urchin eggs. *Anesth Analg.*64:498-500. 1985.
- 51-Shapira SC, Chrubasik S, Hoffmann A, Laufer N, Lewin A, Magora F. Use of alfentanil for in vitro fertilization oocyte retrieval. *J Clin Anesth.*8:282-285. 1996.
- 52-Casati A, Valentini G, Zangrillo A, Senatore R, Mello A, Airaghi B, et. al. Anaesthesia for ultrasound guided oocyte retrieval: Midazolam/ remifentanil versus propofol/fentanyl regimens. *Eur J Anaesthesiol.*16:773-778. 1999.
- 53-Swanson RJ, Leavitt MG. Fertilization and mouse embryo development in the presence of midazolam. *Anesth Analg.*75:549-554. 1992.
- 54-Miller RD. *Clínica Anestesiológica, 7a Edición.* Barcelona. Ediciones Doyma, S.A. Volúmen 1: 236-40; 335-341.2010.

- 55-Kenneth Davison et al.: Clinical Anesthesia Procedures of the Massachusetts General Hospital, Little, Brown & Company. Boston.4th edition.54:138-139.1993.
- 56-Kanto J, Gepts E. Pharmacokinetic implications for the clinical use of propofol. Clin. Pharmacokinetic.17, 308-326.1989.
- 57-Kirby RR, Gravenstein N, Lobato E et al. Clinical Anesthesia Practice. 2th Edition. . México. Editorial W.B. Saunders Company. 71:1508-9; 33:634-636. 2007.
- 58-Kodaka M, Johansen JW, Sebel PS. The influence of gender on loss of consciousness with sevoflurane or propofol. Anesth Analg.101: 377-381. 2005.
- 59-Smith I, White PF, Nathanson M et al. Propofol: An update on its Clinical use. Anesthesiology.81: 1005-1043.1994.
- 60-Grabridge P. Patient controlled sedation anaesthesia. Anaesthesia.47: 683-685.1992.
- 61-Shafer SL. Advances in propofol pharmacokinetics and pharmacodynamics. J Clin Anesth.1: 14-21.1993.
- 62-Shao G, Zhang G. Comparison of propofol and sevoflurane for laryngeal mask airway insertion in elderly patients. South Med J. 100(4): 360-365. 2007.
- 63-Hung YC. The effect of hemodynamic changes induced by propofol induction on cerebral oxygenation in young and elderly patients. J Clin Anesth. 17(5): 353-357. 2005.
- 64-Nishikawa K. A comparison of inhalational induction and sevoflurane and intravenous induction with fentanyl and propofol. Anaesthesia. 59(10): 948-953. 2004.
- 65- Ishiyama T, Oguchi T, Kumazawa T. Baroreflex sensitivity and hemodynamic changes in elderly and young patients during propofol anesthesia. J. Anesth. 17(1):65-67. 2003.

- 66-Heuss LT .Conscious sedation with propofol in elderly patients: a prospective evaluation. *Aliment Pharmacol Ther.* 17(12): 1493-1501. 2003.
- 67-Jones NA, Elliott S, Knight J. A comparison between midazolam co-induction and propofol pre dosing for the induction of anaesthesia in the elderly. *Anaesthesia.* 57(7): 649-653. 2002.
- 68-Kazama T. Optimal propofol plasma concentration during upper gastrointestinal endoscopy in young, middle-aged and elderly patients. *Anesthesiology.* 93(3): 662-669. 2000.
- 69-Smythe, M. Patient-controlled analgesia: a review. *Pharmacotherapy.* 12: 132-143. 1992.
- 70-Elkington NM, Kehoe J, Acharya U. Intravenous sedation in assisted conception units: a UK survey. *Hum Reprod.* 6:74-76. 2003.
- 71-Tsen, Lawrence CMD. Anesthesia for Assisted Reproductive Technologies. Brigham and Women's Hospital, Harvard Medical School Boston, Massachusetts. *Anesthesiology.* 99-113. 1997.
- 72-Asalili M, Thornton S, Fleming. The effect of the anaesthetic, propofol, on in-vitro oocyte maturation, fertilization and cleavage in mice 1997. *Hum Reprod.* 12 (6):1271-1274. 1997.
- 73-Janssenswillen C, Christiaens F, Camu F. The effect of propofol on parthenogenetic activation, in vitro fertilization and early development of mouse oocytes. *Fertil Steril.*4:769-774. 1997.
- 74-Tatone C, Francione A, Marinangeli F, et al. An evaluation of propofol toxicity on mouse oocytes and preimplantation embryos. *Hum Reprod.* 2:430-435. 1998.
- 75-Christiaens F, Janssenswillen C, Verborgh C, Moerman I,Devroey P, Van Steirteghem A et al. Propofol concentrations in follicular fluid during general anaesthesia for transvaginal oocyte retrieval. *Hum Reprod.*14: 345-348. 1999.
- 76-Pirolì A, Marci R, Marinangeli F, Paladini A, Di Emidio G, Giovanni Artini P, Caserta D, Tatone C. Comparison of different anaesthetic methodologies

