DEPARTAMENT DE PEDIATRIA, OBSTETRICIA I GINECOLOGIA

CICLOS DE FECUNDACIÓN IN VITRO Y MADURACIÓN FINAL CON AGONISTA GnRH: EXPLORANDO DOSIS BAJAS DE hCG PARA SOPORTE DE FASE LÚTEA.

JUAN CARLOS CASTILLO FARFÁN

UNIVERSITAT DE VALÈNCIA
Servei de Publicacions
2010

Aquesta Tesi Doctoral va ser presentada a València el dia 5 de novembre de 2010 davant un tribunal format per:

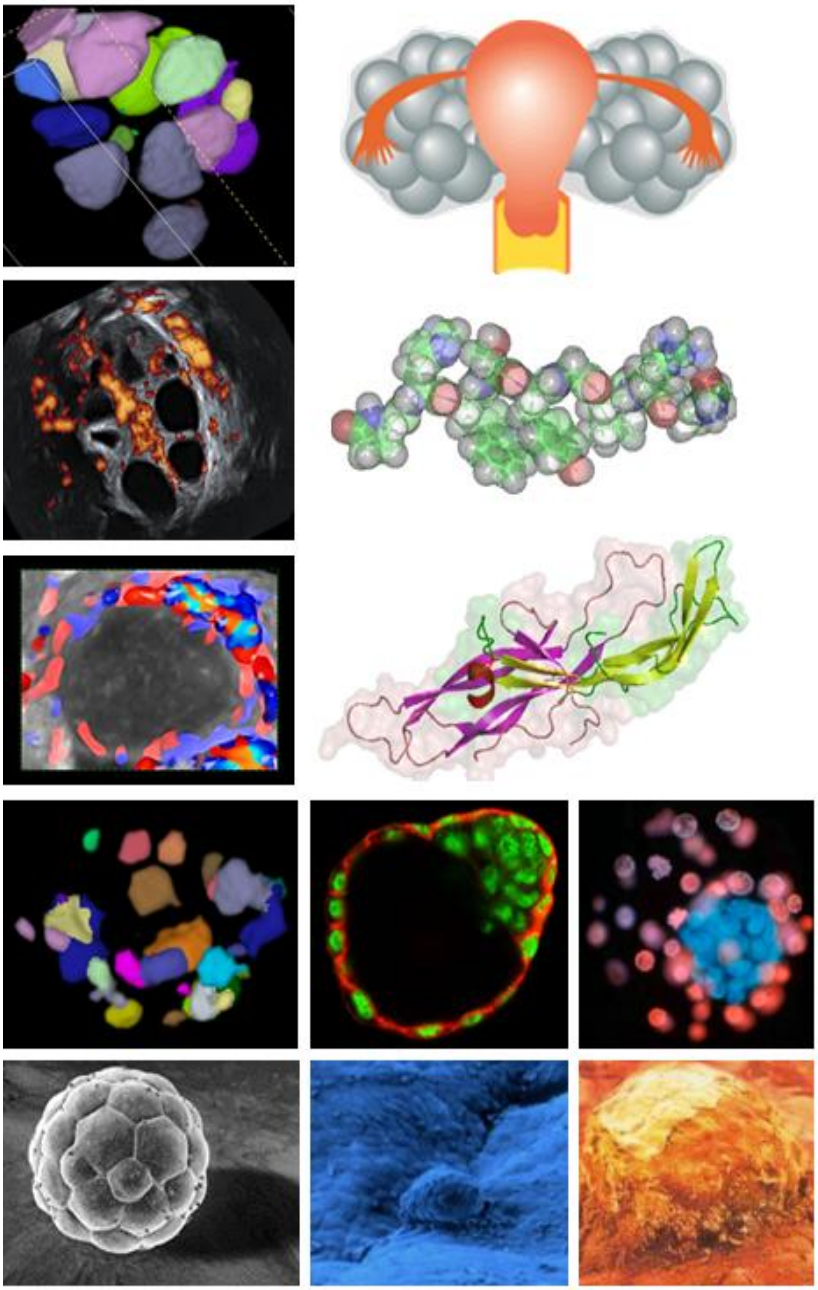
- Dr. Lorenzo Abad Martínez
- Dr. Manuel Escudero Fernández
- Dr. Francisco Ugalde Bonilla
- Dr. Alfredo Perales Marin
- Dr. José Remohi Gimenez

Va ser dirigida per:
Dr. Fernando Bonilla Musoles
Dr. Miguel Dolz Arroyo

©Copyright: Servei de Publicacions
Juan Carlos Castillo Farfán

Dipòsit legal: V-3367-2011
I.S.B.N.: 978-84-370-7996-7
Edita: Universitat de València
Servei de Publicacions
C/ Arts Gràfiques, 13 baix
46010 València
Spain
Telèfon:(0034)963864115

CICLOS DE FECUNDACION IN VITRO Y MADURACIÓN FINAL CON AGONISTA GNRH: EXPLORANDO DOSIS BAJAS DE HCG PARA SOPORTE DE FASE LÚTEA



VNIVERSITAT DE VALÈNCIA

JUAN C. CASTILLO

TESIS DOCTORAL

DEPARTAMENTO DE OBSTETRICIA Y GINECOLOGIA
VALENCIA, ESPAÑA 2010

Directores:
Prof. Fernando Bonilla-Musoles
Dr. Miguel Dolz Arroyo

Tesis doctoral

Diseño de cubierta: Juan Carlos Castillo Farfán
Imágenes de cubierta: De izquierda a derecha en orden descendente: Ovario hiperestimulado en modo ecográfico AVC, esquema del síndrome de hiperestimulación ovárica, ultrasonido Doppler de ovario hiperestimulado, esquema tridimensional de la molécula GnRH, Doppler de cuerpo lúteo, esquema de la molécula de hCG, ovario con alto recuento de folículos antrales en modo ecográfico AVC, esquemas de embriones en estadio de blastocisto, embrión en proceso de adhesión endometrial. Ilustraciones cortesía del Prof. Fernando Bonilla-Musoles.

Ciclos de fecundación *in vitro* y maduración final con agonista GnRH: Explorando dosis bajas de hCG para soporte de fase lútea

Juan Carlos Castillo
jccastillo@fiv-valencia.es

Departamento de Pediatría, Obstetricia y Ginecología
UNIVERSIDAD DE VALENCIA

Directores: **Prof. Fernando Bonilla-Musoles**
Dr. Miguel Dolz Arroyo

Valencia, 18 de enero de 2010

VNIVERSITAT DE VALÈNCIA

Prof. Dr. Dn. Fernando María Bonilla-Musoles

Catedrático de Obstetricia y Ginecología y Jefe de Departamento del Servicio de Pediatría, Obstetricia y Ginecología del Hospital Clínico Universitario de Valencia.

CERTIFICO QUE:

El trabajo de tesis doctoral titulado "**Ciclos de fecundación *in vitro* y maduración final con agonista GnRH: Explorando dosis bajas de hCG para soporte de fase lútea",** ha sido realizado íntegramente, bajo mi dirección compartida con el Dr. Dn. Miguel Dolz Arroyo por Dn. Juan Carlos Castillo Farfán, y reúne las condiciones necesarias para ser defendida públicamente ante la comisión correspondiente para optar al grado de doctor.

Valencia, 22 de junio de 2010

FDO Prof. Dr. Dn. Fernando María Bonilla-Musoles

VNIVERSITAT DE VALÈNCIA

Dr. Dn. Miguel Dolz Arroyo

Doctor en Medicina y Médico Adjunto del Servicio de Pediatría, Obstetricia y Ginecología del Hospital Clínico Universitario de Valencia.

CERTIFICO QUE:

El trabajo de tesis doctoral titulado "**Ciclos de fecundación *in vitro* y maduración final con agonista GnRH: Explorando dosis bajas de hCG para soporte de fase lútea",** ha sido realizado íntegramente, bajo mi dirección compartida con el Prof. Dr. Dn. Fernando María Bonilla-Musoles por Dn. Juan Carlos Castillo Farfán, y reúne las condiciones necesarias para ser defendida públicamente ante la comisión correspondiente para optar al grado de doctor.

Valencia, 22 de junio de 2010

FDO Dr. Dn. Miguel Dolz Arroyo

Abstract

Human gonadotropin chorionic hormone (hCG) is widely used to induce final follicular maturation in *in vitro* fertilization cycles (IVF). However, its use is closely related to Ovarian Hyperstimulation Syndrome (OHSS) genesis, especially when certain risk factors are present, mainly a high number of recruited follicles. This risk may be drastically reduced, substituting hCG by a GnRH agonist for triggering in GnRH antagonist cycles. Nonetheless, this protocol is linked to high rates of early pregnancy loss due to a deficient luteal phase. Corpus luteum function is seriously compromised when a GnRH agonist is used for triggering (luteolysis), however, the potent luteotrophic action of hCG may be of benefit if low doses are employed for supplementing luteal phase, without increasing OHSS risk.

In an effort to reduce early pregnancy losses associated to the use of GnRH agonist for triggering, this PhD. Thesis focuses on the use of low doses of hCG as luteal phase support with the aim of rescue corpus luteum function, normalizing pregnancy and on-going pregnancy rates; and at the same time reducing the frequency of OHSS in high responders to ovarian stimulation in IVF cycles.

Resumen

La hormona gonadotropina coriónica humana (hCG) se emplea de forma rutinaria para inducir la maduración final ovocitaria en ciclos de fecundación *in vitro* (FIV). Sin embargo, su utilización está relacionada con la aparición del Síndrome de Hiperestimulación Ovárica (SHO), especialmente cuando ciertos factores de riesgo están presentes, principalmente la presencia de un número elevado de folículos. Este riesgo puede ser drásticamente disminuido sustituyendo la hCG por un agonista GnRH como inductor de la maduración final en ciclos FIV con antagonistas GnRH. Aunque, este uso se asocia a una alta tasa de aborto temprano ocasionada por una fase lútea deficiente. La función del cuerpo lúteo se ve seriamente comprometida con el empleo del agonista GnRH (luteólisis), sin embargo, la potente acción luteotrópica de la hCG puede ser beneficiosa empleando dosis pequeñas como suplemento en la fase lútea y sin incrementar el riesgo de SHO.

En un esfuerzo por reducir la tasa de abortos clínicos asociada al empleo de agonista GnRH, la presente tesis estudia la utilización de pequeñas dosis de hCG como suplemento de la fase lútea con el objetivo de rescatar el cuerpo lúteo, normalizar las tasas de embarazo y gestación evolutiva; además de reducir la presentación del SHO en la paciente con alta respuesta a la estimulación ovárica en ciclos FIV.

Resum

L'hormona gonadotropina coriónica humana (hCG) s'utilitza de forma rutinària per a induir la maduració final ovocitaria en cicles de fecundació *in vitro* (FIV). Malgrat que el seu ús esta relacionat amb la aparició del Síndrome d'Hiperestimulació Ovàrica (SHO), especialment quan hi son presents certs factors de risc, principalment la presencia de un nombre elevat de folículs. Aquest risc pot ser dràsticament disminuït substituint la hCG per un agonista de la GnRH com inductor de la maduració final en cicles de FIV amb antagonistes de la GnRH. Encara que aquest ús s'associa a una alta taxa d'avortament primerenc ocasionat per un a fase lútia deficient. La funció del cos luti es veu sèriament compromesa amb l'ús del agonista de la GnRH (lutilisis), malgrat que la potent acció lutitròpica de la hCG pot ser beneficiosa utilitzant dosis mínimes com a suplement en la fase lútia i sense incrementar el risc de SHO.

En un esforç per reduir la taxa d' avortaments associada a l'usança d'agonistes de la GnRH, la present tesis estudia l'ús de dosis mínimes de hCG com a suplement de la fase lútia amb l'objectiu de rescatar el cos luti, normalitzar les taxes d'embaràs i gestació evolutiva; a mes a mes de reduir la presentació del SHO en la pacient amb una alta resposta a l'estimulació ovàrica en cicles de FIV.

Palabras clave

Key words:

GnRH agonist, GnRH antagonist, hCG, Ovarian Hyperstimulation Syndrome

Palabras clave:

Agonista GnRH, antagonista GnRH, hCG, Síndrome de hiperestimulación ovárica.

Paraules clau:

Agonista GnRH, antagonista GnRH, Síndrome d'Hiperestimulació Ovàrica

Datos de la tesis

Título de la tesis:	Ciclos de fecundación *in-vitro* y maduración final ovocitaria con agonista GnRH: Explorando dosis bajas de hCG para soporte de fase lútea.
Presentada por:	*Doctorando* Juan Carlos Castillo Farfán
Dirigida por:	*Catedrático* Fernando Bonilla-Musoles
	Doctor Miguel Dolz Arroyo
Universidad:	Universidad de Valencia
Departamento:	Pediatría, Obstetricia y Ginecología
Programa de Doctorado:	Obstetricia y Ginecología II
	Memoria para optar al grado de Doctor en Medicina y Cirugía
Defensa:	Valencia, 05 de noviembre de 2010

Dedicado

A mi esposa Sandra:

Por ser una estupenda compañera de viaje y por darte cuenta de que yo soy yo y tú eres tú, pero cuando tú y yo nos encontramos, es hermoso.

A mi madre Mabel:

Por ser la luz que guía mis pasos.

A mi hija Carolina:

Una proyección de mí; espero que de todo lo bueno de mí.

A mi padre Gonzalo, mis hermanos César y Ma. Laura y mi familia:

Por el apoyo incansable en el trayecto recorrido hasta llegar aquí ;-)

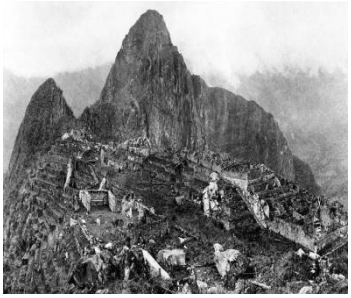
A Pedro Juan Molina Moreno:

Tu tesis doctoral….. un faro y un estímulo.

Agradecimientos

El viaje iniciado para desarrollar esta tesis, simula en gran medida, un recorrido incierto hacia el descubrimiento de nuevos mundos o de paraísos perdidos; y se constituye por eso mismo en un excitante desafío.

En Perú, mi país natal, en el año 1911, un explorador norteamericano expuso al mundo una de las maravillas modernas de la naturaleza, perdida durante siglos en la agreste geografía peruana: el santuario histórico de Machu Picchu.



Cierro los ojos e imagino que soy un novato explorador en busca de ancestrales ciudadelas perdidas….

Emprendo mi viaje bajo la guía del experimentado explorador Catedrático Don Fernando Bonilla-Musoles y el Doctor Miguel Dolz, bajo su atenta mirada percibo que esta dura empresa es posible; comparto con ellos el plan de ruta, alistamos los implementos necesarios para el recorrido, repasamos el trayecto a seguir y los peligros a evitar; a ellos mi más sincero agradecimiento. Gracias igualmente a Bienvenido Evangelio, cuyo primer bosquejo del mapa a recorrer fue de valiosa ayuda para este inexperto explorador.

Iniciamos el camino, sorteando valles y montañas, ríos y quebradas, picos y barrancos; y durante el trayecto muchas veces las fuerzas flaquean y el ánimo disminuye, es en esos momentos donde la mano amiga de compañeros y colaboradores se hace imprescindible; gracias: Lorenzo Abad, Ximo Moreno, Lolita Moreno, Eva Casañ, Luis Gijón, Amparo Montoliu, Salud Maestre, Oscar Caballero por renovarme el ánimo, por su ayuda inestimable y por hacerme corregir el rumbo cuando la espesura del bosque me hacía perder el sendero correcto.

Un viaje de estas características no sería posible sin los implementos necesarios: una brújula que dirigiera nuestros pasos, tiendas de campaña para guarecernos de las inclemencias del clima y cantimploras para calmar nuestra sed. Gracias a todo el personal de la Unidad de Reproducción Humana 8va planta del Hospital Clínico Universitario de Valencia por prodigarnos los implementos y la logística necesaria para el largo trayecto.

Mención y agradecimiento especial merece el gran expedicionario danés Dr. Peter Humaidan por su asesoría y consejos desinteresados durante mi travesía en la indómita selva. *Thanks a lot* Peter.

A lo lejos se atisba un montículo que asemeja antiguas ruinas. Parece que mi recorrido llega a su fin. ¿Serán los restos de civilizaciones ancestrales que los ojos del mundo volverán a apreciar? Pronto nos daremos cuenta.

Mil gracias a cada uno de vosotros amigos.

Valencia, 22 de junio de 2010

Juan Carlos Castillo

Las imágenes utilizadas forman parte de los archivos de contenido libre de la Fundación Wikimedia. Fuente:

http://es.wikipedia.org/wiki/Machu_Picchu[1][2][3][4]

[1] Machu Picchu al arribo de Hiram Bingham en 1911.
[2] Vista de las ruinas de Machu Picchu tomada desde la montaña Huayna Picchu.
[3] Amanecer nublado sobre Machu Picchu desde Inti Punku, en el tramo final del Camino Inca del sur de la ciudad.
[4] Santuario histórico de Machu Picchu. Patrimonio de la Humanidad – UNESCO. Vista de sur a norte. Al fondo el Cerro Huayna Picchu. La imagen está tomada desde lo alto del sector agrícola, al sur del complejo.

Índice general

1. Introducción

1.1. Justificación del estudio ……2

1.2. Exposición del problema ……3

1.3. Situación actual ……5

1.4. Evolución de la investigación ……11

1.5. Estructura y tipografía de la tesis ……..13

1.5.1. Organización ……..13

1.5.2. Tipografía empleada ……14

2. Descripción de sustancias clave y sus propiedades

2.1. La GnRH nativa ……18

2.2. Los análogos de GnRH ……20

2.2.1. Agonistas de la GnRH ……20

2.2.2. Antagonistas de la GnRH ……24

2.2.3. Análogos de GnRH. Estado actual en TRA …….27

2.3. Conclusiones del capítulo ……..33

3. La alta respuesta: Individualización de pacientes y protocolos

3.1. Introducción ……36

3.2. Recuento de folículos antrales y predicción de la respuesta ovárica……37

3.3. Alta respuesta. Definición ……..44

3.4. Manejo de la alta respondedora. Estado actual …….45

3.4.1. Identificación de la alta respondedora ……46

3.4.2. Actuación clínica frente a la alta respuesta …….47

3.5. Conclusiones del capítulo ……56

4. Diseño del estudio

4.1. Hipótesis de trabajo ……60

4.2. Objetivo ……61

4.3. Diseño del estudio ……62

4.4. Pacientes ……63

4.4.1. Criterios de inclusión ……63

4.4.2. Criterios de exclusión ……63

4.4.3. Grupos de tratamiento ……63

4.5. Lugar de ejecución ……64

4.6. Material y métodos ……65

4.6.1. Protocolo de estimulación ……65

4.7. Aspiración ovocitaria, cultivo, transfer de embriones ……69

4.8. Embarazo ……70

4.9. Clasificación del SHO ……70

4.10. Monitorización del ciclo de estimulación ……71

4.10.1. Ultrasonido ……71

4.10.2. Inducción de la ovulación ……72

4.11. Analítica hormonal ……72

4.12. Criterios de valoración ……72

4.12.1. Principales ……73

4.12.2. Secundarios ……73

4.13. Análisis estadístico ……73

4.14. Información e inclusión de pacientes ……74

4.15. Ética ……74

5. Resultados

5.1. Datos generales ……78

5.2. Resultado clínico ……79

5.3. Resultado reproductivo ……79

5.4. SHO ……80

6. Discusión 85

7. Conclusiones

7.1. Conclusiones finales ……98

7.2. Resumen de las aportaciones ……..99

7.3. Publicaciones y ponencias derivadas ……100

7.4. Investigaciones futuras ……..101

A. Abreviaturas 105

B. Glosario de términos 109

Bibliografía 115

Índice de figuras 157

Índice de tablas 159

Capítulo 1

Introducción

<<Y los bendijo Dios, y les dijo: Fructificad y multiplicaos; llenad la tierra, y sojuzgadla…..>>

— La Santa Biblia: Génesis 1:28.

Para la gran mayoría de parejas, seguir este mandato divino no representa problema alguno. Sin embargo, una minoría asiste al pasar de los años sin lograr la meta que para otras parejas es tan sencilla: la capacidad de concebir. La ciencia médica, en muchos casos ha hallado la forma de ayudarlos a concebir de manera natural. Desafortunadamente, persiste un grupo para el cual reproducirse sin asistencia médica especializada es imposible. El campo de la reproducción humana asistida y sus nuevas tecnologías han conseguido romper barreras y traer armonía y felicidad a muchas familias.

1.1 Justificación del estudio

El desarrollo en el campo de la reproducción humana en la última década ha sido vertiginoso, innovaciones como la inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI), el diagnóstico genético pre-implantancional (DGP), las células madre y los avances en clonación humana terapéutica, llenan muchas páginas de prestigiosas revistas científicas hoy en día. Sin embargo, como todo gran avance científico, de la mano a sus innegables beneficios, caminan también sus complicaciones; durante el desarrollo de esta tesis, nos centraremos particularmente en la prevención de la patología del cuerpo lúteo hiperfuncionante - el síndrome de hiperestimulación ovárica (SHO).

La etiología exacta del SHO permanece aún por dilucidar, y hasta ese momento, nuestro esfuerzo se ven enfocado sobretodo a la prevención. Es de suma importancia en esta estrategia intentar "predecir" el tipo de respuesta que tendrá la paciente en base a su historial médico, examen físico y ayuda de imágenes y laboratorio y con base en ello indicar el tipo de protocolo y dosis individual a cada paciente. Sin embargo, muchas veces nos encontramos ante el hallazgo de un ovario que responde produciendo excesivos folículos y en este punto las estrategias empleadas han sido variadas:

disminución o cese de las dosis de FSH – el *coasting*[5]-, disminución de la dosis de hCG para maduración final, reemplazo de hCG por otros fármacos y finalmente la cancelación del ciclo.

