



- REVISTA DE -

# MEDICINA DE LABORATORIO

**Efecto de los inhibidores de la  
aromatasa en ciclos de  
estimulación de la ovulación en  
un programa de criopreservación  
de la fertilidad femenina**

**Effect of aromatase inhibitors on  
ovulation stimulation cycles in a  
female fertility cryopreservation  
program**

10.20960/revmedlab.00109

05/17/2022

# **Efecto de los inhibidores de la aromatasa en ciclos de estimulación de la ovulación en un programa de criopreservación de la fertilidad femenina**

## ***Effect of aromatase inhibitors on ovulation stimulation cycles in a female fertility cryopreservation program***

Carmen Julia Rodríguez<sup>1</sup>, M.<sup>ª</sup> Carmen Gonzalvo<sup>1,2</sup>, Ana Clavero<sup>1,2</sup>, Noelia Morales<sup>1,2</sup>, Elena Fernández<sup>1</sup>, Noelia Sarasquete<sup>1</sup>, María José Lupiáñez<sup>1</sup>, Alejandra Muñoz<sup>1</sup>, Bárbara Romero<sup>1</sup>, Rocío Sánchez<sup>1</sup> y José Antonio Castilla<sup>1-3</sup>

<sup>1</sup>Unidad de Reproducción Humana. Hospital Universitario Virgen de las Nieves. <sup>2</sup>Instituto de Investigación Biosanitaria (IBS). <sup>3</sup>CEIFER Biobanco. NextClinics. Granada

Correspondencia: M.<sup>ª</sup> Carmen Gonzalvo. Hospital Universitario Virgen de las Nieves. Av. de las Fuerzas Armadas, 2. 18014 Granada  
e-mail: mariac.gonzalvo.sspa@juntadeandalucia.es

Recibido: 26/10/2021

Aceptado: 26/01/2022

### **RESUMEN\_**

El incremento de la incidencia del cáncer de mama y de la supervivencia de las pacientes ha llevado a un aumento de la demanda de criopreservación de la fertilidad femenina. Para aumentar la seguridad de estos programas se ha propuesto el uso de fármacos inhibidores de la aromatasa (IA), que disminuyen los altos niveles de estrógenos que se alcanzan con la estimulación ovárica.

Con el fin de valorar el efecto de los inhibidores de la aromatasa sobre el número y la calidad de los ovocitos obtenidos en ciclos de estimulación ovárica en 112 mujeres de programas de criopreservación de la fertilidad, se realizó un estudio observacional

de cohortes retrospectivo entre 2009 y 2020. Se comparó un grupo de 59 mujeres que recibieron inhibidor de la aromatasa en el protocolo de estimulación de la ovulación con otro grupo de 53 mujeres que no lo recibieron.

Los resultados obtenidos indican que no hay diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos en el porcentaje de ciclos cancelados (6,8 % frente a 9,4 %), en el número de días de estimulación ( $11,0 \pm 2,1$  días frente a  $11,6 \pm 1,9$  días), en el número de ovocitos totales ( $10 \pm 6,4$  ovocitos frente a  $10 \pm 8,9$  ovocitos) ni en el número de ovocitos maduros metafase II (MII) ( $8 \pm 5,1$  MII frente a  $8,3 \pm 7,2$  MII). Se observaron diferencias estadísticamente significativas en la concentración de estradiol sérico ( $66,1 \pm 51,3$  pg/mL frente a  $280,7 \pm 272,8$  pg/mL,  $p < 0,001$ ) y en la dosis de FSH por número de ovocitos obtenidos ( $307 \pm 318,7$  UI frente a  $574,9 \pm 796,6$  UI,  $p < 0,05$ ). Ambas resultaron ser menores al administrar letrozole.

En conclusión, incluir letrozole en los protocolos de criopreservación de la fertilidad femenina permite llegar a resultados similares a los que no lo incluyen en cuanto a cantidad y calidad ovocitaria, lo que aumenta la seguridad de dichos tratamientos en estas mujeres al reducir la concentración sérica media de estradiol.

**Palabras clave:** Criopreservación de la fertilidad. letrozole. Cáncer de mama. Estimulación ovárica.

## **ABSTRACT**

Nowadays, the increasing incidence of breast cancer and survival rates of breast cancer patients has led to an increment in the demand for female fertility cryopreservation programs. To increase the safety of these programs, it has been proposed to use aromatase inhibitor (AI) medications, which decrease the high levels of estrogen that are reached during ovulation stimulation.

To assess the effect of aromatase inhibitors on the number and quality of oocytes obtained in ovarian stimulation cycles of women in fertility cryopreservation programs, a retrospective observational cohort study was performed with a sample of 112 women between 2009 and 2020. We compared a group of 59 women who received an aromatase inhibitor in the ovulation stimulation protocol against another group of 53 women which did not receive an aromatase inhibitor.

The results obtained indicate that there are no statistically significant differences between the two groups in the percentage of cancelled cycles (6.8 % vs. 9.4 %), in the number of days of stimulation ( $11.0 \pm 2.1$  days vs.  $11.6 \pm 1.9$  days), in the total number of oocytes ( $10 \pm 6.4$  oocytes vs.  $10 \pm 8.9$  oocytes) nor the number of MII ( $8 \pm 5.1$  MII vs.  $8.3 \pm 7.2$  MII). On the other hand, we found statistically significant differences in the serum estradiol concentration ( $66.1 \pm 51.3$  pg/mL vs.  $280.7 \pm 272.8$  pg/mL,  $p < 0.001$ ) and the FSH dose per number of oocytes obtained ( $307 \pm 318.7$  UI vs.  $574.9 \pm 796.6$  UI,  $p < 0.05$ ); both of them were significantly lower when letrozole was administered.