- for sedation during in vitro fertilization procedures: effects on patient physiology and oocyte competence. *Gynecol Endocrinol.* (10):796-769. 2012.
- 77-Zitta M, Santiago RG, Mata A, Juarez Villanueva A, Sanchez Sarmiento C, Avendaño C. Baja dosis de propofol mejora los resultados de ICSI. XV Congreso Argentino de Medicina Reproductiva, organizado por la Sociedad Argentina de Medicina Reproductiva (SAMeR) Afiliada a la International Federation of Fertility Societies (IFFS). Buenos Aires, 14,15 y 16 de noviembre de 2012.
- 78-Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial (AMM) sobre principios Éticos para las investigaciones Médicas en seres humanos. 64ª Asamblea General, Fortaleza, Brazil. 2013. World Medical Association (WMA). <http://www.wma.net>
- 79-Veeck LL. An Atlas of Human Gametes and Conceptuses. First Edition. New York. Ed. The Parthenon Publishing. 40-45.1999.
- 80-Istanbul consensus workshop on embryo assessment. *RBM Online.*22:632-646. 2011.
- 81-Palermo G, Joris H, Devroey P, Van Steiteghem AC. Pregnancies after Intracytoplasmic Injection of single spermatozoon into an oocyte. *Lancet.* 340:17-18. 1999.
- 82-Benadiva CA, Nulsen J, Sian OL, Jennings J, Givargis HB, Maiser D, Intracytoplasmic Sperm injection overcomes previous in vitro fertilization. *Fertil Steril.* 72:1041-1044. 1999.
- 83-Jaint T, Gupta RS. Trends in the use of intracytoplasmic sperm injection in the United States. *NEngland J Med.* 357:251-257. 2007.
- 84-American Society for Reproductive Medicine. Intracytoplasmic Sperm Injection (ICSI). *Fertil Steril.* 90:187. 2008.
- 85-Tucker M, Graham J, Han T, Stillman R, Levy M. Conventional insemination versus intracytoplasmic sperm injection. *Lancet.* 358:1645-1646. 2001.

- 86-Broekmans FJ, Kwee J, Hendriks DJ, Mol BW, Lambalk CB. A systematic review of tests predicting ovarian reserve and IVF outcome. *Hum Reprod Update*.12:685-718. 2006.
- 87-American Society for Reproductive Medicine. Female age-related fertility decline. *Fertil Steril*. 3:101. 2014.
- 88-Douchi T, Kuwahata R, Yamamoto S, Oki T, Yamasaki H, Nagata Y. Relationship of upper body obesity to menstrual disorders. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 81:147-150. 2002.
- 89-Obesity and Reproduction: a committee opinion. *Fertil Steril*. 104(5). 2015.
- 90-Pena JE, Chang PL, Chan LK, et al. Supraphysiological estradiol levels do not affect oocyte and embryo quality in oocyte donation cycles. *Hum Reprod*. 17(1):83-87. 2002.
- 91-Greb RR, Behre HM, Simoni M. Pharmacogenetics in ovarian stimulation current concepts and future options. *Reprod Biomed Online*. 11(5):589-600. 2005.
- 92-Baart EB, Martini E, Eijkemans MJ, et al. Milder ovarian stimulation for in vitro fertilization reduces aneuploidy in the human preimplantation embryo: a randomized controlled trial. *Hum Reprod*. 22: 980–988. 2007.
- 93-Endometriosis and Infertility: a committee opinion. *Fertil Steril*. 2012; 98(3).
- 94-Treatment for unexplained Infertility: a committee opinion. *Fertil Steril*. 86:4. 2006.
- 95-Office of disease prevention and the Eunice Kennedy Shriver National Institute of Child Health and Human Development. National Institutes of Health (NIH) Evidence –based Methodology workshop on polycystic ovary syndrome. Bethesda. December 3-5. 2012.
- 96-Sharma A, Borle A, Trikha A. Anesthesia for in vitro fertilization. *Journal of Obstetric, Anaesthesia and Critical Care*. 5:2. 2015.
- 97-Matsota P, Kaminioti E, Kostopanagiotou G. Anesthesia Related Toxic Effects on In Vitro Fertilization Outcome: Burden of Proof. Hindawi Publishing Corporation BioMed Research International. 3-7. 2015.