El contexto expuesto se vería favorecido de nuevas estrategias destinadas a disminuir la presentación del SHO en aquellas pacientes especialmente susceptibles, como las que alcanzan un desarrollo multifolicular a los protocolos de estimulación.

1.2 Exposición del problema

Desde los inicios de la estimulación ovárica con fármacos como la hMG[6], se observó que la pacientes sometidas a similares dosis podrían se agrupadas en tres clases de acuerdo a su respuesta: baja respuesta, respuesta intermedia y alta respuesta [Ferraretti 1983]. El perfil de la paciente perteneciente a este último grupo es generalmente una paciente joven, con síndrome o evidencia ultrasonográfica de ovarios poliquísticos, generalmente de buen pronóstico de gestación [Kligman 2001] y con una tendencia

[5] *Coasting*: Técnica que consiste en suspender la administración de gonadotropinas antes de la ovulación para prevenir el SHO (Véase Capítulo 3).
[6] hMG: Siglas en inglés para Gonadotropina Menopáusica humana. Fármaco conteniendo gonadotropinas extraidas de la orina de mujeres menopáusicas.

incrementada a desarrollar SHO [Smitz 1990]. Por el hecho de tratarse mayormente de pacientes jóvenes, la calidad ovocitaria suele ser óptima, lo que favorece la tasa de implantación y el correspondiente riesgo de embarazo múltiple [Antman 2002].

Una paciente con alta respuesta puede ser identificada durante ciclos de IA (inseminación artificial) o ciclos de FIV-ICSI / TE[7]. En el primer caso se procede a cancelación o generalmente se reconvierte hacia FIV. De modo que en la gran mayoría de ocasiones el destino final del manejo de una alta respuesta culminará en punción ovárica y transferencia de embriones.

Existen estudios que han demostrado la eficacia de reemplazar la hCG por una dosis alta de agonistas de la GnRH[8] para inducir la maduración final ovocitaria logrando de esta manera una disminución sustancial de la presentación de SHO [Kol 2000]. Sin embargo, el beneficio alcanzado en este aspecto se ve ensombrecido debido a la disminuida tasa de embarazo evolutivo con esta estrategia [Griesinger 2006].

¿Qué explica que una paciente joven, de buen pronóstico, en la cual se emplea un fármaco con demostrada efectividad en inducir maduración ovocitaria [Fauser 2002] y que previene la ocurrencia de SHO, se evidencie una disminución en sus opciones de embarazo evolutivo? La respuesta está en el cuerpo lúteo [Beckers 2003].

---

[7] Fecundación *in vitro* o ICSI con transferencia embrionaria.
[8] GnRH: Siglas en inglés para Hormona Liberadora de Gonadotropinas.

La clave de los agonistas de la GnRH para prevenir el SHO es la inducción de lúteolisis[9]; sin embargo, es esta misma propiedad la que ocasiona una seria alteración de la fase lútea que interferiría con la implantación embrionaria. El reto es por tanto, encontrar la manera de complementar eficazmente las propiedades de este fármaco con un adecuado soporte de la fase lútea.

1.3 Situación actual

En los ciclos de estimulación ovárica para técnicas de reproducción asistida (TRA), la hCG se emplea para una inducir la maduración final ovocitaria y establecer una adecuada sincronización para realizar la punción ovárica y captura de los ovocitos. Durante décadas esta sustancia ha sido utilizada como sustituto del pico natural de LH aprovechando su amplia disponibilidad farmacológica y similitudes estructurales y funcionales. hCG y LH comparten la misma subunidad α y 85% de los amino ácidos de subunidad β; uniéndose al mismo receptor [Kessler 1979]. Sin embargo, la vida media de la LH es de aproximadamente 60 minutos [Yen 1968], mientras que para la hCG en dosis utilizadas en TRA– 5000 a 10,000 UI – ocho días tras su administración, 10% de

[9] Degeneración del cuerpo lúteo

la actividad máxima se encuentra aún presente [Mannaerts 1998] (Fig. 1.1).

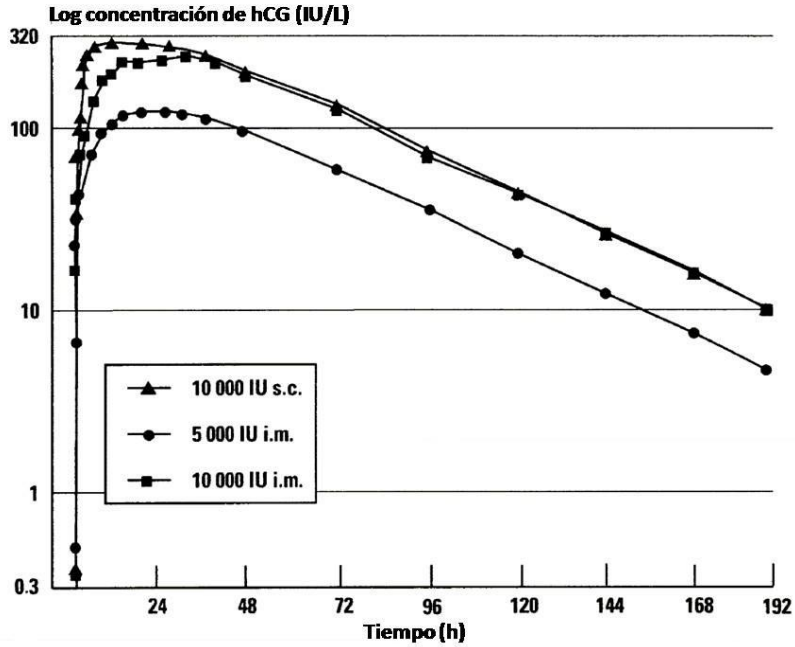


Figura 1.1: Concentración sérica de hCG tras la administración i.m. o s.c. (adaptado de [Mannaerts 1998]).

El tiempo de acción prolongado de la hCG parece ser un factor capital en la aparición del síndrome de hiperestimulación ovárica, una complicación potencialmente mortal que ocurre en la fase lútea luego de la estimulación ovárica debido al efecto positivo sostenido de la hCG sobre los cuerpos lúteos formados. El proceso patológico usualmente se intensifica si se logra la gestación, debido

a que la elevación endógena de hCG sobre-estimula los cuerpos lúteos. En caso de un inminente SHO, frecuentemente se realiza el *coasting*, alternativamente la inducción de la maduración final se realiza con una dosis reducida de hCG, i.d., 5000 UI, seguido de la congelación de todos los embriones obtenidos sin realizar transferencia. Con menos frecuencia el ciclo es cancelado y no se administra hCG. En los ciclos naturales el SHO es prácticamente inexistente, se presume debido al menor tiempo de vida media de la LH endógena liberada a mitad del ciclo.

Como alternativa a la hCG, los agonistas de la GnRH se han empleado para inducir liberación endógena de LH (conjuntamente con FSH) reproduciendo el pico fisiológico de gonadotropinas que ocurre en la mitad del ciclo menstrual [Nakano 1973]. Numerosos estudios demuestran que los agonistas GnRH son comparables a la hCG para inducir la maduración final ovocitaria y ovulación [Gonen 1990][Itskovitz 1991][Imoedemhe 1991][Segal 1992].

El pico natural de LH consta de tres fases y dura unas 48 horas [Hoff 1983]. En contraparte, la liberación de LH inducida por los agonistas GnRH consta de sólo dos fases [Itskovitz 1991] (Véase Capítulo 2). A pesar de ser mayor la duración del pico natural de LH, la liberación ocasionada por los agonistas GnRH es igualmente efectiva para maduración final ovocitaria y ovulación [Gonen 1990][Itskovitz 1991].

Una posible ventaja de la aplicación de un bolo de agonistas para inducir la maduración final ovocitaria es la liberación conjunta de FSH y LH, simulando lo que ocurre en un ciclo natural. El rol exacto de la liberación intercíclica de FSH está aún por determinarse, sin embargo se ha descrito que induciría la formación de receptores para LH en las superficie de las células de la granulosa luteinizadas optimizando de esta forma la función del cuerpo lúteo; además en modelos mamíferos se ha demostrado que interviene en la maduración nuclear ovocitaria reanudando la meiosis [Zhang 2009][Zelinski 1995][Yding 1999] y actuando sobre los enlaces intercelulares del cúmulo permitiendo su expansión [Stickland 1976][Eppig 1979].

Diversos estudios empleando agonistas GnRH para inducción de la maduración final fueron realizados en los años 80 y principios de los 90 [Itskovitz-Eldor 1988][Gonen 1990][Imoedemhe 1991][Emperaire 1992]. Sin embargo, en aquel tiempo los agonistas GnRH se empleaban fundamentalmente para la prevención del pico prematuro de LH (protocolo largo) y el empleo simultáneo del fármaco para inducir la maduración final en esos casos no es posible.

Más recientemente y gracias a la reintroducción en el mercado de los antagonistas de la GnRH para la prevención del pico prematuro de LH [Albano 1997][Itskovitz 1998][European Orgalutran Study Group 2000]; los agonistas de la GnRH se han vuelto nuevamente una opción válida para la inducción de la maduración

final ovocitaria. Esta aplicación es posible debido a la capacidad del agonista GnRH de desplazar al antagonista de su receptor e inducir la liberación de FSH y LH (efecto *flare-up*) antes de producir la posterior insensibilización de la hipófisis (Véase Capítulo 2). Múltiples estudios entre los 90 y principios del 2000 corroboran la eficacia para inducir la ovulación del bolo de agonistas GnRH en protocolos con antagonistas en ciclos de inseminación artificial y en ciclos FIV [Felberbaum 1995][Olivennes 1996][Romeu 1997][Itskovitz 2000][Bracero 2001][Fauser2002].

Pese a la eficacia del bolo de agonistas para inducir la maduración final ovocitaria, estudios clínicos muestran pobres resultados reproductivos, especialmente una alta tasa de pérdidas tempranas [Humaidan 2005a][Kolibianakis 2005]. Una acentuada luteólisis y consecuentemente una fase lútea deficiente ocasionada por la corta liberación de LH endógena inducida por el bolo de agonistas GnRH, es la teoría más plausible para explicar los pobres resultados [Babayof 2006][Pirard 2006].

En efecto, en estudios realizados en mujeres normo ovuladoras empleando protocolo de FSH/antagonistas y desencadenando la maduración final con bolo de agonistas GnRH; los niveles de progesterona (P4), estradiol (E2), inhibina A y pro-αC en fase lútea fueron menores que en ciclos ovulatorios espontáneos [Fauser 2002].

Otra de las ventajas atribuidas a la inducción de la maduración final con bolo de agonistas GnRH es la prevención del SHO [Kol 2000][Kol 2003]. El SHO se caracteriza por el agrandamiento ovárico debido a los múltiples cuerpos lúteos y la trasudación de fluidos y solutos desde el compartimento intra-vascular hacia el tercer espacio debido a un incremento en la capilaridad vascular [Aboulghar 2003]. El SHO severo es una complicación potencialmente mortal. Los factores de riesgo para SHO incluyen edad joven, bajo IMC, ovarios poliquísticos, episodios previos de SHO [Esinler 2005]. La sustancial luteólisis ocasionada por el bolo de agonista GnRH sería la clave para la prevención de este síndrome [Kol 2004].

Por tanto, el bolo de agonista GnRH tiene la propiedad de ser un eficaz inductor de la maduración final ovocitaria, asimismo su utilización se asocia a una notable disminución del SHO, sin embargo, la luteólisis que ocasiona deriva en una fase lútea deficiente traducida en pobres resultados reproductivos, la interrogante que se plantea es: ¿Cómo se puede restaurar la fase lútea luego de la aplicación de un bolo de agonista en ciclos FIV?

1.4 Evolución de la investigación

El presente trabajo tuvo sus inicios en el año 2002. Un estudio clínico comparativo dirigido por los Doctores Miguel Dolz Arroyo y Bienvenido Evangelio de la Unidad de Reproducción Asistida (URA) del Hospital Clínico Universitario de Valencia (HCUV), investiga el manejo de las altas respondedoras a ciclos de estimulación mediante el uso de agonistas de la GnRH como inductor de la maduración final ovocitaria, inspirados en trabajos pioneros en el tema [Itskovitz 2000][Kol 2000]. En una primera etapa de la investigación el soporte de fase lútea en un grupo fue realizado con hCG y el otro recibió el tratamiento rutinario con progesterona (Véase Capítulo 4), sin embargo, esta iniciativa tuvo que suspenderse tempranamente debido a la pobre tasa de embarazos evidenciada en el grupo con P4. Si bien este estudio no fue publicado, sentó empíricamente las bases para demostrar que el soporte usual de fase lútea con P4 era insuficiente cuando la maduración final se realizaba con agonistas de la GnRH.

Adicionalmente, ya desde ese entonces, la inclusión de un grupo control – como dictamina la "era de la medicina basada en evidencias" - de altas respondedoras utilizando dosis estándar de hCG para inducir la maduración final ovocitaria planteaba –de la misma forma que sucede actualmente- cuestiones éticas de suma importancia debido al elevado riesgo de SHO en este grupo de pacientes. ¿Debemos randomizar pacientes con respuesta ovárica extrema a recibir hCG para maduración final ovocitaria? [Kol 2006].

Posteriormente a esta etapa se encaró la interrogante acerca de las dosis de hCG necesarias para suplementar la fase lútea ¿Dosis fija o dosis flexible? Siguiendo el criterio de individualización en el manejo de las pacientes se procedió a suplementar con dosis flexibles teniendo como pivote el nivel de E2 sérico durante la estimulación ovárica, esto llevó al diseño de un protocolo para administrar a cada paciente la dosis adecuada según los niveles de E2. Si bien esta estrategia fue empleada en algunas pacientes (obteniéndose buenos resultados); no dejaba de ser algo complejo de ejecutar y agregaba incomodidad por cuanto involucraba desplazamientos y analíticas sanguíneas frecuentes.

En este contexto y siempre bajo la guía del Profesor Bonilla-Musoles y el Doctor Miguel Dolz y con base en el conocimiento adquirido durante estos años en el tratamiento de las altas respondedoras con el empleo de los agonistas de la GnRH – estrategia denominada “el bolo de agonistas” – decidimos dar un nuevo enfoque al soporte de fase lútea empleado hasta el momento, con la finalidad de hacerlo, parafraseando a Einstein “tan simple como sea posible, pero no más simple”; sin disminuir eficacia y con el objetivo de reducir sustancialmente la presentación del SHO sin comprometer las tasas de gestación evolutiva. El concepto clave en esta etapa es: la dosis mínima eficaz de hCG como soporte de fase lútea.

1.5 Estructura y tipografía de la tesis

1.5.1 Organización

- El presente capítulo introduce la justificación del estudio, describe el estado actual del tema a desarrollar y establece la tipografía empleada en esta tesis.
- El capítulo 2 describe las propiedades de los fármacos empleados que son relevantes para el desarrollo del estudio.
- Las pacientes con alta respuesta a la estimulación ovárica y su enfoque terapéutico actual se describen en el capítulo 3, delimitando de esta manera la población objeto de estudio.
- El diseño detallado del trabajo de investigación de esta Tesis es descrito en el capítulo 4.
- En el capítulo 5 se exponen los resultados del trabajo de investigación.
- Un análisis crítico general del protocolo de estudio se realiza en el capítulo 6, haciendo incapié en los resultados obtenidos, proponiendo finalmente un flujograma de manejo derivado de la investigación.
- Finalmente el capítulo 7 resume las conclusiones y contribuciones resultantes de la Tesis; enumerando además las publicaciones y ponencias derivadas.

1.5.2 Tipografía empleada

Con la finalidad de facilitar la lectura de la presente tesis, se han empleado diferentes caracteres tipográficos destinados a exponer armónicamente y con claridad los conceptos vertidos. De manera general el texto básico emplea los caracteres habituales que son familiares al lector; la tipografía agregada se describirá brevemente a continuación, mostrando un ejemplo en cada caso particular.

- Los vocablos en lengua foránea dentro de la terminología de reproducción asistida adoptados en el habla cotidiana se muestran en letra cursiva, denotando de esta manera que proceden de una lengua diferente al castellano, por ejemplo, el *hatching*.
- Las citas provenientes de terceras fuentes se muestran con sangría, en cursiva y entre comillas; por ejemplo:

<<Con libertad no ofendo ni temo.>>

— Proverbio uruguayo atribuido al
Prócer Jose G. Artigas (1764 – 1850).

- Las referencias a bibliografía en el cuerpo del texto se hallan entre corchetes delimitando el apellido del primer autor y el año de publicación [Edwards 1980]. Las referencias citadas en

detalle se encuentran ordenadas alfabéticamente en la sección de Bibliografía.

- Las referencias bibliográficas se confeccionaron siguiendo parámetros de aceptación internacional. Fuente: http://www.library.uq.edu.au/training/citation/agps_6.pdf
- La evidencia de un superíndice numérico que aparece posterior a un texto[10], denota una anotación adicional o aclaratoria cuya correspondencia se ubicará al final de la página.

[10] Ejemplo de nota al pie de página.

Capítulo 2

Descripción de sustancias clave y sus propiedades

<<Si quieres saber cuan alto es un edificio,
mira sus cimientos.>>

— Anónimo.

El presente capítulo describe los principales fármacos que se emplean durante el estudio, exponiendo sus características, propiedades y efectos relevantes en órganos clave. Una vez descritos, será más sencillo encuadrar el protocolo y las aportaciones para el manejo de la paciente con alta respuesta a la estimulación ovárica propuestas en esta tesis.

2.1 La GnRH nativa

Identificada y sintetizada en 1971 por Andrew Schally y Roger Guillemin [Schally 1971][Burgus 1972]; la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) conocida también como: hormona liberadora de hormona luteinizante (LHRH) o Gonadorelina, es un decapéptido (pGlu-His-Trp-Ser-Tir-Gli-Leu-Arg-Pro-Gli-NH2) de origen hipotalámico que tiene una vida media de 2-4 min [Amoss 1971] (Fig. 2.1).

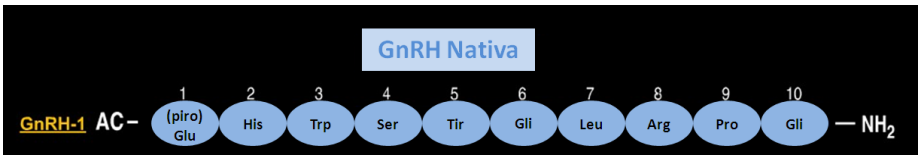


Figura 2.1: Esquema del decapéptido GnRH (adaptado de [Conn 1991]).

Esta neurohormona regula simultáneamente la secreción de dos hormonas hipofisarias –FSH y LH - [Schally 1999]. Una característica singular de la GnRH es que debe ser liberada de forma pulsátil para ser efectiva. La liberación pulsátil de GnRH en la circulación porta hipotálamo-hipófisis estimula la síntesis y secreción de FSH y LH al unirse a receptores específicos (proteínas de 6-kDa)

localizados en la superficie de los gonadotropos en la adenohipófisis. La cantidad de receptores GnRH es regulada por la misma GnRH de una forma dosis y tiempo-dependiente. Dosis moderadas de GnRH o de agonista GnRH causan una disminución inicial de los receptores seguida de un incremento prolongado. Una exposición contínua de los gonadotropos a altas concentraciones de GnRH induce una disminución de los sitios de unión [Ortmann 1999].

La estimulación pulsátil de los receptores GnRH genera la activación de múltiples mediadores que inician la exocitósis de gonadotrofinas e intervienen en la expresión de mRNA de LH y FSH [Ortmann 1999]. Sin embargo una liberación no-pulsátil de GnRH o sus análogos ocasiona una regulación a la baja (*downregulation*) de los receptores de GnRH y una insensibilización de los gonadotropos pituitarios que conlleva la supresión de la secreción de gonadotrofinas [Belzet 1978][Hazum 1988].

Además de actuar sobre los gonadotropos, se han descrito receptores extrapituitarios para la GnRH; incluyendo órganos reproductivos masculinos y femeninos; así como numerosos tejidos cancerígenos de endometrio, ovario y células mamarias [Hsueh 1981][Emons 1997][Casañ 2000].

En el ovario humano, las células de la granulosa expresan receptores para GnRH [Nathwani 2000]. Durante la fase lútea – definida como el período desde la ovulación y ya sea el establecimiento del embarazo o el inicio menstrual dos semanas

después [Fatemi 2007]; las células de la granulosa se constituyen en parte fundamental del cuerpo lúteo, exhibiendo una activa función secretora de Progesterona, Estradiol, Inhibina A, Factor de crecimiento derivado del endotelio (VEGF), Factor de crecimiento del tejido conectivo (CTGF), PGE2 y PGF2α, 6-keto-PGF1α, entre otras sustancias [Oon 2000] [Wiltbank 2003] [Duncan 2005].

2.2 Los análogos de GnRH

Desde el descubrimiento de la GnRH, más de 3000 análogos del péptido han sido sintetizados, estas sustancias poseen mayor vida media y bioactividad [Rahimipour 2001]. Los análogos de GnRH se dividen en dos grandes grupos con propiedades estructurales y biológicas singulares: agonistas y antagonistas de la GnRH.

2.2.1 Agonistas de la GnRH

Los agonistas GnRH fueron desarrollados mediante el reemplazo de uno o dos aminoácidos de la molécula GnRH nativa (Fig. 2.2) Estos cambios estructurales le confieren a estos compuestos propiedades hidrofóbicas y mayor resistencia a la degradación enzimática [Filicori 1994]. Poco después de su

descubrimiento, se evidenció que la administración continua o repetida de los agonistas GnRH ocasionaba un incremento transitorio de la función gonadal, seguida de un descenso y una significativa caída de las hormonas esteroideas.