Therefore, this study concluded that the inclusion of letrozole in female fertility cryopreservation protocols in women with breast cancer allows similar results to protocol not including letrozole in terms of oocyte quantity and quality, increasing the safety of such treatments in these women by reducing the mean serum concentration of estradiol.

**Keywords:** Fertility cryopreservation. letrozole. Breast cancer. Ovarian stimulation.

## **INTRODUCCIÓN**

El incremento de la incidencia de cáncer en mujeres jóvenes, unido a las crecientes tasas de supervivencia de estas pacientes y a los grandes avances en las técnicas de reproducción humana asistida

(TRHA) (1,2), han llevado al desarrollo de programas de criopreservación de la fertilidad en estas mujeres. Debido a que los tratamientos gonadotóxicos que van a recibir pueden afectar a su reserva ovárica (3), es conveniente criopreservar ovocitos antes de recibir dichos tratamientos.

La criopreservación de ovocitos maduros es una técnica relativamente nueva que dota a las mujeres de autonomía reproductiva, es decir, la mujer podrá procrear en el futuro, como mujer sola o con la pareja elegida, utilizando los ovocitos criopreservados antes de recibir tratamiento gonadotóxico. Además, permite ampliar el potencial de fertilidad, ya que la calidad de los ovocitos disminuye con la edad (4). Estudios recientes muestran que la tasa de éxito y la eficiencia de la vitrificación de ovocitos son comparables a los resultados obtenidos con ovocitos frescos (2).

Para llevar a cabo la criopreservación, estas mujeres deben someterse a una estimulación ovárica, lo que provoca un notable aumento de los niveles de estradiol (E2) (5). Este aumento puede provocar la proliferación celular en cáncer de mama, ya que en torno al 75 % de estos tumores son sensibles a los estrógenos (6). Por este motivo se han modificado algunos de los protocolos de estimulación ovárica para incluir la administración de inhibidores de la aromatasa (IA), que disminuyen los niveles de estradiol. El protocolo más usado es el del letrozole (7), que se une de forma competitiva al grupo hemo del citocromo P450 de la aromatasa y bloquea la conversión de andrógenos C-19 en estrógenos C-18, lo que produce una disminución en la síntesis de estrógenos en todos los tejidos donde está presente. Este fármaco se ha utilizado principalmente en mujeres posmenopáusicas con cáncer de mama sensible a estrógenos, pero en la actualidad está usándose con frecuencia en mujeres premenopáusicas con infertilidad por su capacidad para mejorar la producción de la hormona folículo estimulante (FSH) para inducir la ovulación (8). No obstante, su administración podría afectar a la cantidad y a la calidad de ovocitos a criopreservar según diversos

autores (9), aunque otros autores no han descrito esta relación negativa (10-12). Tras su uso no se ha observado un aumento en la incidencia de recidiva (5) ni tampoco de malformaciones fetales (13-16).

El objetivo del estudio es determinar el efecto de los inhibidores de la aromatasa sobre el número y la calidad de los ovocitos obtenidos tras la estimulación de la ovulación en mujeres de un programa de criopreservación de la fertilidad.

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

Se trata de un estudio no experimental analítico observacional de cohortes retrospectivo. La cohorte está formada por mujeres con edades de entre 18 y 40 años que por diversas patologías o tratamientos verán afectada su capacidad reproductiva. Los datos necesarios para realizar este estudio han sido anonimizados y fue aprobado por el CEIM/CEI Provincial de Granada con fecha 24 de febrero de 2021.

### **Población de estudio**

La población del estudio fueron todas las mujeres incluidas en el programa de criopreservación de la fertilidad entre los años 2009 y 2020 de la Unidad de Reproducción del Hospital Universitario Virgen de las Nieves de Granada que cumplían los criterios de aceptación y de rechazo en este tipo de programas establecidos por la Guía de Reproducción Humana Asistida del Sistema Sanitario Público de Andalucía. En total se incluyeron 112 mujeres divididas en dos grupos: uno (59 mujeres) que incluía la administración de un inhibidor de la aromatasa en el protocolo de estimulación de la ovulación por padecer una patología estrógeno dependiente y otro (53 mujeres) que no incluía el fármaco inhibidor de la aromatasa en el protocolo de estimulación ovárica.

### ***Criterios de aceptación en el programa de criopreservación femenina***

- Edad entre 16 y 40 años y plena capacidad de obrar.
- No existencia de esterilización voluntaria.
- Consentimiento informado firmado para someterse a la criopreservación de la fertilidad.
- Pacientes con posible riesgo de pérdida de su capacidad reproductiva asociada a procesos patológicos con riesgo acreditado de fallo ovárico prematuro.
- Mujeres con posible riesgo de pérdida de su capacidad reproductiva asociada a exposición a tratamientos gametotóxicos.