- 98-Arnal D, Romero E, Martínez G, Muñoz L, Rey M, Postigo S. Recomendaciones de seguridad del paciente para sedaciones en procedimientos fuera del área quirúrgica. *Rev Esp Anesthesiol Reanim.* 2016 Dec; 63(10):577-587. doi: 10.1016/j.redar.2016.07.006. Epub Aug 18. 2016.
- 99-Merchant R, Chartrand D, Dain S, Dobson S, Kurrek M, Lagac A, et al. Guidelines to the Practice of Anesthesia Revised Edition 2013. *Canadian Journal of Anesthesia* January 2013 Jan;60(1):60-84. doi: 10.1007/s12630-012-9820-7.
- 100- Alvarez J; Cabadas R; De la Matta M y Junta Directiva de la Sociedad Española de Anestesiología y Terapéutica del Dolor (SEDAR) y Miembros de la Comisión nacional de la Especialidad de Anestesiología y Reanimación (CNE Anestesiología y Reanimación). Seguridad del paciente en la sedación profunda para procedimientos endoscópicos digestivos. *Revista española de enfermedades digestivas.* 109. 2016.
- 101- Sociedad Española de Anestesia. (Web: <http://www.sedar.es>). Manifiesto Sociedad Española de Anestesia y Comisión Nacional de la Especialidad de Anestesia. (Último acceso 20 de enero 2017) Disponible en: https://www.sedar.es/media/2016/06/manifiesto_SEDAR_CNE.pdf.
- 102- American Society of Anesthesiologists Task Force on Sedation and Analgesia by Non-Anesthesiologists. Practice Guidelines for Sedation and Analgesia by Non-Anesthesiologists. An Updated Report by the American Society of Anesthesiologists Task Force on Sedation and Analgesia by Non-Anesthesiologists. *Anesthesiology.* 96(4):1004-1017. 2002.
- 103- Monedero P, Errando C, Adam M, et al. y Grupo de Revisión de los Protocolos sobre Seguridad de los Pacientes en Anestesiología. La Declaración de Helsinki sobre seguridad de los pacientes en anestesiología. *Rev Esp Anesthesiol Reanim.* 60 (1):1-3. 2013.
- 104- Joint Commission (<https://www.jointcommission.org>). 2014. Acceso 20 de enero de 2017. Estándares JC .Disponible en:

<http://www.jointcommissioninternational.org/assets/3/7/Hospital-5E-Standards-Only-Mar 2014>.

- 105- FDA. FDA/CDER to Williams & Connolly LLP (American College of Gastroenterology) - Petition Denial. June 27, 2005. Document ID FDA-2005-P-0059-0080. Url: <http://digestivehealth.net/images/FDA-59-80>. 2005.
- 106- Murthy T, Gupta P, Sharma RK. Anaesthetic Issues in In-vitro Fertilization. *Med J Armed Forces India*. 64(2):119-122. 2008.
- 107- Hadimioglu N, M.D. Titiz TA, Dosemeci L, Erman M .Comparison of various sedation regimens for transvaginal oocyte retrieval. *Fertil Steril*. 78:2. 2002.
- 108- Bhattacharya S, MacLennan F, Hamilton MPR. How effective is Patient-controlled analgesia? A randomized comparison of two protocols for Pain relief during oocyte recovery. *Hum Reprod*. 12:1440-1442. 1997.
- 109- Depypere HT, Dhont M, De Sutter P. The influence of propofol on in vitro Fertilization in mice: *Hum Reprod*. 15:1. 1991.
- 110- Ben-Shlomo I, Moskovich R, Golan J, Eyali V, Tabak A, Shalev E. The Effect of Propofol anesthesia on oocyte fertilization and early embryo quality. *Hum Reprod*. 15:2197-199. 2000.
- 111- Sarikaya HB, Iyilikci L, Gulekli B, Posaci C, Erbil Dogan O, Ok E, Eglen M, Ellidokuz H, Gunerli A. Comparison of the effects of 2 different doses of remifentanil infusion for sedation during in-vitro fertilization procedure. *Saudi Med J*. 32(7):689-694. 2011.
- 112- Swanson RJ, Leavitt MG. Fertilization and mouse embryo development in the presence of midazolam. *Anesth Analg*. 75:549-554. 1992.
- 113- Kolibianakis. S, Triantafillidis S, Masouridou A, Mitsoli. Tarlatzis B. Is the type of anesthesia used for oocyte retrieval associated with IVF outcome? a randomized controlled trial. Unit for Human Reproduction, 1st Dept. Ob/Gyn, Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki, Greece. S252. 2010.

- 114- Pierce ET, Smalky M, Alper MM, Hunter JA, Amrhein RL, Pierce EC Jr. Comparison of pregnancy rates following gamete intrafallopian transfer (GIFT). *J Clin Anesth.* 4(5):394-398. 1992.
- 115- Vincent RD, Syrop CH, Van Voorhis BJ, Chestnut DH, Sparks AE, McGrath JM, et al. An evaluation of the effect of anesthetic technique on reproductive success after laparoscopic pronuclear stage transfer. Propofol/nitrous oxide versus isoflurane/nitrous oxide. *Anesthesiology.* 82:352-358. 1995.
- 116- Huang HW, Huang FJ, Kung FT, Tsai MY, Lin H, Chang SY, et al. Effects of induction anesthetic agents on outcome of assisted reproductive technology: A comparison of propofol and thiopental sodium. *Chang Gung Med J.* 23:513-519. 2000.
- 117- Petrini AC, Pereira N, Spandorfer SD, Ronald O, Perelman, Cohen C. The effect of propofol dosage during oocyte retrieval on in vitro fertilization outcomes. Center for Reproductive Medicine, Weill Cornell Medicine, New York, NY. 19. 2016.

ANEXOS