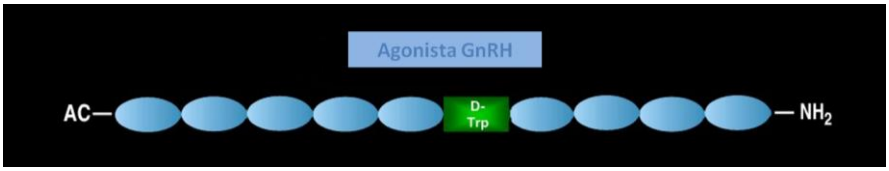


Figura 2.2: Esquema del agonista GnRH (adaptado de [Conn 1991]).

El agonista GnRH al unirse al receptor en adenohipófisis ocasiona inicialmente una señal de activación y liberación de gonadotrofinas, clínicamente conocido como el efecto *flare-up;* esta liberación inicial de FSH-LH sigue los mismos mecanismos que tras la administración de GnRH natural. Es así que el tiempo de unión del agonista GnRH a su receptor es comparable al de la GnRH nativa. Sin embargo la farmacocinética presenta algunas diferencias; el pico natural de LH consta de tres fases y dura unas 48 horas: una fase rápida ascendente que dura 14 horas, una meseta de 14 horas y una fase descendente de 20 horas [Hoff 1983]. En contraparte, la liberación de LH inducida por los agonistas GnRH consta de sólo dos

fases: una corta ascendente (>4h) y una larga descendente (>20h) en total de 24-36 h [Itskovitz 1991] (Fig. 2.3).

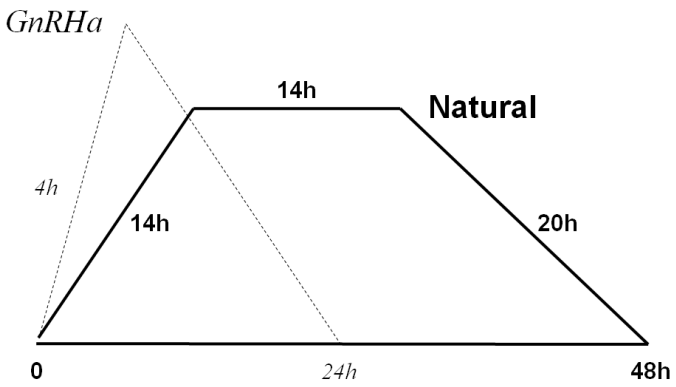


Figura 2.3: Duración del pico de LH inducido por agonistas GnRH y en ciclo natural (adaptado de [Itskovitz 1991]).

Los agonistas GnRH muestran una afinidad 100-200 veces mayor por el receptor GnRH que la molécula nativa. Luego de la unión, el complejo agonista/receptor se internaliza en el gonadotropo vía endocitosis mediada por el receptor. Este complejo internalizado sufre posteriormente una disociación seguida de degradación del ligando y reciclaje parcial de los receptores. Sin embargo, una exposición sostenida del gonadotropo pituitario al agonista GnRH reduce la respuesta de estas células a posterior estimulación con GnRH. Este proceso es denominado

insensibilización homóloga y causa la supresión de la secreción de gonadotrofinas. El mecanismo exacto de la insensibilización homóloga no ha sido claramente dilucidado. Se conoce que altas concentraciones de GnRH ocasionan una reducción en el número de receptores para GnRH, este sería uno de los mecanismos para explicar la insensibilización [Ortmann 1999]; sin embargo, otros mecanismos estarían involucrados [Conn 1991] [McArdle 2002].

Debido a la supresión gonadal reversible que ocasiona, este fármaco es utilizado en enfermedades dependientes de estas hormonas. Los agonistas GnRH han sido aprobados para uso en pacientes con endometriosis, cáncer prostático avanzado, y pubertad precoz [Winkel 1994].

En TRA, este fármaco se emplea para la prevención de la liberación prematura de LH durante la estimulación ovárica desde la década de los 80 [Fleming 1982]. Se conoce que la estimulación ovárica para FIV y el desarrollo de múltiples folículos ocasionaban un pico prematuro de LH debido a un estímulo positivo ejercido por los altos niveles séricos de E2 durante la fase folicular media del ciclo de estimulación; este fenómeno ocurría en 20 – 25% de los ciclos [Healy 1986]. Esta exposición precoz a altos niveles de LH ocasionaba una luteinización prematura de los folículos en crecimiento comprometiendo los resultados o culminando en cancelaciones de ciclo debido a un detenimiento del crecimiento folicular [Macklon 2006].

La introducción de los agonistas para su uso en TRA permitió la supresión de la actividad hipofisiaria durante la estimulación ovárica en FIV, lo cual resultó en una significativa reducción de las tasas de cancelación por picos prematuros de LH, mejorando los resultados y a la vez facilitando la "sincronización" para realizar la extracción de los óvulos [Smitz 1998].

Aprovechando el efecto *flare-up*, los agonistas GnRH pueden emplearse para inducir la maduración final ovocitaria. Sin embargo, empleados con este fin se ha evidenciado una fase lútea deficiente asociada a disminución de hormonas esteroideas [Beckers 2003]; siendo una acentuada luteólisis la etiología más plausible [Kol 2004]. Estudios *in vitro* demuestran que los agonistas GnRH son capaces de iniciar la cascada de la apoptosis en las células de la granulosa [Takekida 2000]. Sin embargo, un efecto indirecto del agonista podría estar relacionado con la menor vida media del pico de LH endógeno inducido y posterior supresión pituitaria que conllevaría a una luteólisis temprana [Hoff 1983] [Itskovitz 1991].

2.2.2 Antagonistas de la GnRH

Sintetizados hace más de dos décadas [Karten 1986]; los antagonistas GnRH son el resultado de múltiples sustituciones de

aminoácidos (posiciones 1,2,3,6,8 y 10) en la molécula nativa de GnRH (Fig. 2.4). Las primeras generaciones de antagonistas fueron de poca aplicación clínica debido a efectos colaterales (reacciones alérgicas edematogénicas y anafilactoides) producidos por la estimulación de mastocitos y liberación de histamina ocasionada por el fármaco [Morgan 1986]. Los modernos antagonistas desarrollados están libres de tales efectos indeseables.

Figura 2.4: Esquema del antagonista GnRH (adaptado de [Conn 1991]).

Estos compuestos son capaces de suprimir inmediatamente la secreción de gonadotrofinas y con ello la función gonadal [Diedrich 1994]. A diferencia del agonista, el antagonista GnRH permanece unido a la superficie del gonadotropo por un tiempo prolongado y su principal mecanismo de acción es el bloqueo competitivo del receptor GnRH, ocasionando una inhibición de la señal de transducción. Los antagonistas GnRH no poseen actividad agonista alguna, es decir no inducen la liberación inicial de FSH – LH

característica de los agonistas GnRH [Ortmann 1999]. Además, su acción inhibitoria en hipófisis es rápidamente reversible una vez cesada la administración del fármaco, y debido a la naturaleza del bloqueo competitivo de la acción de la GnRH a nivel del receptor, el grado de supresión gonadal se podría controlar por la dosis de antagonista administrada [Albano 1997][Fujimoto 1997].

Estos fármacos son ampliamente utilizados en protocolos de estimulación ovárica, pero además están indicados para el tratamiento de endometriosis, miomas uterinos y cánceres hormono-dependientes [Sankaran 2008][Anderson 2009].

En TRA, los antagonistas GnRH pueden administrarse durante la fase folicular para prevenir el pico prematuro de LH. Múltiples estudios han investigado la dosis y pauta de tratamiento en ciclos FIV [Macklon 2006]. En general, las pautas utilizadas son:

a. El protocolo de dosis única: consiste en la inyección de 3 mg de antagonista en fase folicular tardía (día 8-9 de estimulación) [Olivennes 1998].
b. El protocolo de dosis múltiple: consiste en la aplicación de una dosis diaria de 0,25 mg de antagonista iniciando el día seis de estimulación ovárica hasta e incluyendo el día de la inducción de la maduración ovocitaria [Ganirelix Dose-Finding Study Group 1998].

c. El protocolo de dosis múltiple-flexible: consiste en la aplicación diaria de 0,25 mg de antagonista iniciando cuando se alcance 14-16 mm de diámetro folicular [Mansour 2003].

2.2.3 Análogos de GnRH. Estado actual en TRA

Los análogos de la GnRH se han constituido actualmente en una sustancia ampliamente utilizada en diversidad de especialidades como la urología, ginecología y especialmente reproducción asistida. Su actuación sobre el gonadotropo hipofisiario, nos permite regular farmacológicamente la acción de hormonas como la FSH, LH, y, a través de estas, a los esteroides gonadales (Fig. 2.5 y 2.6).

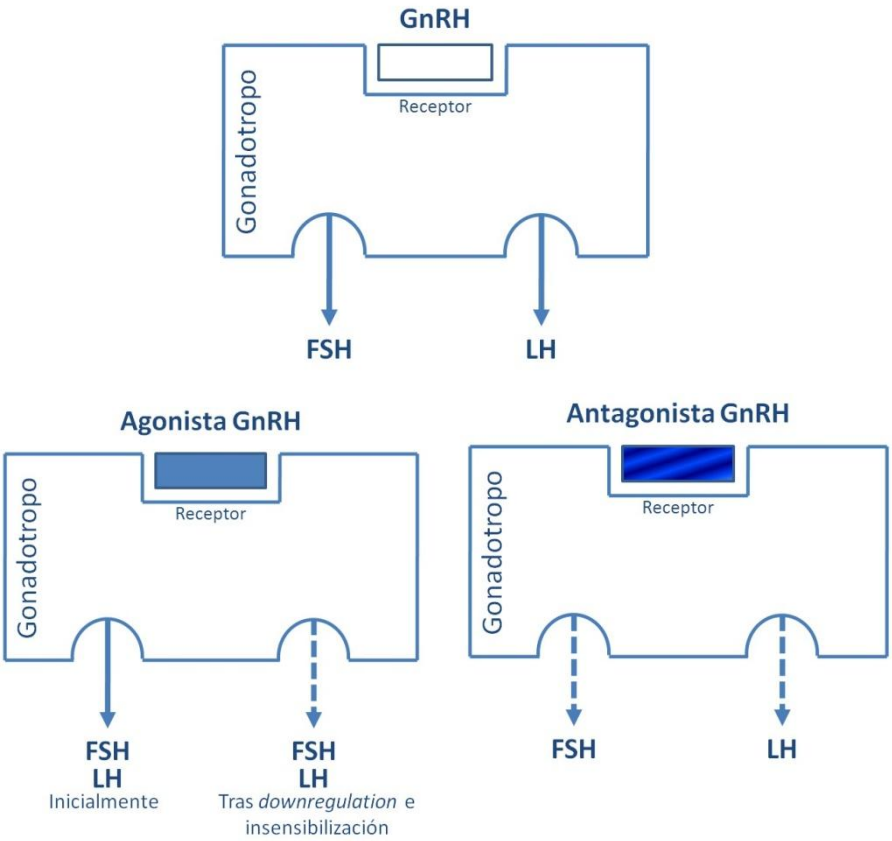


Figura 2.5: Esquema de los diferentes tipos de acción de la GnRH y análogos sobre el gonadotropo pituitario.

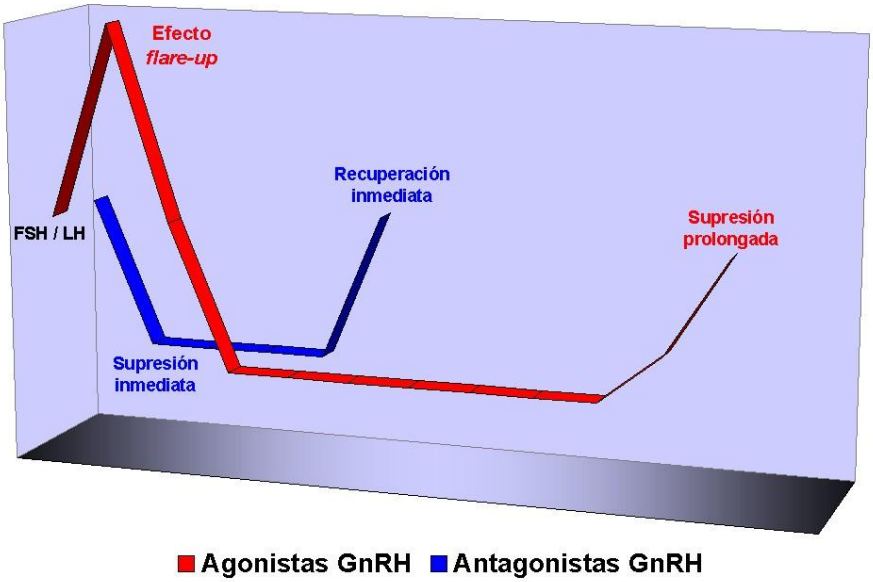


Figura 2.6: Esquema de la acción de agonista vs antagonista GnRH sobre la hipófisis. Nótese el efecto de liberación inicial de FSH – LH producido por el agonista (efecto *flare-up*); así como su prolongado tiempo de supresión pituitaria posterior.

Actualmente, diversos son los análogos GnRH comercialmente disponibles para empleo clínico en TRA. Existen numerosos protocolos dependiendo del efecto deseado (Tabla 2.1 y 2.2); la descripción en detalle de cada uno de ellos está fuera del objetivo de la presente Tesis, sin embargo el lector será referido a fuentes de referencia.

Análogo GnRH	Principio activo	Nombre comercial	Laboratorio
Antagonistas GnRH	Ganirelix	Orgalutran®	Schering-Ploug
	Cetrorelix	Cetrotide®	Merck
	Antide	Antide®	Anaspec
	Degarelix	Firmagon®	Ferring
Agonistas GnRH	Buserelina	Suprefact®	Sanofi Aventis
	Leuprorelina	Procrin®	Abbott
	Goserelina	Zoladex®	Astrazeneca
	Triptorelina	Decapeptyl®	IPSEN
	Nafarelina	Synarel®	SEID

Tabla 2.1: Análogos GnRH comúnmente empleados en la práctica clínica.

<table>
<tr><th>Efecto</th><th colspan="2">Análogo GnRH / Protocolo</th></tr>
<tr><td rowspan="3">Prevención del pico de LH [Raga 2009]</td><td>Agonista</td><td>Protocolo largo

Protocolo corto

Protocolo stop</td></tr>
<tr><td>Antagonista</td><td>Protocolo dosis única

Protocolo dosis múltiple

Protocolo dosis múltiple y flexible

Protocolo CRASH [Humaidan 2005b]</td></tr>
<tr><td colspan="2">Protocolo agonista-antagonista [Dolz 2009a]</td></tr>
<tr><td>Inducción de ovulación:

En inseminación

En FIV

En preservación de la fertilidad [Oktay 2006][Oktay 2008]</td><td colspan="2">Bolo de agonista GnRH (efecto flare-up)</td></tr>
<tr><td>Prevención del daño gonadal</td><td colspan="2">Agonista y antagonista GnRH [Imai 2007]</td></tr>
<tr><td>Tratamiento del SHO</td><td colspan="2">Bolo de antagonista GnRH [Bonilla 2009]</td></tr>
<tr><td>Soporte de fase lútea</td><td colspan="2">Agonista GnRH en dosis múltiples [Pirard 2006]</td></tr>
</table>

Tabla 2.2: Diversos protocolos y modos de utilización de los análogos de GnRH en TRA.

Las propiedades particulares de agonistas y antagonistas hacen que estos fármacos puedan ser utilizados en diversas fases dentro del proceso de estimulación ovárica. Particularmente, el agonista GnRH puede ser empleado tanto en fase lútea media del ciclo previo (protocolo largo), como en fase folicular del ciclo de estimulación (protocolo corto) para prevenir el pico prematuro de LH; además su efecto *flare-up* lo convierte en un adecuado inductor de la maduración final ovocitaria, por último también se le ha descrito como eficaz suplemento de la fase lútea. Pocos fármacos en TRA muestran ser tan versátiles en su uso como los agonistas GnRH.

Como se ha descrito, el antagonista GnRH permanece unido al receptor en la superficie del gonadotropo por largo tiempo (sin internalizarse) [Ortmann 1999] y tiene una acción inmediata y fundamentalmente inhibitoria sobre el gonadotropo. En TRA cuando el antagonista GnRH es empleado para prevenir el pico prematuro de LH; permite administrar un bolo de agonista GnRH como inductor de la maduración final; en este caso el agonista es capaz de desplazar al antagonista de su receptor y ocupar su lugar para producir inicialmente el efecto *flare-up* y posteriormente la insensibilización pituitaria 7 – 10 días luego de su administración por internalización del complejo agonista-receptor. Esta interacción de propiedades de los análogos GnRH es la base del protocolo a describir posteriormente.

El objeto de estudio de la presente Tesis doctoral, se basa en la propiedad del agonista GnRH de estimular la liberación conjunta de FSH y LH (*flare-up)*; efecto que como se ha expuesto, es un eficaz inductor de la maduración final ovocitaria. Además, posterior a la administración de agonista GnRH en ciclo FIV, se ha observado que acontece una luteólisis significativa que está ligada a una disminución en la presentación de SHO; ambos mecanismos de acción y su impacto en ciclos FIV serán objeto de estudio en la presente Tesis doctoral.

2.3 Conclusiones del capítulo

En este capítulo se han revisado sustancias clave (y sus propiedades farmacológicas), sobre las cuales se asienta la aplicación del protocolo a estudiar. Durante el desarrollo de la Tesis se hará frecuente mención al empleo y propiedades de los análogos GnRH, especialmente al agonista GnRH.

En el transcurso de este capítulo se han descrito:

1. *la fisiología de la hormona liberadora de gonadotrofinas GnRH*: como pilar necesario para describir los análogos y sus propiedades farmacológicas.

2. *la farmacología y mecanismo de acción del agonista GnRH*: fundamentalmente el efecto *flare-up*, piedra angular del protocolo de tratamiento a describir.
3. *las propiedades y mecanismo de acción del antagonista GnRH*: especialmente su acción de bloqueo y cese de acción inmediata sobre la hipófisis.
4. *la aplicación clínica de los análogos GnRH*: para dar una visión general del uso actual de estas sustancias, fundamentalmente en reproducción asistida.

Toda esta descripción ha pretendido dotar al lector del conocimiento fundamental acerca de estas sustancias básicas en la aplicación del protocolo a describir en capítulos posteriores.

Capítulo 3

La alta respuesta: Individualización de pacientes y protocolos

<<La ciencia es solo un ideal. La de hoy corrige la de ayer, y la de mañana la de hoy.>>

— José Ortega y Gasset. Filósofo y periodista español, 1883 – 1955.

En este capítulo abarcaremos los criterios de selección empleados para elegir el protocolo de estimulación adecuado para las pacientes susceptibles de TRA, con especial énfasis en el enfoque diagnóstico y tratamiento actual del sub-grupo de las llamadas "altas respondedoras" a la estimulación ovárica en FIV, grupo que supone la población de riesgo para SHO y que serían las principales beneficiarias del protocolo objeto de esta Tesis.

3.1 Introducción

La estimulación ovárica en FIV supone la administración exógena de gonadotrofinas y tiene como finalidad promover el desarrollo multifolicular, disponer de un mayor número de ovocitos para fecundación e incrementar el número de embriones disponibles para selección y transferencia, mejorando de esta manera la posibilidad de gestación tras un ciclo FIV [Fauser 2004].

Desde los inicios de la FIV, se evidenció que las pacientes respondían de tres formas posibles a dosis similares de gonadotropinas: una alta respuesta, una respuesta intermedia y una baja respuesta [Ferraretti 1983]. La respuesta a la estimulación ovárica posiblemente representa el tamaño de la cohorte de folículos sensible a la FSH continuamente presentes en los ovarios y que está directamente relacionada con la magnitud de la reserva ovárica (i.e. el *pool* de folículos primordiales restantes) [Gougeon 1984].

Durante la evaluación inicial de la pareja tributaria de FIV, se toman en cuenta diversos parámetros destinados a intentar predecir la respuesta ovárica individual y de esta forma individualizar el protocolo y dosis de gonadotrofinas a ser administradas.

En la Unidad de Reproducción Asistida del hospital clínico universitario de Valencia, los siguientes son factores mayormente empleados para valorar la reserva ovárica y predecir la respuesta a la estimulación en ciclos FIV:

- Edad
- Fórmula menstrual
- Recuento de folículos antrales
- Hormona antimulleriana
- FSH y estradiol
- IMC
- Historial de respuesta ovárica previa

La descripción en detalle de cada uno de esos parámetros no es el objetivo principal de esta Tesis; para mayor referencia el lector es remitido a [Broekmans 2006].

3.2 Recuento de folículos antrales y predicción de la respuesta ovárica

De los parámetros mencionados, el recuento de folículos antrales (RFA) fase folicular temprana (día 2-3 de ciclo) ha demostrado ser un instrumento de relevancia clínica para predecir la

respuesta ovárica a la estimulación controlada en ciclos FIV [Frattarelli 2003][Kwee 2007][Hendriks 2007].

Recordemos que un folículo es la estructura situada en la corteza ovárica que contiene al ovocito; éste está rodeado por una capa de células de la granulosa (Fig. 3.1), aproximadamente cuando existen ya tres capas de células en el estrato granuloso de los folículos pre-antrales comienzan a aparecer espacios (llenos de líquido) que luego confluyen y que proveen un microambiente nutricio: el antro folicular.