### ***Criterios de rechazo en el programa de criopreservación femenina:***

- Situación clínica que desaconseje la hiperestimulación o que oriente a otras opciones terapéuticas (congelación de tejido ovárico de carácter experimental y maduración *in vitro* de ovocitos).
- Evidencia de mala reserva ovárica.
- Enfermedad genética hereditaria.
- Mujer sin menarquia.
- Imposibilidad de exploración ginecológica.
- Contraindicación ginecológica u oncológica para realizar tratamiento, exploraciones y ecografías vaginales.
- Ovarios inaccesibles.
- Enfermedades infecciosas activas: virus de la hepatitis B (VHB), virus de la hepatitis C (VHC) y virus de la inmunodeficiencia humana (VHI).
- Ausencia de informe de facultativo responsable justificando la inclusión en el programa de preservación de la fertilidad.

- Tratamiento oncológico ya iniciado. Se valorará individualmente en casos de tratamiento inmunosupresor iniciado en enfermedades autoinmunes sistémicas.

### ***Variables analizadas en la población de estudio***

Las variables que se analizaron de cada paciente fueron: edad, enfermedad causante del tratamiento gonadotóxico, protocolo de estimulación ovocitaria, protocolo de frenación y protocolo de desencadenamiento de la ovulación. También se consideraron los días de estimulación, las unidades de FSH utilizadas, el valor del estradiol y la progesterona séricos el día del desencadenamiento de la ovulación.

En cuanto a las variables del laboratorio, analizamos el número de ovocitos obtenidos de cada paciente, el número de ovocitos maduros, el número de ovocitos vitrificados y los distintos dimorfismos que estaban presentes en los ovocitos.

### **Protocolos de trabajo**

#### ***Protocolo de estimulación con letrozole***

Se administró 5 mg/día de letrozole a partir del segundo día del ciclo y a partir del cuarto día se inició el tratamiento con FSH. Cuando en los controles ecográficos se observó un folículo de 14 mm de diámetro medio o el estradiol (E2) en sangre fue  $> 250$  pg/mL, se añadió una dosis de antagonista diaria de 0,25 mg hasta el fin de la estimulación para evitar el síndrome de hiperestimulación ovárica (SHO). La ovulación se desencadenó con agonistas de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH). Tras la punción, se mantuvo el letrozole hasta que el E2 sérico fue  $< 50$  pg/mL para evitar el pico de estrógenos tras la supresión. En los tres ciclos en los que no se utilizó antagonista, la ovulación se desencadenó con la gonadotropina coriónica humana (hCG).

#### ***Protocolo de estimulación sin letrozole***

A partir del primer día del ciclo se administró FSH. En el resto del ciclo se procedió como en el protocolo con letrozole. En los dos ciclos en los que no se utilizó antagonista, la ovulación se desencadenó con hCG.

### ***Punción folicular***

A las 36 horas del desencadenamiento de la ovulación con hCG o agonista de la GnRH, se llevó a cabo el proceso de punción folicular. Las pacientes fueron anestesiadas localmente y se realizó la punción de los folículos ováricos. Se aspiró el contenido en tubos de recogida de líquido folicular (Becton Dickinson Labware®, Nueva Jersey, Estados Unidos) con un sistema de vacío a 150 mmHg de presión. Los tubos que contenían el líquido folicular llegaron al laboratorio de fecundación *in vitro* (FIV). Allí, los embriólogos buscaron mediante estereomicroscopía los complejos cúmulo-ovocito en dicho líquido y cortaron la granulosa que los ovocitos presentaban a su alrededor, dejando unos complejos cúmulo-ovocitos más pequeños. A continuación, se pasaron a una placa con medio MOPS Vitrolife® (MOPS Science Scandinavia, Gotemburgo, Suecia) y de ahí se depositaron en un medio de cultivo de maduración IVF Vitrolife® (IVF Science Scandinavia, Gotemburgo, Suecia) hasta el momento de la decumulación antes del proceso de vitrificación. Para decumular se realizó un proceso químico en el que se introdujo el complejo cúmulo-ovocito en una solución de 80 UI/mL de hialuronidasa (HYASE®, IVF Science Scandinavia, Gotemburgo, Suecia) y un proceso mecánico en el que se les hizo pasar por capilares de 125 µm.

La valoración del estado madurativo de los ovocitos (maduro en metafase II o inmaduro en metafase I o profase I) se realizó en un microscopio invertido. Los ovocitos maduros se clasificaron en alguno de estos grupos según su característica morfológica predominante:

- Citoplasma granuloso (clúster severo): granulosa centralizada.
- Acumulo de retículo endoplásmico liso.

- Espacio perivitelino con restos citoplásmicos.
- Amorfos/alteraciones en zona pelúcida y en el espacio perivitelino.
- Vacuolas.
- Otras anomalías: macroóvulos, ovocitos con más de un corpúsculo polar o corpúsculo polar gigante o presencia de cuerpos necróticos.

### ***Vitrificación ovocitaria***

Para el proceso de vitrificación en sí se utilizaron los medios de equilibrado y de vitrificación que contienen etilenglicol y 1,2-propanodiol en medio HTF (*human tubal fluid*) en concentraciones crecientes como crioprotectores permeables y sacarosa como no permeables (Origio, Dinamarca). El dispositivo de almacenamiento fue Cryoleaf (McGill Cryoleaf, Origio, Dinamarca). Los ovocitos se vitrificaron de dos en dos y se almacenaron en nitrógeno líquido a -196 °C en bombonas de almacenamiento (Air Liquide, Francia).