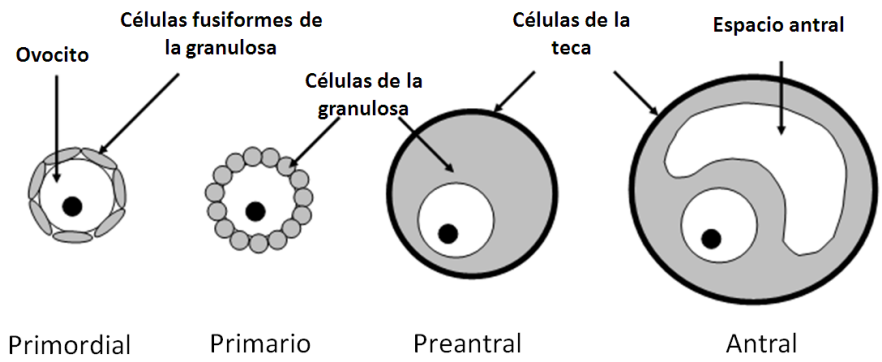


Figura 3.1 Progresión del desarrollo folicular ovárico.

Este contraste líquido permite que estos folículos sean fácilmente visibles por ecográfia transvaginal; la visión y recuento de folículos entre 2 – 9 mm de diámetro en ambos ovarios al inicio del

ciclo menstrual define al recuento de folículos antrales [Broekmans 2009]. El número de folículos antrales se halla estrechamente relacionado con la reserva ovárica de la mujer [Broekmans 2004]. Un alto recuento indica que la paciente posee una gran cantidad de óvulos restantes en el ovario y a menudo SOP. Por el contrario una disminuida cantidad de folículos antrales muestra que la paciente posee un reducido número de óvulos y por esto un potencial de fertilidad también reducido. Estudios observacionales indican que la cohorte de folículos antrales reclutados durante la transición lúteo-folicular sería aproximadamente 10 por ovario [Hodgen 1982][Pache 1990] (Fig. 3.2)

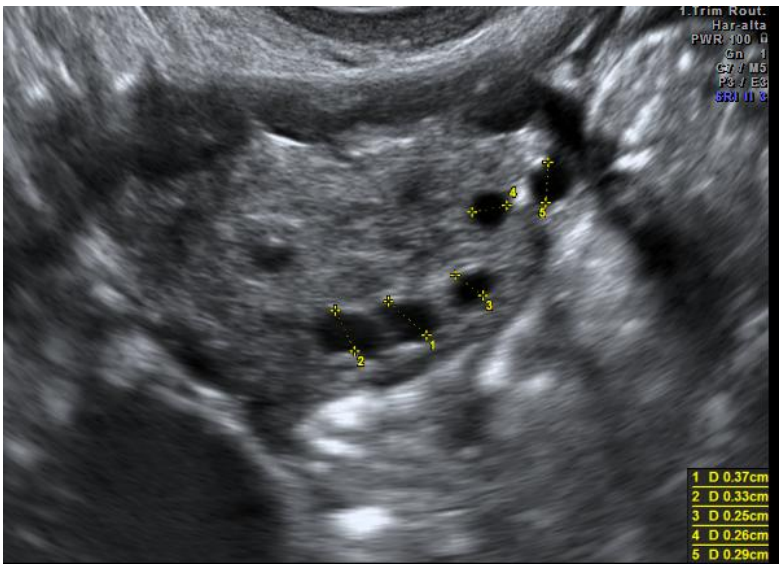


Figura 3.2: Medición de los folículos antrales.

Una vez realizada la evaluación ecográfica y en función del número de folículos antrales la paciente es categorizada en uno de tres posibles grupos, según la predicción de la respuesta a la estimulación ovárica [Frattarelli 2003][Gómez 2009]:

- Baja respuesta: < 5 folículos (Fig. 3.3)
- Normo respuesta: 5 – 15 folículos (Fig. 3.4)
- Alta respuesta: > 15 folículos (Fig. 3.5)

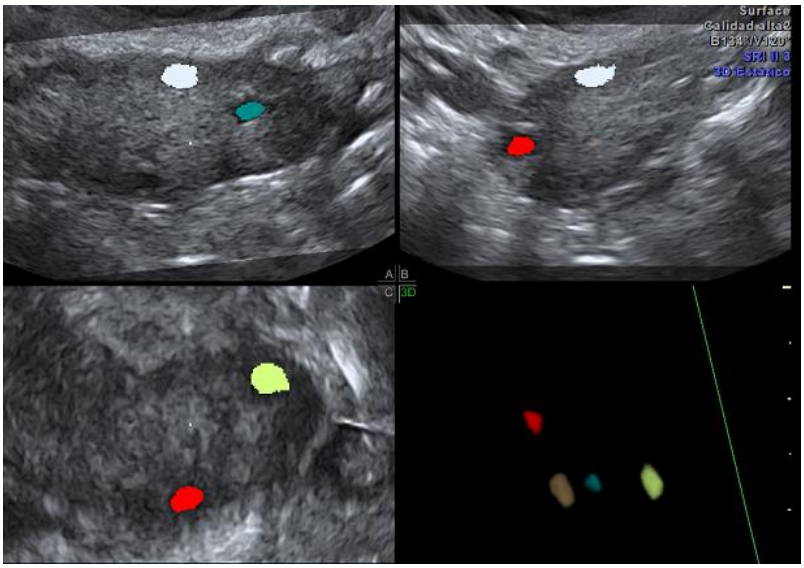


Figura 3.3: Ecografía ovárica y recuento de folículos antrales en modo AVC (Automatic Volume Calculation). Baja respuesta.

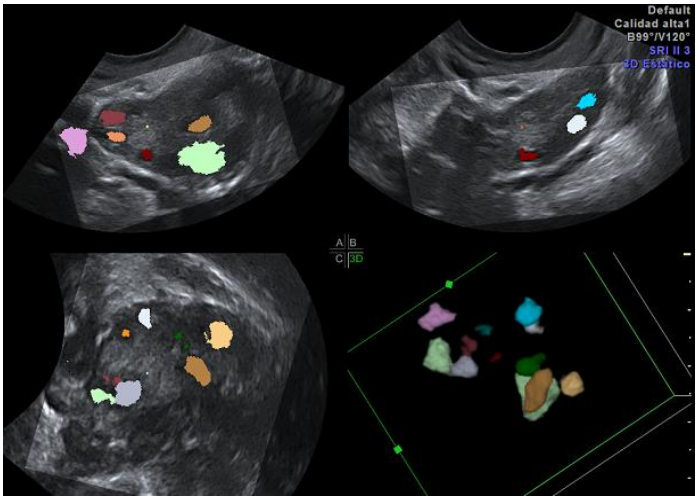


Figura 3.4: Ecografía ovárica y recuento de folículos antrales en modo AVC (Automatic Volume Calculation) . Normo respuesta.

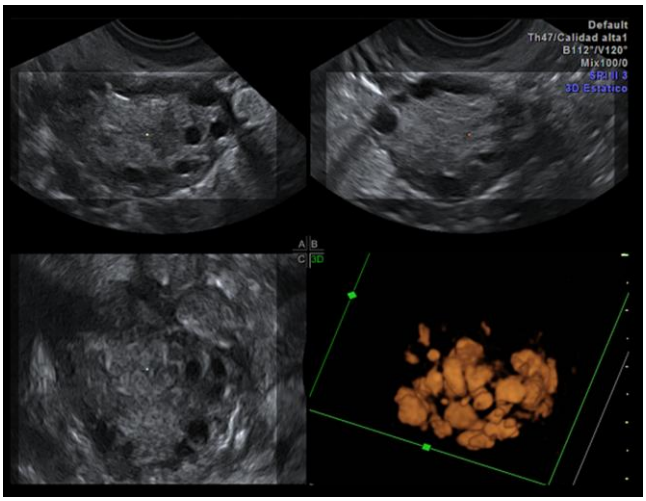


Figura 3.5: Ecografía ovárica y recuento de folículos antrales en modo inverso. Alta respuesta.

Posteriormente a la paciente se le asigna el protocolo correspondiente según la evaluación descrita y de acuerdo al siguiente diagrama (Fig. 3.6).

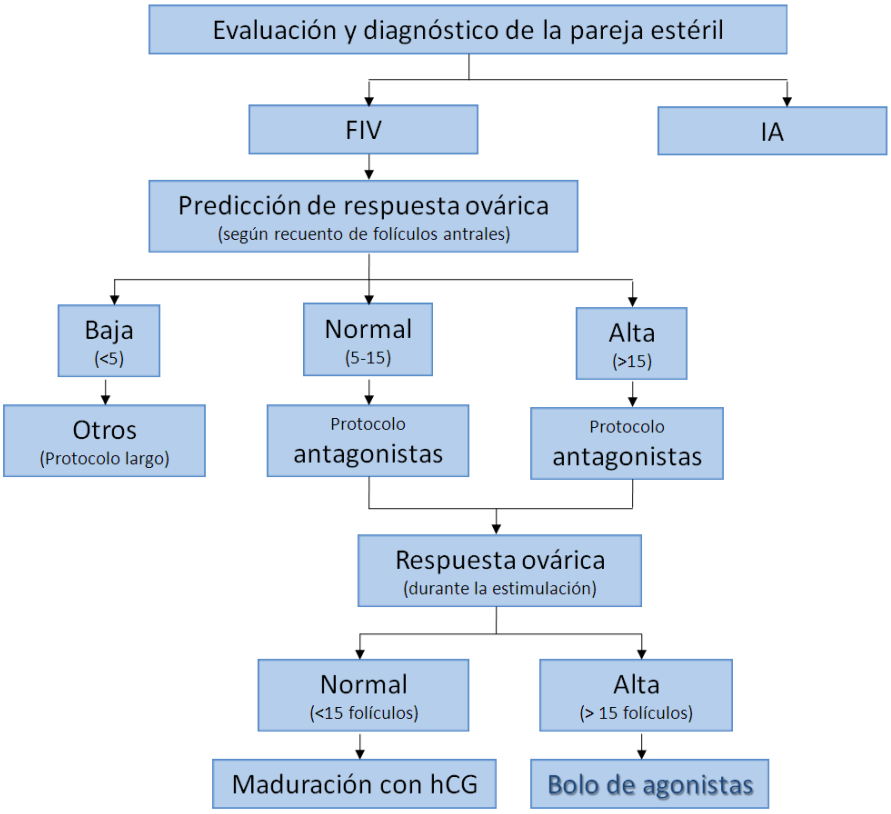


Figura 3.6: Diagrama de asignación de protocolo según evaluación.

Quiere decir que las pacientes en las cuales se presume una alta respuesta son derivadas al protocolo antagonistas para poder emplear el bolo de agonistas como inductor de la maduración final ovocitaria y prevenir de esta manera el SHO.

De igual forma, las pacientes con una predicción de respuesta normal, son tratadas con protocolo antagonista, los motivos para la elección de este protocolo en el grupo de normorespondedoras son:

a. En este grupo de pacientes las tasas de embarazo son similares independientemente del fármaco empleado para suprimir el pico de LH (agonista vs antagonista) [Orvieto 2009)[Barmat 2005].

b. Si alguna de estas pacientes desarrollase una alta respuesta durante la estimulación con gonadotrofinas, podríamos aún emplear el bolo de agonistas para prevenir SHO.

Las pacientes con alta respuesta a los protocolos de estimulación ovárica, en general tienen un mayor porcentaje de éxito comparadas con las de baja respuesta [Kligman 2001] [Rosenwaks 1995]. En contraparte presentan un riesgo incrementado de presentar SHO [Smitz 1990], complicación clínica potencialmente fatal.

Una gran proporción de pacientes que desarrollan una respuesta exagerada a los protocolos de estimulación presentan Síndrome de Ovarios Poliquísticos (SOP) [The Rotterdam

ESHRE/ASRM-Sponsored PCOS consensus workshop group[11] 2004] diagnosticado o encubierto. Las pacientes jóvenes con hallazgos ultrasonográficos morfológicos de ovarios poliquísticos (≥ 10 folículos de 2 – 8 mm en cada ovario), que sin embargo no cumplen los criterios de Rotterdam para ser diagnosticadas de SOP; presentan una respuesta clínica muy similar cuando son sometidas a estimulación ovárica [Kligman 2001].

Así pues la población objeto de esta tesis es la alta respondedora, este grupo de pacientes presenta un riesgo incrementado de presentar SHO; en ellas la aplicación de un bolo de agonistas reduciría esta potencial complicación.

3.3 Alta respuesta. Definición

Existen diferentes definiciones en la literatura sobre lo que constituye una alta respuesta; en general se toma como referencia el desarrollo multifolicular que supondría un riesgo para desarrollar SHO.

[11] Grupo de trabajo de consenso en Síndrome de Ovarios Poliquísticos de Róterdam auspiciado por ESHRE / ASRM.

El concepto mayormente utilizado se basa en el total de folículos evidenciados por ultrasonido el día de la maduración final ovocitaria, la mayoría de investigadores sostienen que un número mayor o igual a 15 folículos de más de 14 mm el día de la maduración final ovocitaria, supone un riesgo incrementado para desarrollar SHO [García 2006]; existe sin embargo, variabilidad en cuanto a la cifra y diámetro folicular [Egbase 1999].

Otra definición se basa en el número de ovocitos recuperados tras la estimulación ovárica, la recuperación de 15 o más ovocitos definen una alta respuesta [Rabadán 2005].

Existe por último un criterio bioquímico basado en los niveles de estradiol "máximo". Sin embargo, sobre este punto existe una amplísima variabilidad de criterios, según los autores, para definir lo que constituye una cifra de E2 "elevado", la cual varía desde > 3000 pg/ml [Rabadán 2005] [Tortoriello 1998] [Fluker 1999], > 4000 pg/ml [Ho 2003], > 6000 pg/ml [Egbase 1999] hasta > 10,000 pmol/L [Hendriks 2004].

De los factores mencionados, el número de folículos puede eficazmente discriminar las pacientes en riesgo de desarrollar SHO de importancia clínica [Papanikolaou 2006].

3.4 Manejo de la alta respondedora. Estado actual

Se han sugerido varios métodos para prevenir una alta respuesta a los protocolos de estimulación; en primer lugar debemos tener en cuenta por las características clínicas o antecedentes de la paciente su riesgo de responder a la estimulación de forma "exagerada" basándonos en la historia clínica así como en las pruebas auxiliares especialmente la ultrasonografía; la identificación adecuada de una paciente de riesgo nos permitirá adoptar la estrategia de estimulación más acorde al perfil de la paciente.

3.4.1 Identificación de la alta respondedora

- Joven (< 35 años) [Golan 1988]
- Delgada [Navot 1988]
- Alérgica [Enskog 1999]
- Síndrome de ovario poliquístico (Oligo-amenorrea, obesidad, hirsutismo) [Schenker 1978] [Navot 1992]
- Identificación ecográfica de ovarios de aspecto poliquístico (≥ 10 folículos antrales de 2 – 8 mm con estroma denso) [Kligman 2001] (Fig. 3.7)
- Antecedente de alta respuesta y/o SHO [Aboulghar 1996]

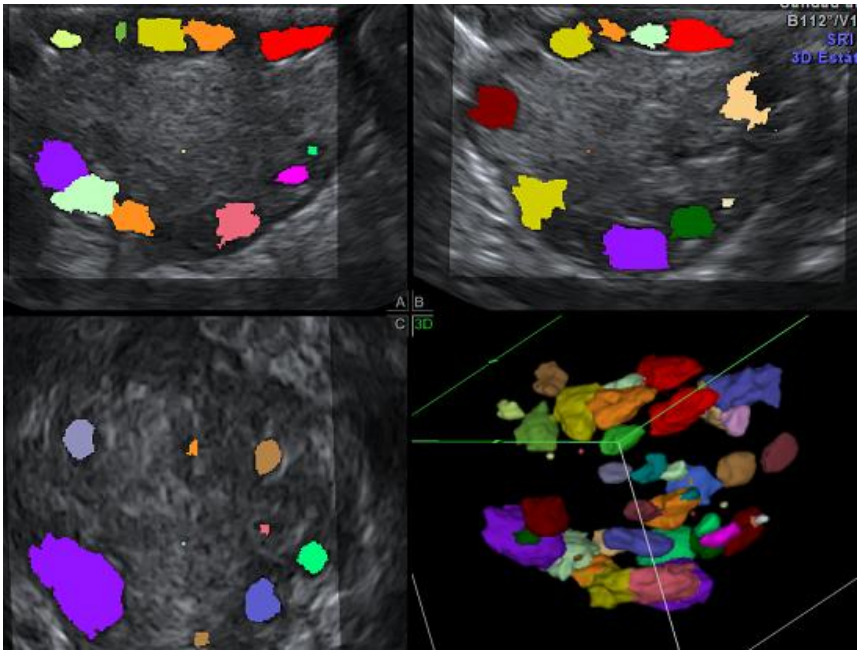


Figura 3.7: Ecografía ovárica y recuento de folículos antrales en modo AVC (Automatic Volume Calculation). Ovarios poliquísticos.

3.4.2 Actuación clínica frente a la alta respuesta

a. Antes de la estimulación

Una vez identificada la paciente con riesgo de alta respuesta, se han descrito una serie de medidas preventivas, que describiremos a continuación:

a.1 Hiperestimulación ovárica controlada individualizada

Se han descrito diversos protocolos de estimulación que pueden ser utilizados en estas pacientes, tales como [Dolz 2009b]:

- *Step-up* (FSH a dosis crecientes)
- *Step-down* (FSH a dosis decrecientes)
- Protocolos en secuencia (*Step-up* inicial seguido de *step-down*)
- Los mencionados protocolos se complementan con supresores hipofisarios análogos de la GnRH.

a.2 Empleo de antagonistas

Artículos recientes muestran que tras un protocolo largo con agonistas, en el cual se evidencia un crecimiento folicular acelerado o signos de riesgo, la sustitución por antagonistas, disminuiría el riesgo de SHO [Gustofson 2006].

b. Durante la estimulación

Se han descrito varios métodos para prevenir el SHO o disminuir su severidad una vez iniciada la estimulación ovárica y confirmada una alta respuesta. Se recomienda precaución cuando se evidencien alguno de los siguientes indicadores de riesgo [The Practice

Committee of the American Society for Reproductive Medicine[12] 2004]:

- Niveles de E2 de elevación rápida
- Niveles de E2 > 2500 pg/ml
- Gran número de folículos de tamaño intermedio (10–14 mm)

b.1 Diferir la maduración ovocitaria con hCG y cancelación el ciclo

Es la estrategia empleada más antigua y la más efectiva en prevenir la presentación del SHO ante una alta respuesta. Sin embargo es empleada solamente por una minoría médica, debido a que conllevaría la pérdida de un ciclo de tratamiento en el cual ha sido depositada la confianza de una pareja [Delvigne 2001]. Además los parámetros para cancelar un ciclo no estan plenamente definidos existiendo en la literatura una amplia diferencia entre centros [Schenker 1993] [Haning 1983] [Blankstein 1987].

En las pacientes estimuladas empleando un protocolo largo con agonistas GnRH, conjuntamente al cese de la aplicación de FSH, se mantendrá el análogo hasta la presencia de sangrado menstrual en las pacientes; ya que esta estrategia aceleraría la involución de cuerpos lúteos mejorando la sintomatología [Risk 1991]. Asimismo

[12] Comité práctico de la sociedad americana de medicina reproductiva.

se recomienda la abstinencia sexual ante el riesgo de ovulación espontánea que podría conllevar embarazo múltiple y SHO tardío.

b.2 Reducción de la dosis de hCG para maduración final

La recuperación ovocitaria descrita cuando se emplearon dosis de 2000 UI de hCG, mostró una reducción significativa, comparada con dosis de 5000 y 10000 UI de hCG que demostraron tasas comparables [Abdalla 1987]. En pacientes con alta respuesta, por lo tanto, la dosis de hCG a emplear sería de 5000 UI [Whelan 2000].

b.3 HCG recombinante (hCGr) para maduración final ovocitaria

Estudios clínicos aleatorizados han demostrado que una dosis de 250 ug de hCGr es tan efectiva como una dosis de 10000 UI de hCG para inducir maduración ovocitaria; asimismo las tasas de SHO son similares [Driscoll 2000], por lo tanto emplear hCGr no ofrece ventaja alguna para disminuir el riesgo de SHO en estas pacientes.

b.4 LH recombinante (LHr) para maduración final ovocitaria

Dada la evidencia que brinda a la hCG empleada para maduración ovocitaria un rol mediador en la aparición del SHO (debido probablemente al efecto luteotrópico duradero ejercido por hCG), una estrategia consiste en emplear la LHr en lugar de hCG para maduración folicular.

Bajo condiciones fisiológicas, la ovulación se produce debido a un pico en la concentración de LH. Un estudio sobre LHr [The European Recombinant LH Study Group 2001], demostró que una dosis única de este medicamento (20000 UI) era efectiva en inducir la maduración final y mostraba una reducción significativa de SHO comparado con hCG. Sin embargo; la aplicación práctica de este protocolo resulta sumamente difícil, debido a que esta dosis no se encuentra comercialmente disponible [Ludwig 2003].

b.5 *Coasting*

Descrita a finales de los 80 y principios de los 90 [Rabinovici 1987] [Urman 1992] [Sher 1993]. Es la técnica más difundida ante una alta respuesta [Delvigne 2001]; aunque no elimina el 100% de los casos de SHO.

Se basa en la aceptación de que los niveles de E2 el día de la maduración ovocitaria predice el riesgo para SHO. Cuando una paciente considerada de riesgo presenta niveles “elevados” de E2, se suspenden las dosis de FSH, continuando con los fármacos bloqueadores de la hipófisis (agonistas o antagonistas), hasta que los niveles de estradiol desciendan a un “nivel seguro”. En general se suspenden las gonadotropinas cuando se alcanza un nivel de E2 > 3000 pg/ml; aunque no existe un consenso absoluto en esta cifra [Delvigne 2001]. Posteriormente, se inicia un control exhaustivo de los niveles de E2 que se lleva a cabo hasta que descienda hasta “cierto nivel”, igualmente no existe consenso en dicho nivel

considerado “seguro” aunque la mayoría de centros emplean una cifra de E2 < 3500 pg/ml para inducir la maduración final ovocitaria con hCG [Rabadán 2005].

Un problema final lo plantea el correcto empleo del *coasting* ya que se ha visto una disminución de la calidad ovocitaria [Aboulghar 1997], fecundación [Laufer 1984], y de las tasas de implantación que están en relación estrecha con el tiempo que transcurre desde la suspensión de las gonadotropinas hasta la aplicación de la hCG; que llevan a sugerir a algunos autores la necesidad de congelar los embriones si el *coasting* dura más de 3 días [Ulug 2002], sin embargo, estudios retrospectivos con número importantes de pacientes sólo hallaron una disminución en la tasa de ovocitos recuperados pero no en otros parámetros de calidad ovocitaria o implantación [Delvigne 2002b] [Tortoriello 1998].

La ausencia de estudios de calidad sobre el tema limita en gran medida las conclusiones sobre la efectividad del *coasting* en la prevención de SHO como fuese recientemente publicado por la base de datos Cochrane [Delvigne 2002a].

b.6 Criopreservación de embriones

Una alternativa a la cancelación del ciclo, es administrar la hCG, recuperar los ovocitos, fecundarlos y proceder a su criopreservación. Al emplear esta estrategia se evita el riesgo de SHO tardío ya que no se expone a la paciente a hCG endógena producida por el trofoblasto

implantado; sin embargo el riesgo de SHO temprano no se elimina totalmente ya que se expone a la paciente a hCG exógena.

Los resultados controvertidos en FIV con este procedimiento [Amso 1990] [Benadiva 1997] [Endo 2002], la necesidad de contar con un programa de congelación/descongelación efectivo (no siempre disponible en todos los centros) y la percepción entre los especialistas de que los ciclos de descongelación tienen un impacto negativo en las tasas de gestación, hacen que esta técnica no sea empleada como primera elección [Delvigne 2001].

b.7 Administración de cabergolina

El SHO es el resultado de un incremento de la permeabilidad vascular ocasionado por la producción de factores vasoactivos producidos en el ovario/cuerpo lúteo (e.g., VEGF). En modelos animales se ha descrito que la cabergolina (agonista del receptor 2 de dopamina) inactiva sustancias como el VEGF disminuyendo de esta forma la permeabilidad ovárica. Estudios recientes en ciclos de ovodonación [Alvarez 2007] sugieren un papel preventivo potencial pendiente de mayor evaluación [Soares 2008].

b.8 Agonistas de la GnRH para maduración final ovocitaria

Técnica objeto de la presente Tesis y que será desarrollada en amplitud en los capítulos siguientes.

c. Otras estrategias

c.1 Aspiración folicular temprana unilateral

La hemorragia intrafolicular inducida por la punción ovárica tiene un impacto negativo en la función del cuerpo lúteo como fuese descrito a principios de los 90 [Gonen 1991].

Alguna evidencia sostiene que la aspiración de células de la granulosa disminuiría los niveles circulantes de mediadores químicos implicados en la aparición del SHO aunque este hecho no está exento de controversias en la aplicación práctica [Laufer 1990] [Egbase 1997]. Este hecho aunado a la necesidad de dos tiempos quirúrgicos incide en la poca utilización de esta estrategia [Delvigne 2002c].

Sin embargo como extensión de este principio se ha convertido en práctica común la meticulosa punción y aspiración de todos los folículos estimulados durante la recuperación ovocitaria de la paciente con alta respuesta; conducta que realizamos en nuestra práctica.

c.2 Electrocauterización ovárica por laparoscopia o fertiloscopia

En pacientes con SOP, la destrucción de folículos en la superficie ovárica ha sido empleada por algunos autores para prevenir SHO. El abordaje quirúrgico varía desde laparotomía, laparoscopía y recientemente se ha descrito la técnica mediante fertiloscopia [Fernandez 2004] (Fig. 3.8 y 3.9). Aunque los datos preliminares disponibles sobre esta técnica son alentadores [Fukaya 1995] [Rimington 1997]; la naturaleza invasiva de este procedimiento asociado a sus potenciales complicaciones (adhesiones, pérdida de tejido ovárico) hacen que su aplicación en pacientes con SOP se restringa a casos excepcionales y como último recurso [Delvigne 2001].

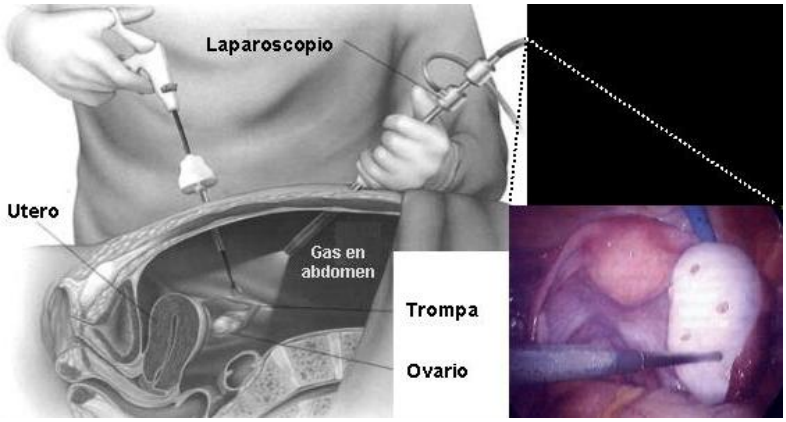


Figura 3.8: Electrocauterización ovárica laparoscópica. Nótese la destrucción folicular en la superficie ovárica.

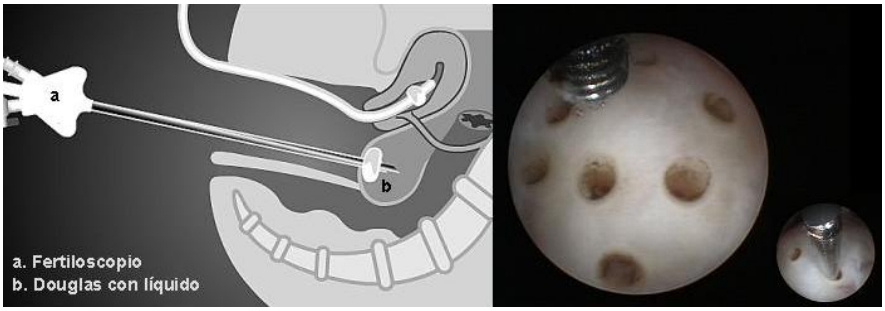


Figura 3.9: Electrocauterización ovárica por fertiloscopia. Esquema de la técnica (izquierda). Detalle de la perforación ovárica (derecha).

3.5 Conclusiones del capítulo

En este capítulo se ha revisado el enfoque diagnóstico de la paciente tributaria de FIV, con especial énfasis en el diagnóstico de la alta respondedora; mostrándose el RFA como una herramienta de suma importancia para la predicción de la respuesta ovárica a los protocolos de estimulación. Además, se ha descrito la forma de dirigir a la paciente con alta respuesta a la estimulación ovárica. El desarrollo de este capítulo ha permitido exponer que:

- La apropiada identificación de las pacientes con riesgo de alta respuesta, en particular las pacientes con ovarios poliquísticos o SOP, permite una adecuada individualización de protocolos de estimulación seguros y eficaces.

- El SHO constituye la consecuencia clínica de riesgo más importante de las pacientes con alta respuesta.
- Hasta el momento, ninguna de las estrategias de prevención empleadas; exceptuando a la cancelación del ciclo, es totalmente eficaz. Sin embargo, la mayoría de las técnicas empleadas disminuye la incidencia en pacientes con alta respuesta con riesgo de SHO.
- A pesar de la amplia utilización del *coasting* para prevenir SHO, no existe evidencia que sugiera (o no) su uso en preferencia a otras estrategias. Asimismo no existe consenso estandarizado en su forma de uso.

Capítulo 4

Diseño del estudio

<< El buen carpintero mide dos veces, corta una.>>

— Proverbio hondureño.

En este capítulo se describirá en detalle el proyecto del estudio, incluyendo la metodología empleada; la inclusión de pacientes, el protocolo a emplear, así como los objetivos pretendidos.

4.1 Hipótesis de trabajo

La hiperestimulación ovárica controlada, tiene al SHO como la complicación más grave. Este síndrome, que potencialmente puede poner en peligro la vida de las pacientes, se caracteriza por: aumento del tamaño ovárico, ascitis, derrame pleural, hemoconcentración, oliguria y tromboembolismo. El SHO de inicio temprano ocurre antes de 10 días tras la inducción de la maduración final ovocitaria; el tardío se presenta luego de transcurridos 10 días [Papanikolaou 2006].

Estudios previos señalan una tendencia a disminuir la incidencia de SHO cuando se emplean protocolos con antagonistas. En un reciente estudio que incluyó alrededor de 2500 ciclos, se halló una incidencia global de 2.1% de SHO (temprano: 1.2%; tardío: 0.9%) en protocolos con antagonistas GnRH, comparado con un 3.3% previamente descrito en protocolo largo con agonistas GnRH [Papanikolaou 2006][Mathur 2000]. Una revisión *Cochrane* señala que el tratamiento con antagonistas GnRH se asocia a una reducción significativa del riesgo de SHO severo, en comparación con el uso de agonistas GnRH [Al-Inany 2007]. La hCG se utilizó en todos estos estudios para inducir la maduración final ovocitaria. Hasta el momento, ningún estudio a gran escala ha investigado la incidencia de SHO cuando se utiliza un agonista GnRH para la maduración final,

y específicamente ninguno ha sido enfocado en la paciente con alta respuesta.

Adicionalmente, y con la finalidad de disminuir la alta tasa de aborto temprano asociada a este protocolo en comparación con el empleo de hCG; se pretende explorar el soporte de fase lútea con dosis bajas de hCG en el grupo de pacientes con alta respuesta.

4.2 Objetivo

El objetivo del presente estudio es, a gran escala:

- Valorar la incidencia de SHO (formas moderada y severa) en mujeres con alta respuesta (definida como el hallazgo de más de 14 folículos $\geq$ 14 mm el día de la inducción final ovocitaria) sometidas a maduración final ovocitaria con un bolo de agonista GnRH, en ciclos FIV/ICSI con protocolo de antagonistas GnRH.

y concomitantemente,

- Explorar el efecto clínico de la utilización de dosis bajas de hCG como soporte de fase lútea en este protocolo.

4.3 Diseño del estudio

En una fase inicial el diseño del estudio fue prospectivo y comparativo. Tras la maduración final ovocitaria con un bolo de agonista GnRH, se procedió a separar aleatoriamente a las pacientes en dos grupos según el soporte de fase lútea utilizado. Grupo uno (fase lútea con dosis estándar de progesterona: 600 mg/día): 71 pacientes y Grupo 2 (fase lútea con P4 más dosis bajas de hCG): 71 pacientes; para alcanzar 80% de poder de detección de una diferencia entre proporciones de grupo de 0,1700. Sin embargo, este diseño tuvo que abandonarse prematuramente debido al pobre resultado reproductivo en uno de los brazos.

Finalmente, la investigación fue redirigida hacia un estudio de cohortes, observacional, secuencial, no controlado, prospectivo de análisis retrospectivo; y que incluyó un total de 192 pacientes en cuatro años de estudio.

4.4 Pacientes

4.4.1 Criterios de inclusión

- El principal criterio de inclusión fue la alta respuesta a la estimulación ovárica en ciclos FIV o ICSI: presencia de $\geq$ 15 folículos $\geq$ 14 mm el día de la maduración final ovocitaria [Papanikolaou 2006].
- Fueron incluidas pacientes en su 1er, 2do o 3er ciclo.

4.4.2 Criterios de exclusión

- Alteraciones médicas significativas en la paciente (diabetes, epilepsia, enfermedad renal, trastornos metabólicos, etc.) incluso si los criterios de inclusión fuesen cumplidos.
- El SOP per se no se consideró criterio de exclusión.

4.4.3 Grupos de tratamiento

En su primera etapa (principios de 2002), tras la maduración final ovocitaria con bolo de agonista GnRH, las pacientes fueron asignadas a uno de los siguientes grupos de acuerdo al soporte de fase lútea empleado:

Grupo A: Progesterona vaginal 600 mg/día

Grupo B: Progesterona vaginal 600 mg/día más 1000 UI de hCG i.m. (tres dosis).

Sin embargo, este diseño se interrumpió precozmente debido a la baja tasa de embarazos (1/15) en el grupo A, comparada con el B (7/15). Este hallazgo planteaba serias cuestiones éticas para continuar con esta línea de investigación.

El diseño del estudio fue entonces reorientado y todas las pacientes recibieron soporte de fase lútea con hCG, siendo incluidas de acuerdo a la siguiente secuencia:

De 2002 – 2003: Grupo A: 44 pacientes (1000 UI de hCG)

De 2003 – 2005: Grupo B: 115 pacientes (500 UI de hCG)

De 2005 – 2006: Grupo C: 33 pacientes (250 UI de hCG)

4.5 Lugar de ejecución

Este proyecto fue realizado en la Unidad de Reproducción Asistida del Hospital Clínico Universitario de Valencia.

4.6 Material y métodos

4.6.1 Protocolo de estimulación

Todas las pacientes recibieron una dosis fija de 150 – 200 UI de FSH recombinante (Gonal-F®; Laboratorios Serono; A. Madrid, España) para la estimulación ovárica, iniciando el 2do o 3er día del ciclo menstrual. La dosis inicial fue pautada según el recuento de folículos antrales y los criterios descritos en el capítulo 3. Tras seis días de estimulación, la dosis de FSH podía ser ajustada según la respuesta ovárica. La prevención del pico prematuro de LH se realizó con 0,25 mg de antagonista GnRH (Cetrotide®; Serono Internacional S.A. Ginebra, Suiza) iniciando cuando el folículo dominante tuviese ≥ 14 mm de diámetro máximo hasta e incluyendo el día de la inducción de la maduración final ovocitaria.

La inducción de la maduración final se realizó con una dosis única de 1,5 mg de acetato de leuprolide (Procrin®; Abbott S.A. Madrid, España) s.c. cuando dos o más folículos alcanzaron un tamaño de 18 - 20 mm. El soporte de fase lútea se inició el día posterior a la punción ovárica/captura ovocitaria (PO) y se administraron dosis fijas de hCG (vía i.m.) (Lepori® Farma-Lepori. Barcelona, España) cada tercer día (PO+1, PO+4 y PO+7) tres dosis en total, adicionalmente se administró progesterona vía vaginal (200 mg x 3)(Progeffik® EFFIK Laboratorios, S.A. Madrid, España) iniciando al día siguiente de la PO y al menos hasta la prueba de embarazo. En caso de gestación la P4 fue continuada hasta la semana 12 de embarazo (Fig. 4.1 y 4.2).

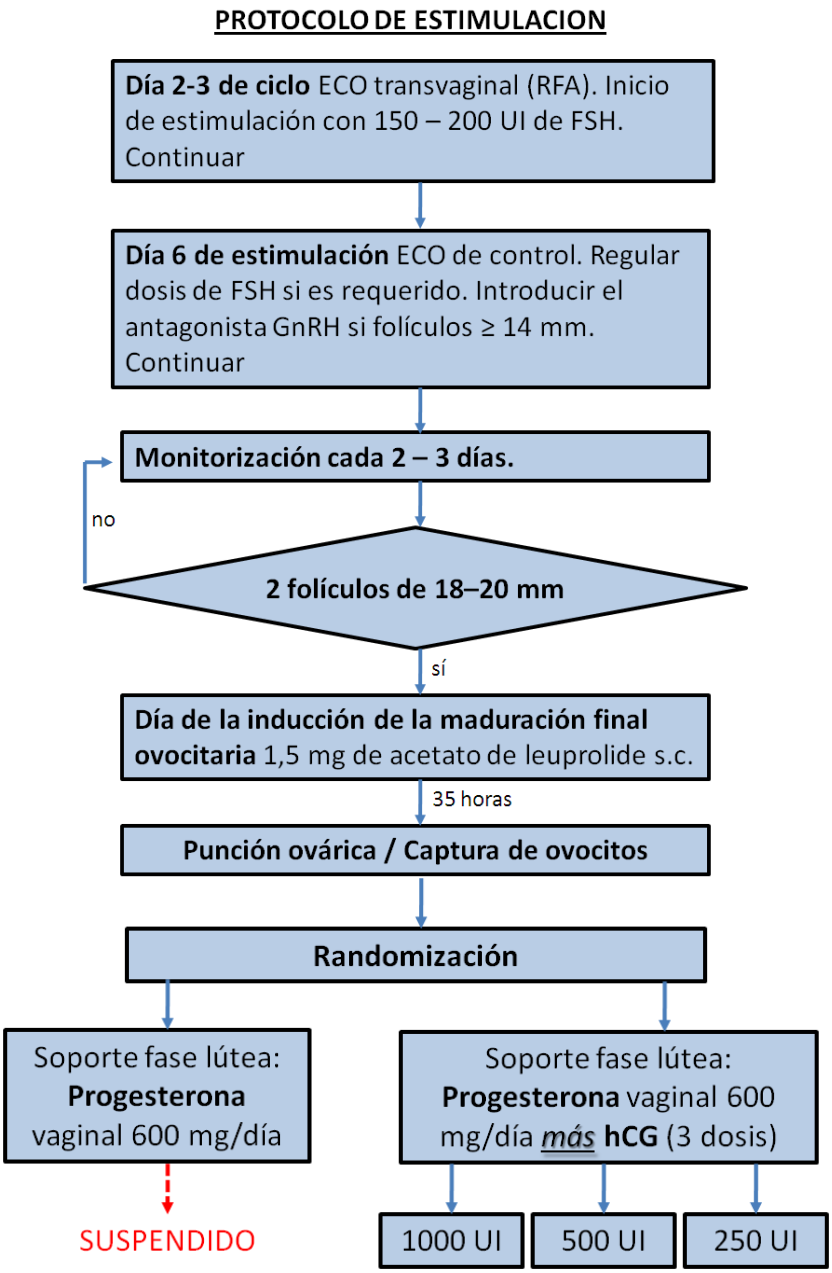


Figura 4.1: Esquema del protocolo de estimulación para manejo de pacientes con alta respuesta. ECO, ecografía. RFA, recuento de folículos antrales.

En fase lútea, se exploraron tres dosis diferentes de hCG como suplemento distribuidos en los grupos A – C durante años consecutivos: Grupo A (n=44): 1000 UI; Grupo B (n=115): 500 UI y Grupo C (n=33): 250 IU.

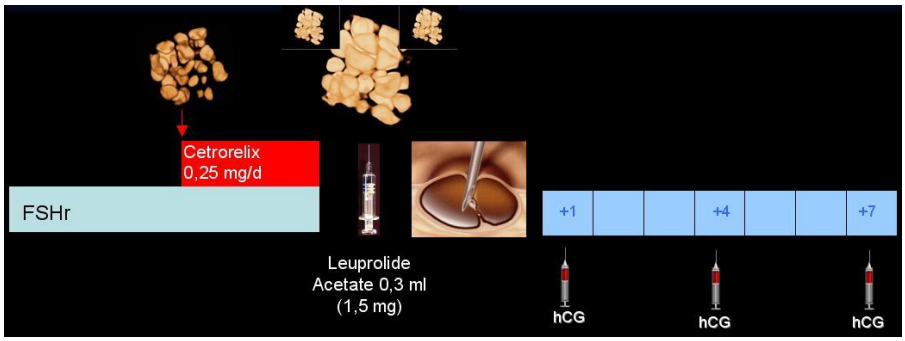


Figura 4.2: Esquema del protocolo de tratamiento y soporte de fase lútea. Se utilizaron 150 – 200 UI de FSH recombinante (FSHr). 0.25 mg/día de antagonista GnRH se añadieron al alcanzar 14 mm el folículo dominante. La inducción final se realizó con 1,5 mg de acetato de leuprolide. El soporte de la fase lútea incluyó tres dosis de hCG (250 – 1000 UI).

Al inicio del estudio la dosis de hCG en fase lútea se pautó teniendo en cuenta las dosis usuales empleadas en ciclos FIV: 2500 UI [Peñarrubia 1998]. Sin embargo al tratarse de altas respondedoras la dosis fue fraccionada (tres dosis de 1000 UI). Luego de un año de empleado este protocolo y tras un análisis interno, se procedió a reducir la dosis a 500 UI, el mismo proceso se

realizó tras dos años con esta segunda dosis hasta llegar finalmente a 250 UI para soporte de fase lútea.

4.7 Aspiración ovocitaria, cultivo, transferencia de embriones

La captura ovocitaria se pautó 35 horas tras la administración del agonista GnRH mediante punción-aspiración transvaginal guiada ecográficamente con sonda vaginal de 5 MHz (ALOKA SSD-1400, Aloka Co. Ltd. Tokio, Japan); con aspirador Labotec 4014, (Göttingen, Germany) y agujas 18G (Cook® medical, USA) y vacío entre 160 – 180 mmHg. Los ovocitos recuperados se inseminaron con FIV o ICSI, según la calidad seminal.

Figura 4.3: Material quirúrgico para la captura ovocitaria. HCUV.

La selección embrionaria se realizó de acuerdo a criterios morfológicos previamente descritos [Veeck 1990]. Todos los embriones fueron transferidos empleando catéteres suaves (Labotect GMBH Labor-Technik_Göttingen) y bajo guía ecográfica (Aloka ultrasound 1400 y sonda abdominal de 3,5 MHz).

4.8 Embarazo

Una gestación bioquímica fue definida por la positividad de un test de hCG en orina (hCG in urine with on-board controls, Inverness medical, Unipath Ltd, Bedford, UK) 14 días luego de la transferencia embrionaria.

El embarazo clínico fue definido como la verificación de un saco gestacional intraútero con actividad cardiaca presente 3 semanas luego del test de hCG en orina positivo.

4.9 Clasificación del SHO

El SHO fue clasificado de acuerdo a la sintomatología, evaluación clínica, ultrasonografía y hallazgos de laboratorio, siguiendo criterios de clasificación previamente descritos [Golan 1989]. Debido a que las formas leves del síndrome carecen de relevancia clínica, únicamente las formas moderada y severa de SHO fueron incluidas en el análisis estadístico.