### **Análisis estadístico**

El análisis estadístico de los datos obtenidos en este estudio se realizó mediante los paquetes estadísticos SPSS (IBM, versión 27.0) y MedCalc (MedCalc *software*, versión 20.022). Las variables cualitativas se describieron mediante frecuencias absolutas y relativas (porcentajes). Las variables cuantitativas se describieron mediante la media, desviación estándar, mínimo y máximo. La normalidad de las variables cuantitativas se determinó por el test de Shapiro-Wilk. Se rechazó la hipótesis de normalidad por debajo de un  $p < 0,05$ . Todas las variables cuantitativas siguieron una distribución normal. Para la comparación de variables cualitativas entre los grupos de pacientes se utilizó el test de  $\chi^2$ , y en caso de no cumplirse las condiciones de validez, el test de Fisher. En caso de encontrarse significación estadística, se calculó la *odds ratio* y su intervalo de confianza al 95 % como medida del efecto. Para la comparación de

medias entre los dos grupos de pacientes establecidos, se realizó en primer lugar el test de Levene para comprobar la homogeneidad de las varianzas. Si dicho test resultaba significativo, se realizaba el test de Welch, y si el test de Levene resultaba no significativo, se calculaba la t de Student. En caso de encontrar significación se calculó la diferencia entre medias y su intervalo de confianza al 95 % como medida del efecto. Se consideró un nivel de significación en los test de contraste de hipótesis de  $p < 0,05$ .

## **RESULTADOS**

Respecto a las características clínicas de las pacientes (Tabla I), observamos que existen diferencias estadísticamente significativas en la media de edad, mayores en el grupo al que se le administra letrozole ( $28 \pm 5,9$  años frente a  $32 \pm 4,3$  años;  $p < 0,001$ ).

En cuanto a la indicación de la criopreservación de la fertilidad, podemos diferenciar dos causas principales: el cáncer de mama y otras indicaciones (tumores ováricos, linfomas, sarcomas, otros tumores, enfermedades autoinmunes y otras enfermedades). Vemos que existen diferencias estadísticamente significativas en cuanto a dicha indicación: el cáncer de mama es más frecuente en el grupo que recibe letrozole, mientras que en el grupo que no recibe este fármaco otras indicaciones son más frecuentes (OR: 1309;  $p < 0,001$ ).

En una descripción detallada de las indicaciones de la criopreservación de la fertilidad (Tabla II), podemos ver que en el 100 % de las mujeres del grupo que recibe letrozole la indicación es por cáncer de mama, mientras que en el grupo que no recibe letrozole solo en un 7,5 % de las pacientes la indicación es por cáncer de mama. La indicación más frecuente es por tumores ováricos (35,8 %), seguida de linfomas (26,4 %).

Respecto a la cancelación del ciclo de estimulación (Tabla III), podemos observar que hay un mayor porcentaje de cancelación en el grupo que no recibe letrozole (9,4 %) que en el grupo que sí lo recibe

(6,8 %), pero sin que existan diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos ( $p = 0,61$ ).

Analizando las variables de estimulación (Tabla IV), podemos ver que no existen diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos en el número de días de estimulación ( $11,6 \pm 1,9$  días frente a  $11,0 \pm 2,1$  días,  $p = 0,15$ ) ni en la concentración de progesterona alcanzada el día que se administra la hCG ( $3 \pm 6,5$  ng/mL frente a  $2,4 \pm 3,1$  ng/mL;  $p = 0,8$ ), aunque ambas medias son menores en el grupo que recibe letrozole.

Respecto al protocolo de inducción y al tipo de gonadotrofinas utilizadas, tampoco existieron diferencias estadísticamente significativas entre el grupo que recibe letrozole y el que no. Por otro lado, con respecto a las unidades de FSH administradas ( $2523,8 \pm 681,9$  UI frente a  $2155,6 \pm 855,2$  UI;  $p < 0,05$ ) y a la concentración de estradiol sérico alcanzada el día que se administra la hCG a las pacientes ( $2129,1 \pm 1296,7$  pg/mL frente a  $576,5 \pm 454,0$  pg/mL;  $p < 0,001$ ), observamos que en el grupo que recibe letrozole son significativamente inferiores que en el grupo que no se trató con letrozole.

Si analizamos los resultados de las variables de laboratorio (Tabla V), vemos que no existen diferencias estadísticamente significativas en las medias resultantes para el número de ovocitos obtenidos ( $10 \pm 8,9$  frente a  $10 \pm 6,4$ ;  $p = 1$ ), el número de ovocitos maduros ( $8,3 \pm 7,2$  frente a  $8 \pm 5,1$ ;  $p = 0,8$ ), la tasa de ovocitos maduros ( $84,4 \% \pm 17$  frente a  $82,4 \pm 19,6$ ;  $p = 0,6$ ) y el número de ovocitos vitrificados ( $8,3 \pm 7,2$  frente a  $7,4 \pm 5,2$ ;  $p = 0,46$ ).

Sin embargo, vemos que sí existen diferencias estadísticamente significativas en la dosis necesaria de FSH por número de ovocitos obtenidos ( $574,9 \pm 796,6$  UI frente a  $307,8 \pm 318,7$  UI;  $p < 0,05$ ), medida que representa la sensibilidad ovárica a la FSH, y que es menor en el grupo al que se le administra letrozole.

También existen diferencias estadísticamente significativas en la concentración de estradiol por número de ovocitos obtenidos ( $280,7$

$\pm 272,8$  pg/mL frente a  $66,1 \pm 51,3$  pg/mL;  $p < 0,001$ ) y en la concentración de estradiol por tasa de ovocitos maduros ( $2668,3 \pm 1599,7$  pg/mL frente a  $751,1 \pm 558,9$  pg/mL;  $p < 0,001$ ). Ambas medias son menores en el grupo que recibe letrozole.

Para la valoración del estado madurativo de los ovocitos se clasificaron en distintos grupos según su característica morfológica predominante. El porcentaje de dimorfismos en ovocitos maduros fue similar en los dos grupos de estudio (del 15,8 % en el grupo sin letrozole y del 12 % en el grupo que se trató con letrozole;  $p = 0,11$ ). Tampoco se observan estadísticamente significativas en la distribución de los dimorfismos entre ambos grupos (Tabla VI).

## **DISCUSIÓN**

Los resultados demuestran que la administración de inhibidores de la aromatasa no afecta a la cantidad ni a la calidad de los ovocitos obtenidos tras la estimulación de la ovulación en mujeres sometidas a criopreservación de la fertilidad. Además, el uso de letrozole aumenta la seguridad de la técnica en mujeres jóvenes con cáncer de mama, pues el aumento de los niveles de estradiol asociado a dichos protocolos será mucho menor. Gran parte de las mujeres que participan en estos programas tiene neoplasias estrógeno-dependientes.

La mayor edad observada en el grupo al que se le administra letrozole puede estar relacionada con una mayor edad media de aparición de cáncer de mama frente a las otras patologías que se incluyen en este estudio. Este resultado concuerda con lo observado por otros autores (17). Sin embargo, no coincide con los datos obtenidos en otros estudios (9-12), que no observan diferencias estadísticamente significativas en la edad entre ambos grupos. Dicha discrepancia probablemente se deba a que la población de estudio de estos autores son mujeres con cáncer de mama y el uso o no de letrozole se basa en el tipo de cáncer, de forma que las mujeres con cáncer de mama estrógeno-sensible se incluyen en el grupo al que se

le administra letrozole, mientras que aquellas con cáncer no sensible a estrógenos, en el grupo que no incluye letrozole.

El porcentaje de ciclos cancelados no se ve afectado por la utilización del letrozole, tal y como demostró Domingo et al. (9) y demuestran nuestros resultados. Sin embargo, es de destacar que el porcentaje observado de cancelación en nuestro estudio (8 %) es inferior al reportado en el último Registro Nacional de Actividad-Registro SEF del Ministerio de Sanidad, que es del 11,6 % en mujeres de programas de FIV (18). Esta menor tasa de cancelación creemos que se debe a que el objetivo de un ciclo de estimulación de la ovulación en un programa de criopreservación de la fertilidad es ofrecer la posibilidad de tener un embarazo en el futuro y, con frecuencia, no hay tiempo para realizar una segunda estimulación antes de recibir los tratamientos gonadotóxicos. Por eso, se tiende a continuar con la estimulación de la ovulación y no cancelarla, aunque se vea que la paciente está teniendo una baja respuesta.

De acuerdo con otros autores (10-12) no encontramos diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos respecto al número de días de estimulación. Sin embargo, Domingo et al. (9) sí observaron ciclos de estimulación más largos cuando se administró letrozole. Esta discrepancia podría deberse a una mayor frecuencia de pacientes portadoras de variantes patogénicas en el gen *BRCA1/2* en el grupo tratado con letrozole, ya que en estas pacientes se ha asociado con una menor respuesta a la estimulación de la ovulación (19).

Los resultados obtenidos respecto a la dosis total de FSH necesaria para la estimulación indican que esta es significativamente menor en el grupo al que se le administra letrozole. Esta diferencia puede deberse a que, al inhibir la aromatasa, se acumulan andrógenos a nivel folicular y estos pueden aumentar la sensibilidad folicular a la FSH (20) debido a que aumentan la expresión del receptor de dicha FSH (21). Por otro lado, al reducirse la síntesis de estrógenos se frena la retroalimentación negativa estrogénica, lo que aumenta la

secreción endógena de FSH (20). Esta hipótesis vendría avalada por el hecho de que la relación entre las unidades de FSH administradas y el número ovocitos obtenidos es inferior en el grupo del letrozole. Este parámetro es un indicador de la sensibilidad folicular a la FSH (21). Dichos resultados concuerdan con los obtenidos por algunos autores (11), aunque contrastan con los resultados de otros estudios (9,10,12), pero, como hemos comentado, estas diferencias pueden deberse a que son poblaciones diferentes.

Una de las variables más importantes en este estudio es la concentración de estradiol sérico alcanzada el día que se desencadena la ovulación. Como consecuencia de la utilización de un inhibidor de la aromataza, hemos visto que existen diferencias estadísticamente significativas entre el grupo que incluye letrozole y el que no: la media de esta concentración es casi cuatro veces menor al utilizar letrozole. Estos resultados son similares a los obtenidos en los principales estudios realizados sobre el uso de letrozole en cáncer de mama (9-12).