- SHO Moderado: Definido por distensión abdominal y malestar, náuseas con o sin vómito, evidencia ecográfica de ascitis, tamaño ovárico de 8 – 12 cm, hematocrito de < 45%.
- SHO Severo: Definido por ascitis con o sin hidrotórax, tamaño ovárico variable, hematocrito > 45%, , leucocitosis (> 15.000), oliguria.

4.10 Monitorización del ciclo de estimulación

4.10.1 Ultrasonido

Todas las pacientes fueron sometidas a una ecografía el día **2 ó 3 del ciclo** antes de iniciar la estimulación, luego al **6to día de estimulación** y posteriormente según la respuesta ovárica.

4.10.2 Inducción de la ovulación

La inducción de la maduración final ovocitaria se realizó al verificar dos o más folículos de 18 – 20 mm de diámetro mayor.

4.11 Analítica hormonal

Para el análisis hormonal se obtuvo una muestra de sangre venosa periférica, 1 x 10 ml, de la cual se obtuvo aprox. 4 – 5 ml de suero que fue enviado al laboratorio central de HCUV para análisis. Los niveles de E2 fueron analizados el día de la maduración final ovocitaria (enzyme immunoassay kit, Vidas, Biomerieux, France). La variabilidad intra e interensayo para E2 fue de 2,3% y 3,9% respectivamente. Las unidades se expresan en pg/ml.

4.12 Criterios de valoración

4.12.1 Principales

- Frecuencia del SHO (moderado y severo)
- Tasa de embarazo / ciclo
- Tasa de embarazo clínico / ciclo

4.12.2 Secundarios

- Días de estimulación
- Niveles de estradiol el día de la maduración final
- Número de ovocitos recuperados
- Número de embriones transferidos

4.13 Análisis estadístico

Los datos se procesaron utilizando el *software Statistical Package for Social Sciences* (SPSS) 13.0 (SPSS Inc., USA) y los valores expresados como media +- DE y en porcentaje cuando era aplicable.

Tomando en consideración que los grupos no eran equivalentes en número ni en tiempo de evaluación, el análisis entre grupos se realizó empleando el test no paramétrico de Kruskall Wallis y el test X^2 para las proporciones. Un valor de $p < 0,05$ fue considerado como estadísticamente significativo.

4.14 Información e inclusión de pacientes

A las pacientes que cumplían los criterios de inclusión se les ofrecía verbalmente la participación en el estudio. Dada la aceptación verbal se procedía a la firma del consentimiento informado.

4.15 Ética

Según un estudio piloto interno en la URA del Hospital Clínico Universitario de Valencia (datos no publicados), la inclusión de las pacientes en el presente estudio no alteraba sus posibilidades de conseguir una gestación. Más aún, concerniente al SHO el mismo estudio piloto sugirió una reducción en la incidencia cuando se

empleaba el agonista GnRH para inducir la maduración final ovocitaria. Consideramos que los criterios de la declaración de Helsinki[13] acerca de las buenas prácticas clínicas fueron cumplidos en el presente estudio.

[13] Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial, disponible en: http://www.wma.net/es/30publications/10policies/b3/index.html

Capítulo 5

Resultados

<< Una libra de aprendizaje requiere unas diez libras de sentido común para aprovecharla.>>

— Proverbio persa.

En este estudio se incluyen 192 ciclos de pacientes; subdivididas en tres grupos de acuerdo a la dosis de hCG empleada en la fase lútea, todas ellas sometidas a ciclos de fecundación *in vitro* (Fig. 5.1):

- Grupo A: 44 ciclos; 1000 UI de hCG empleada.
- Grupo B: 115 ciclos; 500 UI de hCG empleada.
- Grupo C: 33 ciclos; 250 UI de hCG empleada.

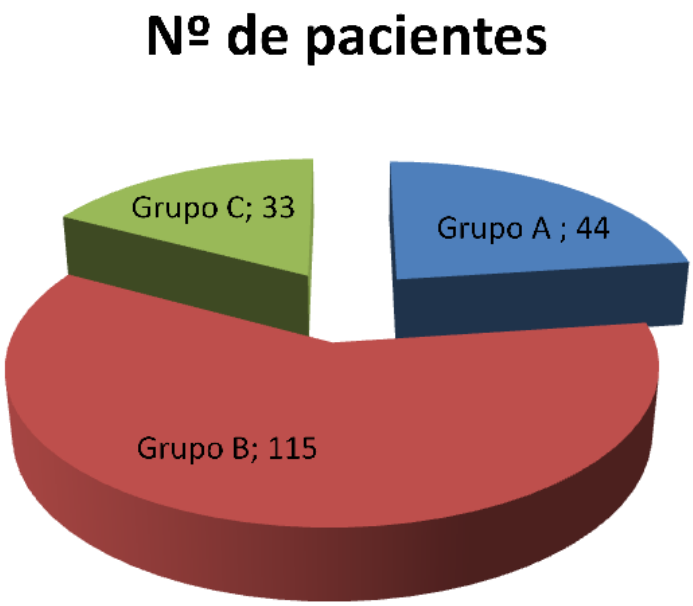


Figura 5.1: Número y distribución de pacientes según la utilización de hCG en fase lútea. Grupo A: 1000 UI, Grupo B: 500 UI, Grupo C: 250 UI.

5.1 Datos generales

El número de pacientes incluido fue: 44, 115 y 33 en los grupos A, B y C respectivamente. Los tres grupos fueron comparables según edad, días de estimulación y niveles de E2 el día de la maduración final ovocitaria. Los niveles de estradiol fueron

2371 +- 1205, 2506 +- 1460 and 2834 +- 1332 pg/ml, en los grupos A, B y C respectivamente (Tabla 5.1).

5.2 Resultado clínico

Un número similar de ovocitos fue recuperado en los grupos A y C, 15,9 +- 6,0 and 17,8 +- 8,1, respectivamente. Significativamente menos ovocitos se recuperaron en el grupo B: 13,4 +- 7,1 (p = 0,001). Significativamente más embriones se obtuvieron en el grupo C: 8,3 +- 5,6 vs grupo A: 6,2 +- 6,2 y grupo B: 5,4 +- 3,6 (p = 0,001). La media de embriones transferidos fue 2,6 +- 0,5 en el grupo A; 2,1 +- 0,4 en el grupo B y 1,9 +- 0,5 en el grupo C, mostrando diferencias entre los tres grupos (p = 0,0001), sin embargo, este hallazgo se podría correlacionar con la tendencia actual de disminuir el número de embriones a transferir (Tabla 5.2).

5.3 Resultado reproductivo

La tasa de embarazo fue de 54,4%; 51,3% and 50% en los grupos A, B y C respectivamente, y las tasas de embarazo clínico por ciclo fueron 47,2%; 42,8% y 40,3% (Tabla 5.2).

5.4 SHO

Un total de 15/192 pacientes (7,8%) desarrolló SHO moderado o severo. Cuatro pacientes (9,1%) en el grupo A, 3 pacientes (2,6%) en el grupo B y 1 paciente (3,0%) en el grupo C desarrollaron SHO moderado. Con respecto al SHO severo: 2 pacientes (4,5%) en el grupo A, 4 pacientes (3,5%) en el grupo B y 1 paciente (3,0%) en el grupo C desarrollaron síntomas severos; no hallándose diferencias diferencias entre los grupos (Tabla 5.3). La gran mayoría,-85,7% (6 de 7) de los casos severos fue SHO de inicio tardío, y un 66,7% ocurrió en gestaciones múltiples (Fig. 5.2).

	Grupo A 1000 UI hCG	Grupo B 500 UI hCG	Grupo C 250 UI hCG	Total
Nº de pacientes	44	115	33	192
Edad (años)	33,5 +- 3,4	32,6 +- 3,5	32,1 +- 3,4	32,7 +- 3,5
Estimulación (días)	8,5 +- 1,3	9,3 +- 2,1	9,4 +- 2,7	9,1 +- 2,1
E2 el día de la ovulación (pg/ml)	2371 +- 1205	2506 +- 1460	2834 +- 1332	2531 +- 1366

Valores presentados como media +- DE

Empleando el test de Kruskal Wallis no se hallaron diferencias significativas

E2 = estradiol; hCG = gonadotropina coriónica humana

Tabla 5.1: Edad de las pacientes y características de la estimulación ovárica.

	Grupo A 1000 UI hCG	Grupo B 500 UI hCG	Grupo C 250 UI hCG	*p*	Total
Nº de pacientes	44	115	33	-	192
Ovocitos recuperados	15,9 +- 6,0 [b]	13,4 +- 7,1 [a]	17,8 +- 8,1 [b]	*0,001*	14,8 +- 7,2
Embriones por ovocito %	39 [a]	40 [a]	46 [b]	*0,0001*	41,6
Embriones transferidos	2,6 +- 0,5 [a]	2,1 +-0,4 [b]	1,9 +- 0,5 [c]	*0,0001*	2,1 +- 0,5
Tasa de embarazo (%)	24/44 (54,5)	59/115 (51,3)	16/33 (50)	*NS*	99/192 (51,8)
Embarazo clínico (%)	21/44 (47,2)	49/115 (42,8)	13/33 (40,3)	*NS*	83/192 (43,4)

Los valores se representan como media +- DE y en porcentaje (%) cuando sea aplicable

[a,b,c] Denota diferencia significativa entre los valores

Los valores mostrados como media +- DE fueron evaluados mediante el test de Kruskal Wallis

Los valores mostrados como porcentaje fueron evaluados mediante el test chi-cuadrado

hCG: gonadotropina coriónica humana; NS: estadísticamente no significativo

Tabla 5.2: Resultados del ciclo de tratamiento.

	Grupo A 1000 UI hCG	Grupo B 500 UI hCG	Grupo C 250 UI hCG	*p*	Total
Nº de pacientes	44	115	33	-	192
SHO moderado n (%)	4 (9,1)	3 (2,6)	1 (3.0)	*0,172*	8 (4,2)
SHO severo n (%)	2 (4,5)	4 (3,5)	1 (3.0)	*0,923*	7 (3,6)

Los valores mostrados en porcentaje (%) fueron evaluados mediante el test de chi-cuadrado no hallándose diferencias significativas.

Tabla 5.3: Incidencia del síndrome de hiperestimulación ovárica.

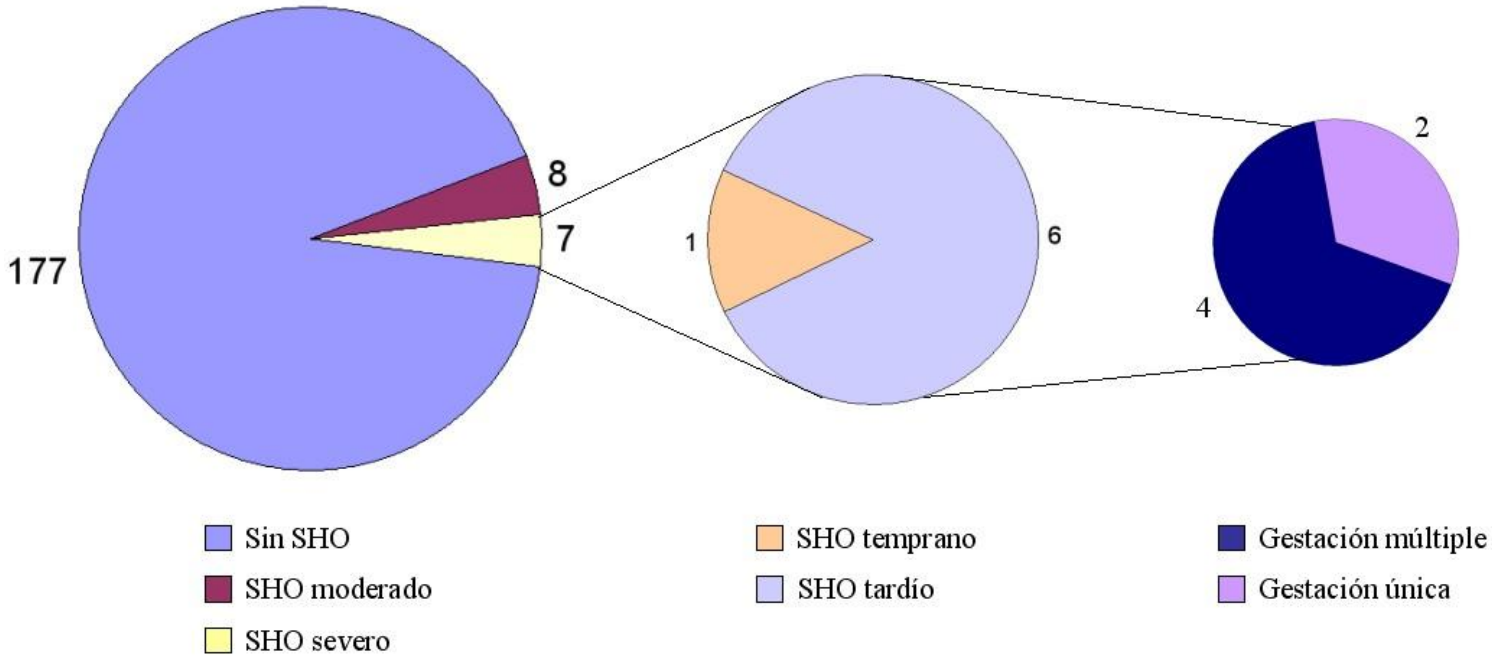


Figura 5.2: Número de casos y distribución del SHO. Nótese la preponderancia de SHO tardío asociado a gestación múltiple en la gran mayoría de casos de SHO severo. SHO: Síndrome de Hiperestimulación Ovárica.

Capítulo 6

Discusión

<<Lo importante es no dejar de hacerse preguntas.>>

— Albert Einstein, 1879 – 1955.

El presente estudio representa un gran esfuerzo enfocado en la paciente de alto riesgo para SHO, valorando la eficacia y seguridad de suplementar la fase lútea con dosis bajas de hCG tras la maduración final ovocitaria con un agonista GnRH. El resultado muestra que empleando este protocolo se logra normalizar el resultado reproductivo en ciclos de fecundación *in vitro*. Con respecto al SHO, se encontró una frecuencia global de 4,2% y 3,6% para los casos moderado y severo respectivamente; además se evidenció una clara tendencia a tener menos casos de SHO de relevancia clínica al emplear menores dosis de hCG como soporte de

fase lútea, y muy importante, se pone de manifiesto una clara relación entre los embarazos múltiples y la presentación de SHO severo al emplear este protocolo.

Publicaciones previas muestran una baja tasa de resultados reproductivos al emplear agonistas GnRH como agentes inductores de la maduración final ovocitaria [Babayof 2006][Itskovitz 2000][Kol 2005][Humaidan 2005a][Kolibianakis 2005]. Este agente es responsable de ocasionar una fase lútea sub-óptima asociada a niveles bajos de hormonas esteroideas y un acortamiento de la fase lútea [Segal 1992][Balasch 1995]; la disminución de los niveles hormonales esteroideos puede llegar a ser abrupta (especialmente en las pacientes con alta respuesta) ocasionando inestabilidad endometrial y comprometiendo receptividad e implantación [Sharara 1999]. Sin embargo, este proceso deletéreo podría ser contrarrestado por la potente acción luteotrópica de la hCG, restaurando la fase lútea [Humaidan 2006]. La consecuencia clínica es la normalización de las tasas de embarazo mostradas en el presente estudio que mostró una tasa global de embarazo del 51,8% y un embarazo clínico del 43,4%. Estos resultados constituyen las tasas “esperadas” en esta población y concuerdan con recientes publicaciones al respecto [Humaidan 2006].

Con la introducción de los antagonistas GnRH en ciclos FIV, revisiones recientes han mostrado una disminución en la presentación de SHO severo [Al-Inany 2007]. Más aún, combinando

el protocolo de antagonistas con la maduración final empleando un bolo de agonistas GnRH se podría reducir aún más la presentación del SHO, como lo sugieren estudios en ciclos de ovodonación [Acevedo 2006][Bodri 2008] y en ciclos FIV [Kolibianakis 2005][Humaidan 2005a]. El SHO severo, como ha sido calculado por la Organización Mundial de la Salud (OMS), se presenta en 0,2 – 1% de todos los ciclos de estimulación en reproducción asistida [Binder 2007]; sin embargo, en pacientes de riesgo -altas respondedoras-, la frecuencia exacta de esta complicación, potencialmente mortal, permanece desconocida. Los casos moderado-severos en las pacientes con alta respuesta en las cuales la maduración final se realiza con dosis estándar de hCG podrían ser hasta del 30% según se puede extraer de las escasas publicaciones sobre el tema.

El SHO se caracteriza fundamentalmente por el crecimiento ovárico debido a la formación de múltiples cuerpos lúteos y la trasudación de fluido y solutos hacia el tercer espacio ocasionada por un incremento de la capilaridad vascular [Aboulghar 2003]. A pesar de su imprecisa etiología, se ha demostrado que tras la administración de hCG para inducir la maduración final, se produce una excesiva secresión de péptidos vasoactivos y esteroides provenientes de los cuerpos lúteos estimulados, que inducirían la pérdida de fluido hacia el tercer espacio. En un esfuerzo por identificar estos agentes como posibles predictores del desarrollo de SHO, una serie de sustancias incluyendo el VEGF, interleukinas e inhibina B, han sido estudiadas. De estas, el estudio de inhibina B ha

mostrado gran potencial, ya que su incremento se ha relacionado con una sensibilización del folículo en crecimiento a la acción de la hCG [Miao 2009].

El VEGF ha sido descrito como un agente vasoactivo clave implicado en el SHO [Pellicer 1999]. Algunos estudios han hallado un incremento del VEGF y otras sustancias proinflamatorias (factor de necrosis tumoral α–TNFα-, y pro-αC) secretadas por las células de la granulosa tras la administración de hCG [Soares 2008]; lo cual incrementaría la permeabilidad vascular; sin embargo, otras publicaciones no hallan diferencias en la expresión de estos factores entre ciclos inducidos con hCG vs aGnRH [Babayof 2006]. Podemos concluir que el VEGF es un factor clave en la fisiopatología del SHO, pero que la medición de sus niveles en sangre para intentar predecir el desarrollo de SHO resulta aún controvertida.

Más recientemente, un grupo de moléculas implicado en la fisiología ovárica -moléculas de adhesión celular- han sido descritas como indicadores de la función del cuerpo lúteo, específicamente la expresion de la CD144/caderina-5 sobre la permeabilidad capilar ha sido evaluada tras la administración de hCG vs aGnRH mostrando una tendencia aunque no significativa hacia una mayor expresión tras la hCG [Cerrillo 2009]. Esta diferencia en la regulación de mediadores vasoactivos inducidos por hCG vs aGnRH podría estar implicada en la reducción del SHO tras la administración del aGnRH.

Basados en estos hallazgos, la sustitución de hCG (que estimula los cuerpos lúteos por más de una semana) por un fármaco alternativo capaz de producir el pico endógeno de LH suficiente para inducir la maduración final ovocitaria, resulta un enfoque de interés para prevenir el SHO. En ese sentido, el agonista de GnRH ha demostrado ser un eficaz inductor de la maduración final ovocitaria, y debido a la corta vida media del pico endógeno de LH que produce, resulta en una disminución de los mediadores implicados en el incremento de la permeabilidad vascular ya que ocasiona una inhibición del funcionamiento de los cuerpos lúteos, lo cual por un lado resulta beneficioso para prevenir el SHO pero que sin embargo hace que un soporte de fase lútea intenso sea esencial para un normal resultado en ciclos de fecundación in vitro.

En el presente estudio, 15 pacientes de un total de 192 (7.8%), desarrollaron ya sea SHO moderado o severo (Tabla 5.3); estos resultados a primera impresión parecen invalidar el propósito de la utilización de un agonista GnRH como inductor final de la maduración ovocitaria – el cual es reducir el SHO – sin embargo, debemos tener en consideración que la población estudiada corresponde a pacientes con alta respuesta a la estimulación (media: 14,8 ovocitos recuperados); la correcta lectura sería que empleando este protocolo se lograría reducir la presentación del SHO al menos en un 50% si comparamos nuestros resultados con la frecuencia de SHO publicada para altas respondedoras en la cuales se empleó dosis estándar de hCG para la maduración final [Dhont

1998][Babayof 2006][Engmann 2008]. Puntualmente, en el grupo C los casos de SHO severo representaron sólo un 3% (1/33 pacientes), este hallazgo creemos que es especialmente relevante para este grupo de pacientes de riesgo. Más aún, el análisis del sub-grupo de casos con SHO severo en este estudio, mostró que la gran mayoría de casos (6 de 7 -85,7%-) correspondían a formas tardías del síndrome, con la aparición de los síntomas a los 11,8 días (media) tras la inducción de la maduración final ovocitaria; además, la gestación gemelar estuvo presente en un 66,7% (4 de 6) de estos casos. Este resultado sugiere que las formas severas de SHO ocurridas en este estudio están claramente relacionadas con el embarazo múltiple y no con el tipo de protocolo empleado. Es conocido que la gestación múltiple eleva los niveles circulantes de hCG endógena que a su vez actuarán sobre los múltiples cuerpos lúteos producidos por las altas respondedoras; la consecuencia clínica puede ser la presentación de un SHO de inicio tardío o el agravamiento de una forma temprana pre-existente. Este conocimiento conlleva la necesidad de minimizar las gestaciones múltiples especialmente en las altas respondedoras, y debido a que en términos generales, este grupo de pacientes es de “buen pronóstico”, la transferencia electiva de embrión único [Moreno 2007] se sugiere como altamente recomendable cuando se utilice hCG como soporte de fase lútea tras el empleo de un agonista GnRH como inductor de la maduración final ovocitaria.