En cuanto a la cantidad y a la calidad ovocitaria (número de ovocitos obtenidos, número de ovocitos maduros, tasa de ovocitos maduros y porcentaje de dimorfismos en ovocitos maduros), en nuestro estudio no observamos diferencias estadísticamente significativas entre el grupo al que se le administra letrozole y el grupo al que no. Por tanto, según los resultados, y de acuerdo con algunos autores (10-12), el uso de letrozole no afecta negativamente a dichos parámetros. Sin embargo, diversos autores concluyeron que letrozole sí podría perjudicar a la cantidad, aunque no a la madurez ovocitaria (9). Además, Bercarie et al. (22) observaron un incremento en los dimorfismos ovocitarios tras el tratamiento con letrozole en ciclos de estimulación desencadenados con agonistas de la GnRH. Estas discrepancias podrían estar relacionadas con diferencias en los protocolos usados, ya que el desencadenamiento de la ovulación con hCG o antagonistas de GnRH en ciclos con letrozole conlleva diferencias en marcadores bioquímicos, foliculares y expresión de

genes en células de la granulosa (23). En nuestro estudio, en más del 95 % de los ciclos se desencadenó la ovulación con antagonistas de la GnRH. Cuando se han realizado estudios multivariantes sobre este punto ajustando por diferentes variables, los resultados obtenidos coinciden con los observados aquí (24), por lo que puede concluirse que el letrozole no afecta ni al número ni a la calidad de los ovocitos obtenidos en pacientes sometidos a estimulación de la ovulación en programas de criopreservación de la fertilidad femenina (25).

Dentro de las limitaciones del estudio, debemos tener en cuenta que todas las pacientes que recibieron letrozole tenían cáncer de mama, por lo que las diferencias observadas entre los grupos del estudio podrían deberse al cáncer de mama en sí y no al efecto del letrozole, aunque creemos que esto es improbable si se tiene en cuenta el efecto del letrozole en otras situaciones clínicas (8). Por otra parte, los resultados de cualquier tratamiento de estimulación de la ovulación dependen de la edad de las pacientes, por lo que los resultados suelen estratificarse según la edad de las pacientes. En este estudio esto no se ha realizado debido a la limitación de edad considerada en los criterios de aceptación puestos por la Guía de TRHA del Sistema Andaluz de Salud (SAS).

## **CONCLUSIONES**

Con este trabajo se demuestra que añadir al tratamiento de estimulación ovárica un inhibidor de la aromatasa como el letrozole permite disminuir la concentración media de estradiol sérico hasta casi cuatro veces en comparación con las pacientes que no son tratadas con un inhibidor de la aromatasa. Esto aumenta la seguridad de dichos tratamientos, principalmente en mujeres con cáncer de mama estrógeno-dependiente.

También se ha comprobado que el uso del letrozole no afecta significativamente a la cantidad ni a la calidad de los ovocitos obtenidos y tampoco aumenta el número de días necesarios para llevar a cabo la estimulación ovárica, por lo que no produciría demora

en caso de ser necesaria la administración posterior de tratamiento de quimio o de radioterapia.

## **BIBLIOGRAFÍA**

1. De Vos M, Smitz J, Woodruff TK. Fertility preservation in women with cancer. *Lancet* 2014;384:1302-10.
2. Rajabi Z, Aliakbari F, Yazdekhasli H. Female fertility preservation, clinical and experimental options. *J Reproduction Infertil* 2018;19:125.
3. Winship AL, Stringer JM, Liew SH, Hutt KJ. The importance of DNA repair for maintaining oocyte quality in response to anti-cancer treatments, environmental toxins and maternal ageing. *Hum Reprod Update* 2018;24:119-34.
4. Donnez J, Dolmans MM, Pellicer A, Díaz-García C, Sánchez Serrano M, Tryde Schmidt K, et al. Restoration of ovarian activity and pregnancy after transplantation of cryopreserved ovarian tissue: a review of 60 cases of reimplantation. *Fertil Steril* 2013;99(6):1503-13. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2013.03.030
5. Kim J, Turan V, Oktay K. Long-term safety of letrozole and gonadotropin stimulation for fertility preservation in women with breast cancer. *J Clin Endocrinol Metab* 2016;101:1364-71.
6. Cópola F, Nader J, Aguirre R. Metabolismo de los estrógenos endógenos y cáncer de mama. *Rev Médica del Uruguay* 2005; (21)1.
7. Rodgers RJ, Reid GD, Koch J, Deans R, Ledger WL, Friedlander M, et al. The safety and efficacy of controlled ovarian hyperstimulation for fertility preservation in women with early breast cancer: a systematic review. *Hum Reprod* 2017;32:1033-45.
8. Rose BI, Brown SE. A review of the physiology behind letrozole applications in infertility: are current protocols optimal? *J Assist Reprod Genet* 2020;37:2093-104.

9. Domingo J, Guillén V, Ayllón Y, Martínez M, Muñoz E, Pellicer A, et al. Ovarian response to controlled ovarian hyperstimulation in cancer patients is diminished even before oncological treatment. *Fertil Steril* 2012;97:930-4.
10. Checa Vizcaíno MA, Corchado AR, Cuadri ME, Comadran MG, Brassesco M, Carreras R. The effects of letrozole on ovarian stimulation for fertility preservation in cancer-affected women. *Reprod Biomed Online* 2012;24:606-10.
11. Oktay K, Hourvitz A, Sahin G, Oktem O, Safro B, Cil A, et al. letrozole reduces estrogen and gonadotropin exposure in women with breast cancer undergoing ovarian stimulation before chemotherapy. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:3885-90.
12. Quinn M, Cakmak H, Letourneau J, Cedars M, Rosen M. Titration of letrozole to maintain low estradiol (e2) levels during fertility preservation cycles for estrogen receptor positive (ER+) breast cancer patients does not impact ovarian response or mature oocyte yield. *FertilSteril* 2016;106:55.e127.
13. Forman R, Gill S, Moretti M, Tulandi T, Koren G, Casper R. Fetal safety of letrozole and clomiphene citrate for ovulation induction. *J Obstet Gynaecol Can* 2007;29:668-71.
14. Legro RS, Brzyski RG, Diamond MP, Coutifaris C, Schlaff WD, Casson P, et al. letrozole versus clomiphene for infertility in the polycystic ovary syndrome. *N Eng J Med* 2014;371:119-29.
15. Sharma S, Ghosh S, Singh S, Chakravarty A, Ganesh A, Rajani S, et al. Congenital malformations among babies born following letrozole or Clomiphene for infertility treatment. *PLoS* 2014;9:e108219.
16. Tulandi T, Martin J, Al-Fadhli R, Kabli N, Forman R, Hitkari J, et al. Congenital malformations among 911 newborns conceived after infertility treatment with letrozole or clomiphene citrate. *Fertil Steril* 2006;85:1761-5.
17. Druckenmiller S, Goldman KN, Labella PA, Fino ME, Bazzocchi A, Noyes N. Successful Oocyte Cryopreservation in

- Reproductive-Aged Cancer Survivors. *Obstetrics & Gynecology* 2016;127:474-80.
18. Cuevas I, Prados F, Pons I, de-Andrés M, Sánchez-Castro L, Lafuente R, et al. Registro Nacional de Actividad-Registro de la Sociedad Española de Fertilidad de fecundación *in vitro* e inyección espermática intracitoplasmática. Años 2016 y 2017. *Medicina Reproductiva y Embriología Clínica (ASEBIR)* 2020;7:5-15.
  19. Oktay K, Kim JY, Barad D, Babayed SN. Association of BRCA1 mutations with occult primary insufficiency: a possible explanation for the link between infertility and breast/ovarian cancer risks. *J Clin Oncol* 2010;28:240-4.
  20. Mitwally MFM, Casper RF. Aromatase Inhibition Reduces the Dose of Gonadotropin Required for Controlled Ovarian Hyperstimulation. *JSGI* 2004;11:406-15.
  21. Weil S, Vendola K, Zhou J, Bondy CA. Androgen and Follicle-Stimulating Hormone Interactions in Primate Ovarian Follicle Development. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:2951-6.
  22. Bercaire LMN, Cavagna M, Donadio NF, Rocha AR, Portela R, Alves VR, et al. The impact of letrozole administration on oocyte morphology in breast cancer patients undergoing fertility preservation. *JBRA Assist Reprod* 2020;24:257-64.
  23. Goldrat O, Van Den Steen G, González-Merino E, Dechène J, Gervy C, Delbaere A, et al. letrozole-associated controlled ovarian hyperstimulation in breast cancer patients versus conventional controlled ovarian hyperstimulation in infertile patients: assessment of oocyte quality related biomarkers. *Reprod Biol Endocrinol* 2019;17:3.
  24. Huber M, Hadziosmanovic N, Berglund L, Holte J. Using the ovarian sensitivity index to define poor, normal, and high response after controlled ovarian hyperstimulation in the long gonadotropin-releasing hormone-agonist protocol: suggestions

for a new principle to solve an old problem. Fertility and Sterility 2013;100:1270-6.

25. Ben-Haroush A, Wertheimer A, Klochendler E, Sapir O, Shufaro Y, Oron G. Effect of letrozole added to gonadotropins in controlled ovarian stimulation protocols on the yield and maturity of retrieved oocytes. Gynecol Endocrinol 2019;35:324-7.

**Tabla I.** Características clínicas de las pacientes analizadas

	<b>Letrozole No (n = 53)</b>	<b>Letrozole Sí (n = 59)</b>	<b>Diferencia (medias)</b>	<b>OR (IC 95 %)</b>	<b>p</b>
Edad	28 ± 5,9 (18-37)	32 ± 4,3 (23-40)	4 ± 0,97 (2,1-5,9)		< 0,001
Indicación					
Cáncer de mama	7,5 % (4)	100 %		1309 (68,8-24910,5)	< 0,001
Otras	92,5 % (49)	0			1

Diferencia: diferencia absoluta entre medias.