Varios agonistas GnRH están descritos como eficientes inductores de la maduración final ovocitaria (buserelina, triptorelina, leuprorelina, etc) todos ellos con características de grupo similares. Los más empleados en práctica clínica son triptorelina y leuprorelina; y hasta el momento ningún estudio ha demostrado una ventaja clara de un agonista específico sobre otro. Adicionalmente existe una falta de estudios que enfoquen en la dosis "óptima" del agonista para inducir la maduración final; un reciente meta-análisis muestra que las dosis usualmente empleadas son: 0,2 mg de triptorelina y 1-2 mg de leuprorelina [Griesinger 2006]. En nuestro estudio se empleó 1,5 mg de leuprorelina debido a su eficacia [Parneix 2001][Romeu 1997][Bracero 2001] y la experiencia clínica con el fármaco en la URA del HCUV. El presente estudio muestra que el acetato de leuprolide – leuprorelina – es, no solamente un eficiente inductor de la ovulación, sino que además su empleo se relaciona con una disminución de la presentación de SHO de relevancia clínica.

Una menor incidencia de SHO es una las principales razones para inducir la maduración final ovocitaria empleando un agonista GnRH [Revel 2001][Kol 2005]. Sin embargo, el mecanismo exacto de la prevención del SHO tras la ovulación con agonista GnRH permanece aún por ser aclarada. Este hecho parece estar relacionado con la luteólisis, la cual induciría una disminución de las sustancias vasoactivas implicadas en la génesis del SHO (e.g., VEGF) [Kol 2004]. Sin embargo, permanece aún por dilucidar si esta luteólisis es ocasionada por una acción **directa** del agonista sobre el

cuerpo lúteo o una acción **indirecta** mediada por la función hipofisaria. Un efecto directo se considera plausible ya que se han descrito receptores para los agonistas GnRH en órganos extra-hipofisarios [Casañ 2000], incluyendo las células de la granulosa [Latouche 1989][Minaretzis 1995]; más aún, estudios *in vitro* muestran que los agonistas GnRH son capaces de iniciar la cascada de la apoptosis en las células de la granulosa [Takekida 2000]. De otro lado, un efecto indirecto podría estar relacionado con la menor vida media del pico de LH inducido por el agonista y la subsecuente supresión pituitaria que llevaría hacia una luteólisis temprana [Hoff 1983][Itskovitz 1991]. Finalmente, el efecto ocasionado por el agonista GnRH debe ser adicionado a otras posibles causas presumiblemente relacionadas con una fase lútea insuficiente descrita en los ciclos FIV en general [Macklon 2006].

Al utilizar agonistas GnRH para inducir la ovulación y hCG como soporte lúteo se han mostrado buenos resultados en ciclos de inseminación artificial [Peñarrubia 1998]. Sin embargo, para altas respondedoras en ciclos FIV, y debido al prolongado tiempo de vida media de la hCG, en nuestro estudio establecimos una aplicación fraccionada, iniciando 24 horas tras la punción ovárica, este intervalo de tiempo fue establecido empíricamente teniendo en cuenta el hecho de que la punción ovárica/captura ovocitaria constituye un procedimiento deletéreo para la células de la granulosa y por lo tanto el efecto de la hCG podría ser de mayor beneficio luego de este evento. En línea con este argumento, estudios recientes

muestran que la hCG administrada 35 horas [Humaidan 2006] y 44-48 horas [Krause 2005] tras la maduración final con agonista GnRH, restaura efectivamente una óptima fase lútea y las tasas de embarazo en ciclos FIV; esta normalización en las tasas de embarazo ha sido también obtenida tras emplear la "maduración final doble": un bolo de agonista GnRH más una dosis baja de hCG como inductores de la ovulación [Shapiro 2008]. Otros dos estudios [Engmann 2006][Engmann 2008] también confirman la baja incidencia de SHO y normalización de tasas de gestación al emplear agonistas GnRH para maduración final, en estos últimos se empleó un "agresivo" soporte de fase lútea consistente en administración de estradiol vía oral y transdérmica asociado a progesterona i.m. diario. A pesar de que las tasas de implantación fueron restauradas a niveles normales en ambos estudios, existen potenciales sesgos ya que se compararon grupos de pacientes sometidas a diferentes protocolos de estimulación: protocolo largo con agonista versus el protocolo antagonista GnRH/agonista GnRH y se apoyó la fase lútea con dosis individualizadas de parches de estradiol y P4 únicamente en el grupo de estudio. Otro aspecto a tener en cuenta es que la suplementación diaria con progesterona por vía intramuscular hasta las primeras semanas de gestación podría resultar muy incómoda para muchas pacientes.

La población objeto de la presente Tesis fueron las pacientes en riesgo de SHO. Se podría argumentar que según los niveles de estradiol presentados en el trabajo (media: 2531 +- 1366

pg/ml) este riesgo sería discutible. Sin embargo, un estudio reciente mostró que los niveles de E2 el día de la maduración final no son superiores al contaje folicular para identificar pacientes en riesgo de desarrollar SHO [Papanikolaou 2006]. El número de ovocitos recuperados en la población objeto de este estudio se considera suficiente para definir pacientes en riesgo para SHO (14,8 +- 7,2 (media)) y este hallazgo es más confiable en términos de predicción que la concentración de E2 solamente.

Con miras a optimizar este protocolo, debemos dirigirnos en busca de la dosis "óptima" de hCG como soporte lúteo. En nuestro estudio, las gestaciones bioquímicas y las tasas de embarazo clínico fueron similares entre los grupos. Sin embargo, se evidenció una clara tendencia a tener menos casos de SHO en relación a la utilización de menores dosis de hCG. A pesar de no ser estadísticamente significativo, nuestros resultados sugieren que el empleo de tres dosis de 1000 UI de hCG en la fase lútea sería desaconsejable. La administración de 250 o 500 UI, permitió la transferencia de embriones en ciclo fresco, obteniéndose tasas de gestación similares; y su empleo merece mayor investigación. Por último, con el objetivo de disminuir aún más la presentación del SHO, una estricta política de transferencia de embrión único unido a este protocolo se considera una pauta altamente recomendable [Trout 2001]. Además, si el embrión se transfiriese tras un cultivo largo (día +5 o +6), incrementaría el período de observación de nuestra paciente para detectar tempranamente cualquier signo de

aparición y/o evolución del SHO y proceder a la criopreservación embrionaria con transferencia en ciclo posterior en caso de ser necesario (Fig. 6.1).

MANEJO DE PACIENTES CON ALTA RESPUESTA EN CICLOS FIV

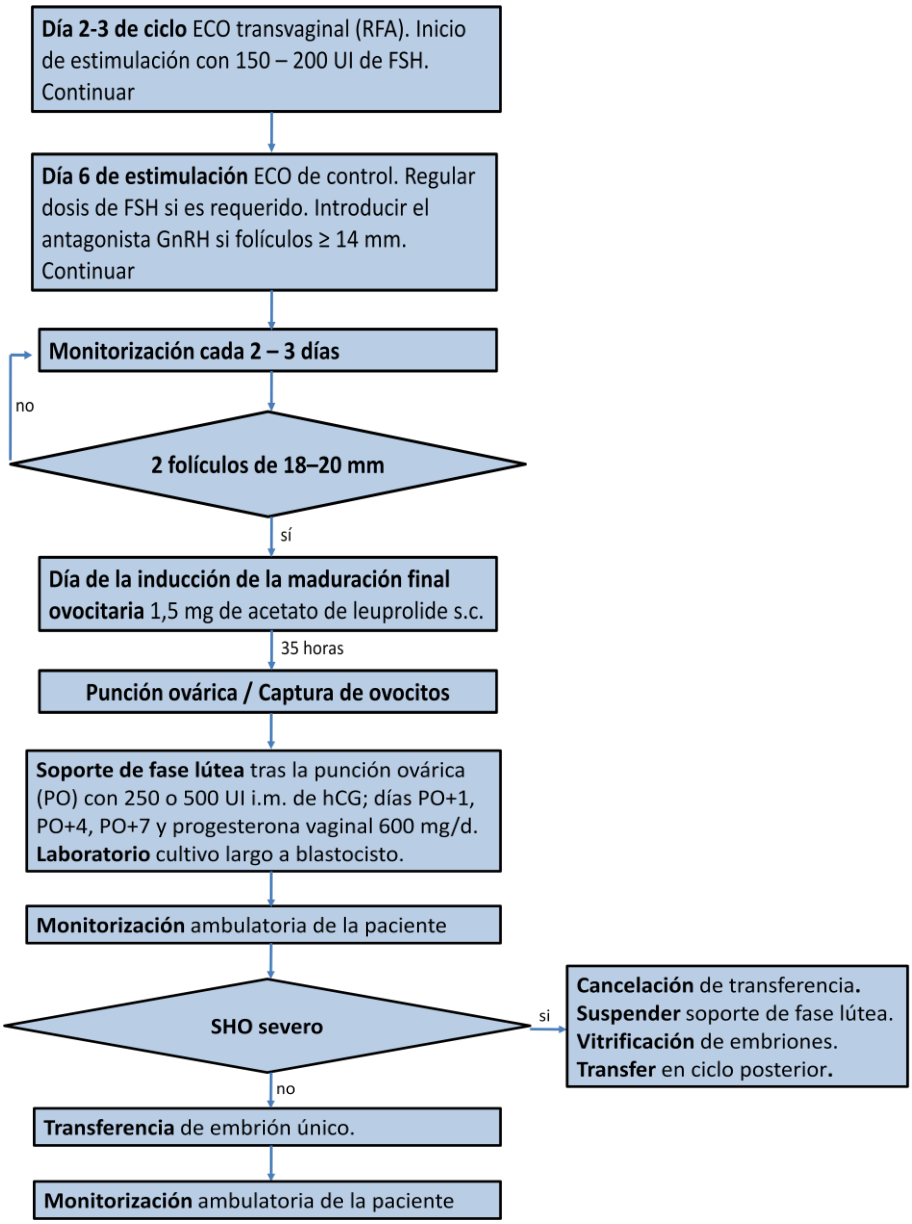


Figura 6.1: Protocolo propuesto para el manejo de pacientes con alta respuesta a la estimulación ovárica en ciclos de fecundación *in vitro*.

Capítulo 7

Conclusiones

<<El pesimista se queja del viento; el optimista espera que cambie; el realista ajusta las velas.>>

— William George Ward. Teólogo y matemático inglés, 1812 – 1882.

En el presente capítulo se enumeran las conclusiones derivadas de la presente Tesis; asimismo, se presenta una relación de las principales aportaciones y publicaciones producto de este trabajo. Finalmente, se sugieren futuras líneas de investigación sobre el tema.

7.1 Conclusiones finales

En conclusión, el presente estudio ha mostrado que:

1. Con la administración de bajas dosis de hCG en la fase lútea tras la maduración final con un agonista GnRH (días PO +1, +4 y +7) resultan tasas de embarazo y de embarazo evolutivo adecuadas al grupo de pacientes que tratamos; además, apoya el concepto acerca de su efectividad en reducir la presentación de SHO de relevancia clínica en pacientes de riesgo.

2. Los tres grupos (250, 500 ó 1000 UI) de hCG permitieron la transferencia de embriones en fresco con similares tasas de gestación.

3. A pesar de no alcanzar diferencia estadísticamente significativa, se constata que con el uso de 500 ó 250 UI de hCG hay una tendencia a que ocurran menos casos de SHO.

4. El protocolo propuesto ha permitido que el 100% de las pacientes sean transferidas con embriones en fresco.

7.2 Resumen de las aportaciones

Las contribuciones más destacadas de esta Tesis son:

1. Se ha investigado el empleo del **agonista GnRH** como inductor de la **maduración final ovocitaria**, particularmente en la paciente con **alta respuesta** a la estimulación.
2. Se ha explorado el efecto de la **suplementación** de la fase lútea con **dosis bajas de hCG** tras el empleo del agonista GnRH.
3. Se ha propuesto un **esquema de tratamiento** para pacientes tributarias de FIV - incidiendo especialmente en las pacientes con alta respuesta -, con el objetivo de **prevenir el SHO** y sin detrimento del resultado reproductivo.
4. Se ha definido que la **transferencia de embrión único** sería un complemento adecuado para el protocolo sugerido con miras de reducir aún más la presentación de SHO.
5. La transferencia en estadío de **blastocisto** –por su tiempo de cultivo largo- incrementaría el **período de observación** de nuestra paciente para detectar precozmente alguna potencial complicación.
6. El protocolo propuesto para manejo de la paciente con alta respuesta ha demostrado ser **eficaz en reducir la presentación de SHO** y **capaz de normalizar la tasas de**

embarazo permitiendo en todos los casos la **transferencia de embriones en fresco**.

7.3 Publicaciones y ponencias derivadas

El presente trabajo de investigación ha derivado en las siguientes publicaciones y ponencias científicas:

1. [Castillo 2007] Castillo J.C., Dolz M., Evangelio B., Abad de Velasco L., Bonilla-Musoles F. **<<Efficacy and security of luteal phase support with low doses of hcg in ohss high risk patients triggered with GnRH agonists>>**. Comunicación oral O-202, sesión 55. XXIII Congreso Anual ESHRE, Lyon, France, Julio, 2007.
2. [Castillo 2008] Castillo J.C., Dolz M., Evangelio B., Abad de Velasco L., Casañ E., Bonilla-Musoles F. **<<Dosis mínima eficaz de hCG como soporte lúteo en pacientes con riesgo de SHO y maduración final con agonista GnRH>>**. Comunicación oral C-12, XXVII Congreso Nacional SEF, Oviedo, España, Mayo, 2008.
3. [Castillo 2009] Castillo J.C., Dolz M., **<<Síndrome de hiperestimulación ovárica III. Prevención con bolo de agonistas>>**. En En F. Bonilla-Musoles, M. Dolz, J. Moreno, F. Raga, ed. *Reproducción Asistida Abordaje en la práctica*

clínica. Madrid: Panamericana. Capítulo 24. ISBN 978-84-9835-156-9, Setiembre, 2009.

4. [Castillo 2010] Castillo J.C., Dolz M., Evangelio B., Abad de Velasco L., Casañ E., Bonilla-Musoles F. **<<Cycles triggered with GnRH agonist: exploring low-dose HCG for luteal support>>**.RBM Online 2010, 20(2), pp. 175-81.

7.4 Investigaciones futuras

Con el objetivo de hallar la dosis "óptima" de hCG en fase lútea dentro de este protocolo; sería necesario realizar estudios comparativos entre las dosis de 500 vs 250 UI, de manera aleatorizada; la adición de un grupo control que incluyera la administración estándar de hCG para maduración final ovocitaria en este grupo de pacientes de riesgo; si bien aportaría un mayor peso de evidencia científica; no está exenta de cuestionamientos éticos significativos que la harían de difícil aplicación en la práctica.

La fase lútea durante este estudio fue cubierta empleando progesterona vaginal además de las dosis de hCG suministradas. El efecto luteotrópico de la hCG como suplemento hace que los niveles séricos de P4 alcancen valores suprafisiológicos [Humaidan 2006], por lo que la administración concomitante de progesterona talvez no sería necesaria; además, dado que la administración vía vaginal diaria puede resultar incomoda para muchas pacientes; evitarla

podría ser beneficioso. Sería interesante estudiar este concepto en estudios comparativos.

Fisiologicamente la hCG endógena producto del embrión implantado es soporte suficiente para mantener el cuerpo lúteo durante los primeros estadíos de la gestación [Speroff 2005]; este hecho plantea la interrogante acerca de la necesidad o no de aplicar la última dosis de hCG utilizada en nuestro estudio (día PO+7) ya que coincide con el periodo peri-implantatorio. Sería beneficioso valorar si únicamente **dos** dosis bajas de hCG (PO+1 y PO+4) serían suficientes en este protocolo.

Por último, pero no menos importante, con el objetivo de reducir aún más la presentación del SHO, se debería estudiar el impacto de una política estricta de transferencia de embrión único; en estadío de blastocisto -de ser posible-; como complemento a la maduración final con agonista GnRH.

La presente Tesis es fruto del estímulo desarrollado en las aulas de **La Universidad de Valencia** *"un cruce del saber, un estimulante espacio para el conocimiento, una Nave para el futuro..."*[14]

Facultat de Medicina i Odontología

[14] Francisco Tomás. Rector de la Universidad de Valencia. 2009. Disponible en: http://www.uv.es/comunica/docs/institucional_sp.pdf

Apéndice A

Abreviaturas

ASRM Sociedad Americana de Medicina Reproductiva, (*American Society of Reproductive Medicine)*.

AVC Cálculo Automático de Volúmen, *(Automatic Volume Calculation)*. *Sofware* empleado en ultrasonidos con tecnología 3D para la valoración de volúmenes.

CTGF Factor de crecimiento del tejido conectivo, *(Conective Tissue Growth Factor).*

DE Desviación estándar.

DGP Diagnóstico genético preimplantación. Identificación de una condición patológica en el óvulo, cigoto o blastocisto antes de la implantación. Un análisis citogenético determina la presencia o ausencia de enfermedad.

e.g. Significa "por ejemplo"; proviene de la expresión en Latín *exempli gratia*.

E2 Estradiol.

ESHRE Sociedad Europea de Reproduccion Humana y Embriología, *(European Society of Human Reproduction and Embriology).*

FIV Fecundación *in vitro.*

FSH Hormona folículo estimulante, *(Follicle Stimulating Hormone)*.

FSHr Hormona folículo estimulante recombinante, *(Follicle Stimulating Hormone recombinant)*. FSH preparada con tecnología DNA recombinante.

GnRH Hormona liberadora de gonadotropinas, *(Gonadotropin-Releasing Hormone).*

hCG Gonadotropina coriónica humana, *(human Chorionic Gonadotropin).*

hCGr Gonadotropina coriónica humana recombinante, *(human Chorionic Gonadotropin recombinant).* hCG preparada con tecnología DNA recombinante.

HCUV Hospital Clínico Universitario de Valencia.

hMG Gonadotropina Menopáusica humana, *(human Menopausal Gonadotropin)*. Extracto de orina de mujeres menopáusicas conteniendo altas concentraciones de gonadotropinas pituitarias. Se les conoce también como Menotropinas.

i.d. Significa "es decir"; proviene de la expresión en Latín *id est*.

i.m. Intramuscular.

IA Inseminación Artificial.

ICSI Inyección Intracitoplasmática de Espermatozoides, *(Intracytoplasmic Sperm Injection).*

IMC Índice de Masa Corporal.

kDa Kilo Daltons.

LH Hormona Luteinizante.

LHr Hormona Luteinizante recombinante, *(Luteinizing Hormone recombinant).* LH preparada con tecnología DNA recombinante.

LHRH Hormona liberadora de la hormona luteinizante, *(Luteinizing Hormone Releasing Hormone)*.

mRNA ARN mensajero.

OMS Organización Mundial de la Salud.

P4 Progesterona. Se denomina P4 debido a que su estructura química corresponde a cuatro anillos A, B, C, D.

PG Prostaglandinas.

RFA Recuento de Folículos Antrales.

s.c. Subcutáneo(a).

SHO Síndrome de Hiperestimulación Ovárica.

SOP Síndrome de Ovarios Poliquísticos.

TE Transferencia embrionaria.

TNFα Factor de necrosis tumoral α, *(Tumoral Necrosis Factor α).*

TRA Técnicas de Reproducción Asistida.

UI Unidades Internacionales.

URA Unidad de Reproducción Asistida.

VEGF Factor de crecimiento vascular endotelial, *(Vascular Endothelial Growth Factor).*

X^2 Prueba estadística no paramétrica de Pearson

Apéndice B

Glosario de términos

A

Aborto clínico: Aborto de un embarazo clínico que tiene lugar entre el diagnóstico del embarazo y las 20 semanas completas de edad gestacional.

B

Blastocisto: Un embrión con una cavidad llena de fluido denominada blastocele (usualmente desarrollado cinco o seis días tras la fecundación).

C

Ciclo cancelado: Un ciclo TRA en el cual se ha llevado a cabo una estimulación ovárica o monitorización con la intención de realizar una TRA pero en la cual no se ha procedido a la punción ovárica/aspiración folicular o en el caso de un embrión descongelado, a la transferencia.

Cigoto: Célula diploide resultante de la fecundación de un óvulo por un espermatozoide que subsecuentemente se desarrolla en un embrión.

Criopreservación: Congelación y almacenamiento de gametos, cigotos o embriones.

D

Diagnóstico genético preimplantación (DPG): Cribado de células provenientes de embriones para la detección de alteraciones genéticas y/o cromosómicas antes de la transferencia.

E

Embarazo bioquímico: Evidencia de concepción basada únicamente en datos bioquímicos en suero u orina antes de la evidencia ultrasonográfica de un saco gestacional.

Embarazo clínico: Evidencia de un embarazo por parámetros clínicos o ecográficos (visualización de un saco gestacional). Incluye los embarazos ectópicos. Sacos gestacionales múltiples en una misma paciente se cuentan como un embarazo clínico.

Embrión: Producto de la concepción desde el momento de la fecundación hasta el final del estadío embrionario luego de ocho semanas (el término "pre-embrión", o concepto en división ha sido reemplazado por el de embrión)[15].

F

Fecundación: Penetración del espermatozoide en el óvulo y fusión de los materiales genéticos que resultarán en el desarrollo de un cigoto.

Fecundación *in vitro* (FIV): Procedimiento TRA que involucra la fecundación extracorpórea.

H

Hiperestimulación ovárica controlada: Tratamiento médico para inducir el desarrollo de múltiples folículos ováricos con la finalidad de obtener múltiples ovocitos en la punción ovárica/aspiración folicular.

I

Implantación: Adhesión y subsecuente penetración por la zona libre del blastocisto (usualmente dentro del

[15] La Ley 14/2006, de 26 de mayo, sobre técnicas de reproducción humana asistida, emplea el término pre-embrión para fines de aplicación legal exclusivamente.

endometrio) que inicia cinco a siete días tras la fecundación.