**Tabla II.** Descripción de las indicaciones de la criopreservación de la fertilidad.

	<b>Letrozole No (n = 53)</b>	<b>Letrozole Sí (n = 59)</b>
Cáncer de mama	7,5 % (4)	100 % (59)
Tumores ováricos	35,8 % (19)	

Cáncer de ovario	17 % (9)			
Teratoma	18,9 % (10)			
Linfomas	26,4 % (14)			
Linfoma de Hodking	20,8 % (11)			
Linfoma no Hodking	5,7 % (3)			
Sarcomas	11,3 % (6)			
Osteosarcoma	5,7 % (3)			
Rabdomiosarcoma	3,8 % (2)			
Sarcoma sinovial	1,9 % (1)			
Otros tumores	3,8 % (2)			
Ependimoma	1,9 % (1)			
Melanoma	1,9 % (1)			
Enfermedades autoinmunes	5,7 % (3)			
Enfermedad de Addison	3,8 % (2)			
Dermatopolimiositis	1,9 % (1)			
Otras enfermedades	9,4 (5)			
Granulomatosis de Wegener	1,9 % (1)			
Histiocitosis	1,9 % (1)			
Endometrioma	1,9 % (1)			
Otras	3,8 % (2)			
Total (n = 112)	47,3 % (53)	52,7 % (59)		

**Tabla III.** Porcentaje de cancelación de ciclos de estimulación

	<b>Letrozole No (n = 53)</b>	<b>Letrozole Sí (n = 59)</b>	<b>OR (IC 95 %)</b>	<b>p</b>
Punción folicular	90,6 % (48)	93,2 % (55)	1,4 (0,4- 5,6)	0,61

Ciclos cancelados	9,4 % (5)	6,8 % (4)		
-------------------	--------------	--------------	--	--

**Tabla IV.** Variables de estimulación de la ovulación

	<b>Letrozole No (n = 53)</b>	<b>Letrozole Sí (n = 59)</b>	<b>Diferencia (medias)</b>	<b>OR (IC 95 %)</b>	<b>p</b>
<b>Días de Estimulación</b>	11,6 ± 1,9 (8 -19)	11,0 ± 2,1 (3-16)	0,6 ± 0,4 (0,2-1,4)		0,15
<b>Unidades de FSH (UI)</b>	2523,8 ± 681,9 (1450-3600)	2155,6 ± 855,2 (225-4800)	368,2 ± 166,7 (36,9-699,5)		< 0,05
<b>Estradiol en el día del desencadenamiento ovulación (pg/mL)</b>	2129,1 ± 1296,7 (42-5767)	576,5 ± 454,0 (40-2498)	1552,6 ± 219,9 (1113,5-1991,7)		< 0,001
<b>Progesterona (ng/mL)</b>	3 ± 6,5 (0,3-19,1)	2,4 ± 3,1 (0,6-9)	0,6 ± 2,7 (-5,2-6,4)		0,8
<b>Protocolo de frenación</b>					
Agonista	3,8 % (2)	5,1 % (3)			
Antagonista	96,2 % (51)	94,9 % (56)		0,7 (0,1-4,6)	0,74
<b>Tipo DE FSH</b>					
Recombinante	90,6 % (48)	93,2 % (55)			0,61
Urinaría	9,4 % (5)	6,8 % (4)		1,4 (0,4-	

Diferencia: diferencia absoluta entre medias; UI: unidades internacionales; FSH: hormona folículo estimulante; hCG: gonadotropina coriónica humana.

**Tabla V.** Variables de laboratorio

	<b>Letrozole No (n = 53)</b>	<b>Letrozole Sí (n = 59)</b>	<b>Diferencia (IC 95 %)</b>	<b>p</b>
<b>Número de ovocitos obtenidos</b>	10 ± 8,9 (0-46)	10 ± 6,4 (0-26)	0 ± 1,5 (-3,0-3,0)	1
<b>Número de ovocitos maduros (MII)</b>	8,3 ± 7,2 (0-34)	8 ± 5,1 (0-20)	0,3 ± 1,2 (-2,1-2,7)	0,8
<b>porcentaje de ovocitos maduros</b>	84,4 ± 17 (42,9-100)	82,4 ± 19,6 (0-100)	2 ± 3,8 (-5,5-9,5)	0,6
<b>Número de ovocitos vitrificados</b>	8,3 ± 7,2 (0-34)	7,4 ± 5,2 (0-20)	0,9 ± 1,2 (-1,5-3,3)	0,46
<b>Unidades FSH administradas (UI) / Número de ovocitos</b>	574,9 ± 796,6 (39,1-3525)	307,8 ± 318,7 (63,2- 2100)	267,2 ± 112,5 (44,2-490,2)	< 0,05
<b>ESTRADIOL / Nº OVOCITOS (pg/mL)</b>	280,7 ± 272,8 (44-1141)	66,1 ± 51,3 (15-312)	214,6 ± 44,7 (125,3-303,9)	< 0,00 1
<b>Estradiol / porcentaje de ovocitos maduros (pg/mL)</b>	2668,3 ± 1599,7 (661-6411)	751,1 ± 558,9 (140- 2495)	1917,2 ± 280,9 (1355,6- 2478,8)	< 0,00 1

UI: unidades internacionales.

**Tabla VI.** Calidad ovocitaria

	<b>Letrozole No</b>	<b>Letrozole Sí</b>	<b>OR (IC 95 %)</b>	<b>p</b>
<b>Total ovocitos maduros</b>	399	441	1,37 (0,93- 2,03)	0,11
<b>Total dimorfismos</b>	15,8 % (63/399)	12 % (53/441)		
Acúmulos de retículo endoplásmico liso	12,7 % (8/63)	7,5 % (4/53)		
Espacio perivitelino con restos citoplásmicos / debris	3,2 % (2/63)	5,7 % (3/53)		
Amorfos / alteraciones en zona pelúcida y en espacio perivitelino	23,8 % (15/63)	11,3 % (6/53)		
Vacuolas	15,9 % (10/63)	20,8 % (11/53)		
Anormal	15,9 % (10/63)	13,2 % (7/53)		