Inyección intracitoplasmática de espermatozoides: Procedimiento FIV en el cual un único espermatozoide es inyectado a través de la zona pelúcida dentro del ovocito.

O

Ovodonación: Procedimiento TRA realizado con ovocitos de terceros.

S

Saco gestacional: Estructura llena de fluido conteniendo un embrión, que se desarrolla usualmente dentro del útero.

T

Tasa de embarazo clínico: Número de embarazos clínicos expresados por 100 ciclos iniciados, ciclos de aspiración, o ciclos de transferencia embrionaria.

Técnicas de Reproducción Asistida (TRA): Todo tratamiento o procedimiento que incluya la manipulación *in vitro* de ovocitos y esperma humano o embriones con el propósito de conseguir un embarazo. Esto incluye, inseminación artificial, fecundación in vitro e

inyección intracitoplasmática de espermatozoides procedentes de eyaculado, con gametos propios o de donante y con transferencia de embriones, transferencia intratubárica de gametos[16]

Transferencia de embriones: Procedimiento en el cual los embriones son depositados dentro del útero. [Zegers 2006].

[16] De acuerdo a la Ley 14/2006, de 26 de mayo, sobre técnicas de reproducción humana asistida. Disponible en: http://www.boe.es/boe/dias/2006/05/27/pdfs/A19947-19956.pdf

Bibliografía

[Abdalla 1987] ABDALLA, H.I., AH-MOYE, M., BRINSDEN, P., HOWE, D.L., OKONFUA, F. AND CRAFT,I., 1987. The effect of the dose of hCG and the typed gonadotropin stimulation on oocyte recovery rates in an IVF program. *Fertility and Sterility*, 48(6), pp. 958-63.

[Aboulghar 2003] ABOULGHAR, M.A., MANSOUR, R.T., 2003. Ovarian hyperstimulation syndrome: classifications and critical analysis of preventive measures. *Human Reproduction Update*, 9(3), pp. 275-89.

[Aboulghar 1996] ABOULGHAR, M.A., MANSOUR, R.T., SEROUR, G.I. AND RIZK, B. 1996. Ovarian hyperstimulation syndrome: modern concepts in pathophysiology and management. *Middle East Fertility. Society. Journal*, 1, pp. 3-16.

[Aboulghar 1997] ABOULGHAR, M.A., MANSOUR, R.T., SEROUR, G.I., RAMZY, A.M., AMIN, Y.M., 1997. Oocyte quality in patients with severe ovarian hyperstimulation syndrome. *Fertility and Sterility,* 68(6), pp. 1017-21.

[Acevedo 2006] ACEVEDO, B., GOMEZ-PALOMARES, J.L., RICCIARELLI, E., HERNANDEZ, E.R., 2006. Triggering ovulation with gonadotropin-releasing hormone agonists does not compromise embryo implantation rates. *Fertility and Sterility,* 86(6), pp. 1682-7.

[Albano 1997] ALBANO, C., SMITZ, J., CAMUS, M., RIETHMÜLLER-WINZEN, H., VAN STEIRTEGHEM, A., DEVROEY, P., 1997. Comparison of different doses of gonadotropin-releasing hormone antagonist Cetrorelix during controlled ovarian hyperstimulation. *Fertility and Sterility* 67(5), pp. 917–22.

[Al-Inany 2007] AL-INANY, H.G., ABOU-SETTA, A.M., ABOULGHAR, M., 2007. Gonadotrophin-releasing hormone antagonists for assisted conception: a Cochrane review. *Reproductive Biomedicine Online,* 14(5), pp. 640-9.

[Alvarez 2007] ALVAREZ, C., MARTÍ-BONMATÍ, L., NOVELLA-MAESTRE, E., SANZ, R., GÓMEZ, R., FERNÁNDEZ-SÁNCHEZ, M., SIMÓN, C., PELLICER, A., 2007. Dopamine agonist cabergoline reduces hemoconcentration and ascites in hyperstimulated women undergoing assisted reproduction. *Journal of Clinical Endocrinology*

& Metabolism, 92(8), pp. 2931-7.

[Amoss 1971] AMOSS, M., BURGUS, R., BLACKWELL, R., VALE, W., FELLOWS, R., GUILLEMIN, R., 1971. Purification, amino acid composition and N-terminus of the hypothalamic luteinizing hormone releasing factor (LRF) of ovine origin. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, Jul 2; 44(1), pp. 205-10.

[Amso 1990] AMSO, N.N., AHUJA, K.K., MORRIS, N., SHAW, R.W., 1990. The management of predicted ovarian hyperstimulation involving gonadotropin-releasing hormone analog with elective cryopreservation of all pre-embryos. *Fertility and Sterility*, 53(6), pp. 1087-90.

[Anderson 2009] ANDERSON, J., 2009. Degarelix: a novel gonadotropin-releasing hormone blocker for the treatment of prostate cancer. *Future Oncology*; 5(4), pp. 433-43.

[Antman 2002] ANTMAN, A.M., POLITCH, J.A., GINSBURG, E.S., 2002. Conversion of high-response gonadotropin intrauterine insemination cycles to in vitro fertilization results in excellent ongoing pregnancy rates. *Fertility and Sterility,* 77(4), pp. 715-20.

[Babayof 2006] BABAYOF, R., MARGALIOTH, E.J., HULEIHEL, M.,

AMASH, A., ZYLBER-HARAN, E., GAL, M., BROOKS, B., MIMONI, T., ELDAR-GEVA, T., 2006. Serum inhibin A, VEGF and TNFalpha levels after triggering oocyte maturation with GnRH agonist compared with HCG in women with polycystic ovaries undergoing IVF treatment: a prospective randomized trial. *Human Reproduction,* 21(5), pp. 1260-5.

[Balasch 1995] BALASCH, J., FÁBREGUES, F., TUR, R., CREUS, M., CASAMITJANA, R., PEÑARRUBIA, J., BARRI, P.N., VANRELL, J.A., 1995. Further characterization of the luteal phase inadequacy after gonadotrophin-releasing hormone agonist-induced ovulation in gonadotrophin-stimulated cycles. *Human Reproduction,* 10(6), pp. 1377–81.

[Barmat 2005] BARMAT, L.I., CHANTILIS, S.J., HURST, B.S., DICKEY, R.P., 2005. A randomized prospective trial comparing gonadotropin-releasing hormone (GnRH) antagonist/recombinant follicle-stimulating hormone (rFSH) versus GnRH-agonist/rFSH in women pretreated with oral contraceptives before in vitro fertilization. *Fertility and Sterility,* 83(2), pp. 321-30.

[Beckers 2003] BECKERS, N.G., MACKLON, N.S., EIJKEMANS,

M.J., LUDWIG, M., FELBERBAUM, R.E., DIEDRICH, K., BUSTION, S., LOUMAYE, E., FAUSER, B.C., 2003. Nonsupplemented luteal phase characteristics after the administration of recombinant human chorionic gonadotropin, recombinant luteinizing hormone, or gonadotropin-releasing hormone (GnRH) agonist to induce final oocyte maturation in in vitro fertilization patients after ovarian stimulation with recombinant follicle-stimulating hormone and GnRH antagonist cotreatment. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism,* 88(9), pp. 4186-92.

[Belchetz 1978] BELCHETZ, P.E., PLANT, T.M., NAKAI, Y., KEOGH, E.J., KNOBIL, E., 1978. Hypophysial responses to continuous and intermittent delivery of hypothalamic gonadotropin-releasing hormone. *Science*, 202(4368), pp. 631-2.

[Benadiva 1997] BENADIVA, C.A., DAVIS, O., KLIGMAN, I., MOOMJY, M., LIU, H-C., ROSENWAKS, Z., 1997. Withholding gonadotrophin administration is an effective alternative for the prevention of ovarian hyperstimulation syndrome. *Fertility and Sterility*, 67(4), pp. 724-7.

[Binder 2007] BINDER, H., DITTRICH, R., EINHAUS, F., KRIEG, J.,

MÜLLER, A., STRAUSS, R., BECKMANN, M.W., CUPISTI, S., 2007. Update on ovarian hyperstimulation syndrome: Part 1--Incidence and pathogenesis. *International Journal of Fertilityl and Womens Medicine,* 52(1), pp. 11-26.

[Blankstein 1987] BLANKSTEIN, J., LUNENFELD, B., SERR, D.M. AND MASHIACH, S. 1987. Ovarian hyperstimulation syndrome prediction by number and size of preovulatory ovarian follicles. *Fertility and Sterility,* 47(4), pp. 597-602.

[Bodri 2008] BODRI, D., GUILLÉN, J.J., GALINDO, A., MATARÓ, D., PUJOL, A., COLL, O., 2008. Triggering with human chorionic gonadotropin or a gonadotropin-releasing hormone agonist in gonadotropin-releasing hormone antagonist-treated oocyte donor cycles: findings of a large retrospective cohort study. *Fertility and Sterility,* 91(2), pp. 365-71.

[Bonilla 2009] BONILLA-MUSOLES, F., RAGA, F., CASTILLO, J.C., SANZ, M., DOLZ, M., OSBORNE, N., 2009. High doses of GnRH antagonists are efficient in the management of severe Ovarian hyperstimulation syndrome. *Clinical &*

Experimental Obstetrics & Gynecology, 36(2), pp. 78-81

[Bracero 2001] BRACERO, N.J., JUREMA, M.W., POSADA, M.N., WHELAN, J.G., GARCIA, J.E., VLAHOS, N.P., 2001. Triggering ovulation with leuprolide acetate (LA) instead of human chorionic gonadotropin (hCG) after the use of ganirelix for in vitro fertilization–embryo transfer (IVF-ET) does not compromise cycle outcome and may prevent ovarian hyperstimulation syndrome. *Fertility and Sterility* 76, O–245.

[Broekmans 2009] BROEKMANS, F.J., DE ZIEGLER, D., HOWLES, C.M., GOUGEON, A., TREW, G., OLIVENNES, F., 2009. The antral follicle count: practical recommendations for better standardization. *Fertility and Sterility,* Jul 7. [En prensa]

[Broekmans 2004] BROEKMANS, F.J., FADDY, M.J., SCHEFFER, G., TE VELDE, E.R., 2004. Antral follicle counts are related to age at natural fertility loss and age at menopause. *Menopause*, 11(6 Pt 1), pp. 607-14.

[Broekmans 2006] BROEKMANS, F.J., KWEE, J., HENDRIKS, D.J., MOL, B.W., LAMBALK, C.B., 2006. A systematic review of tests predicting ovarian reserve and IVF outcome. *Human Reproduction Update,* 12(6), pp. 685-718.

[Burgus 1972] BURGUS, R., BUTCHER, M., AMOSS, M., LING, N., MONAHAN, M., RIVIER, J., FELLOWS, R., BLACKWELL, R., VALE, W., GUILLEMIN, R., 1972. Primary structure of the ovine hypothalamic luteinizing hormonereleasing factor (LRF) (LH-hypothalamus-LRF-gas chromatography- mass spectrometry-decapeptide-Edman degradation). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America,* 69(1), pp. 278-82.

[Casañ 2000] CASAÑ, E.M., RAGA, F., BONILLA-MUSOLES, F., POLAN, M.L., 2000. Human oviductal gonadotropin-releasing hormone: possible implications in fertilization, early embryonic development, and implantation. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism,* 85(4), pp. 1377-81.

[Castillo 2007] CASTILLO, J.C., DOLZ, M., EVANGELIO, B., ABAD DE VELASCO, L., BONILLA-MUSOLES, F., 2007. Efficacy and security of luteal phase support with low doses of hcg in ohss high risk patients triggered with GnRH agonists. *Human Reproduction*, 22(Supl. 1), pp. i81.

[Castillo 2008] CASTILLO, J.C., DOLZ, M., EVANGELIO, B., ABAD DE VELASCO, L., CASAÑ, E., BONILLA-MUSOLES,

F. 2008. Dosis mínima eficaz de hCG como soporte lúteo en pacientes con riesgo de SHO y maduración final con agonista GnRH. *Revista Iberoamericana de Fertilidad*, 25(Supl. 2), pp. 10-1.

[Castillo 2009] CASTILLO, J.C., DOLZ, M., 2009. Síndrome de hiperestimulación ovárica III. Prevención con bolo de agonistas. En F. Bonilla-Musoles, M. Dolz, J. Moreno, F. Raga, eds. *Reproducción Asistida Abordaje en la práctica clínica*. Madrid: Panamericana. Capítulo 24.

[Castillo 2010] CASTILLO, J.C., DOLZ, M., EVANGELIO, B., ABAD DE VELASCO, L., CASAÑ, E., BONILLA-MUSOLES, F. 2010. Cycles triggered with GnRH agonist: exploring low-dose HCG for luteal support. *Reproductive Bio Medicine Online,* 20(2), pp. 175-81.

[Cerillo 2009] CERRILLO, M., RODRÍGUEZ, S., MAYORAL, M., PACHECO, A., MARTÍNEZ-SALAZAR, J., GARCIA-VELASCO, J.A., 2009. Differential regulation of VEGF after final oocyte maturation with GnRH agonist versus hCG: a rationale for OHSS reduction. *Fertility and Sterility*, 91(4 Suppl), pp. 1526-8.

[Conn 1991] CONN, P.M., CROWLEY, W.F. JR., 1991.

Gonadotropin-releasing hormone and its analogues. *New England Journal of Medicine*, 324(2), pp. 93-103.

[Delvigne 2001] DELVIGNE, A., ROZENBERG, S., 2001. Preventive attitude of physicians to avoid OHSS in IVF patients. *Human Reproduction,* 16(12), pp. 2491-5.

[Delvigne 2002a] DELVIGNE, A., ROZENBERG, S., 2002. A qualitative systematic review of coasting, a procedure to avoid ovarian hyperstimulation syndrome in IVF patients. *Human Reproduction Update*, 8(3), pp. 291-6.

[Delvigne 2002b] DELVIGNE, A., MANIGART, Y., KOSTYLA, K., MURILLO, D., VAN HOECK, J., ROZENBERG, S. 2002. Oocyte quality after coasting for ovarian hyperstimulation syndrome prevention. *Human Reproduction*, 17(Supl.1), pp. 153.

[Delvigne 2002c] DELVIGNE, A., ROZENBERG, S., 2002. Epidemiology and prevention of ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS): a review. *Human Reproduction Update*, 8(6), pp. 559-77.

[Dhont 1998] DHONT, M., VAN DER STRAETEN, F., DE SUTTER, P., 1998. Prevention of severe ovarian hyperstimulation by coasting. *Fertility and Sterility* 70(5), pp. 847-50.

[Diedrich 1994] DIEDRICH, K., DIEDRICH, C., SANTOS, E., ZOLL, C., AL-HASANI, S., REISSMANN, T., KREBS, D., KLINGMÜLLER, D., 1994. Suppression of the endogenous luteinizing hormone surge by the gonadotrophin-releasing hormone antagonist Cetrorelix during ovarian stimulation. *Human Reproduction,* 9(5), pp. 788-91.

[Dolz 2009a] DOLZ, M., 2009. Manejo con agonista-antagonista I. En F. Bonilla-Musoles, M. Dolz, J. Moreno, F. Raga, eds. *Reproducción Asistida Abordaje en la práctica clínica*. Madrid: Panamericana. Capítulo 30.

[Dolz 2009b] DOLZ, M., 2009. Síndrome de ovarios poliquísticos III. Tratamiento reproductivo. En F. Bonilla-Musoles, M. Dolz, J. Moreno, F. Raga, eds. *Reproducción Asistida Abordaje en la práctica clínica*. Madrid: Panamericana. Capítulo 13.

[Driscoll 2000] DRISCOLL, G.L., TYLER, J.P., HANGAN, J.T., FISHER, P.R., BIRDSALL, M.A. AND KNIGHT, D.C., 2000. A prospective, randomized, controlled, double-blind, double-dummy comparison of recombinant and urinary HCG for inducing oocyte maturation and follicular luteinization in ovarian stimulation. *Human Reproduction*,

15(6), pp. 1305-10.

[Duncan 2005] DUNCAN, W.C., HILLIER, S.G., GAY, E., BELL, J., FRASER, H.M., 2005. Connective tissue growth factor expression in the human corpus luteum: paracrine regulation by human chorionic gonadotropin. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism,* 90(9), pp. 5366-76.

[Egbase 1997] EGBASE, P.E., MAKHSEED, M., AL SHARHAN, A. GRUDZINSKAS, J.G., 1997. Timed unilateral ovarian follicular aspiration prior to administration of human chorionic gonadotrophin for the prevention of severe ovarian hyperstimulation syndrome in in-vitro fertilization: a prospective randomized study. *Human Reproduction*, 12(12), pp. 2603-6.

[Egbase 1999] EGBASE, P.E., AL SHARHAN, M., GRUDZINSKAS, J.G., 1999. Early unilateral follicular aspiration compared with coasting for the prevention of severe ovarian hyperstimulation syndrome: a prospective randomized study. *Human Reproduction*, 14(6), pp. 1421–5.

[Emons 1997] EMONS, G., ORTMANN, O., SCHULZ, K.D., SCHALLY, A.V., 1997. Growth-inhibitory actions of analogues of luteinizing hormone releasing hormone on tumor cells. *Trends in*

Endocrinology and Metabolism, 8(9), pp.355-62.

[Emperaire 1992] EMPERAIRE, J.C., RUFFIÉ, A., AUDEBERT, A.J., 1992. [Ovulation induction by endogenous LH released by the administration of an LHRH agonist after follicular stimulation for in vitro fertilization]. *Journal de Gynecologie, Obstetrique et Biologie de la Reproduction* (Paris), 21(5), pp. 489-94.

[Endo 2002] ENDO, T., HONNMA, H., HAYASHI, T., CHIDA, M., YAMAZAKI, K., KITAJIMI, Y., AZUMAGUCHI, A., KAMIYA, H., KUDO, R., 2002. Continuation of GnRH agonist administration for 1 week, after hCG injection, prevents ovarian hyperstimulation syndrome following elective cryopreservation of all pronucleate embryos. *Human Reproduction*, 17(10), pp. 2548-51.

[Engmann 2006] ENGMANN, L., SIANO, L., SCHMIDT, D., NULSEN, J., MAIER, D., BENADIVA, C., 2006. GnRH agonist to induce oocyte maturation during IVF in patients at high risk of OHSS. *Reproductive Biomedicine Online,* 13(5), pp. 639-44.

[Engmann 2008] ENGMANN, L., DILUIGI, A., SCHMIDT, D., NULSEN, J., MAIER, D., BENADIVA, C., 2008. The use of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) agonist to induce oocyte maturation

after cotreatment with GnRH antagonist in high-risk patients undergoing in vitro fertilization prevents the risk of ovarian hyperstimulation syndrome: a prospective randomized controlled study. *Fertility and Sterility,* 89(1), pp. 84-91.

[Enskog 1999] ENSKOG, A., HENRIKSSON, M., UNANDER, M., NILSSON, L., BRANNSTROM, M., 1999. Prospective study of the clinical and laboratory parameters of patients in whom ovarian hyperstimulation syndrome developed during controlled ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization. *Fertility and Sterility*, 71(5), pp. 808-14.

[Eppig 1979] EPPIG, J.J., 1979. FSH stimulates hyaluronic acid synthesis by oocyte-cumulus complexes from mouse preovulatory follicle. *Nature,* 281(5731), pp. 483–4.

[Esinler 2005] ESINLER, I., BAYAR, U., BOZDAG, G., YARALI, H., 2005. Outcome of intracytoplasmic sperm injection in patients with polycystic ovary syndrome or isolated polycystic ovaries. *Fertility and Sterility,* 84(4), pp. 932-7.

[EOSG 2000] EUROPEAN ORGALUTRAN® STUDY GROUP, BORM, G., MANNAERTS, B., 2000. Treatment

with the gonadotropin-releasing hormone antagonist ganirelix in women undergoing controlled ovarian hyperstimulation with recombinant follicle stimulating hormone is effective, safe and convenient: results of a controlled, randomized, multicentre trial. *Human Reproduction,* 15(7), pp. 1490–8.

[Fatemi 2007] FATEMI, H.M., POPOVIC-TODOROVIC, B., PAPANIKOLAOU, E., DONOSO, P., DEVROEY, P., 2007. An update of luteal phase support in stimulated IVF cycles. *Human Reproduction Update,* 13(6), pp. 581-90.

[Fauser 2004] FAUSER, B.C., MACKLON, N.S., 2004. Medical approaches to ovarian stimulation for infertility. En J.F., Strauss, R.L., Barbieri (eds). *Yen and Jaffe's Reproductive Endocrinology,* 5ta ed. Elsevier, Filadelfia, pp. 965–1012.

[Fauser 2002] FAUSER, B.C., DE JONG, D., OLIVENNES, F., WRAMSBY, H., TAY, C., ITSKOVITZ-ELDOR, J., VAN HOOREN, H.G., 2002. Endocrine profiles after triggering of final oocyte maturation with GnRH agonist after cotreatment with the GnRH antagonist ganirelix during ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*,

87(2), pp. 709–15.

[Felberbaum 1995] FELBERBAUM, R.E., REISSMANN, T., KUPKER, W., BAUER, O., AL HASANI, S., DIEDRICH, C., DIEDRICH, K., 1995. Preserved pituitary response under ovarian stimulation with HMG and GnRH antagonists (Cetrorelix) in women with tubal infertility. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, 61(2), pp. 151–5.

[Fernandez 2004] FERNANDEZ, H., WATRELOT, A., ALBY, J.D., KADOCH, J., GERVAISE, A., DETAYRAC, R., FRYDMAN, R., 2004. Fertility after ovarian drilling by transvaginal fertiloscopy for treatment of polycystic ovary syndrome. *The Journal of the American Association of Gynecologic Laparoscopists*, 11(3), pp. 374-8.

[Ferraretti 1983] FERRARETTI, A., GARCIA, J.E., ACOSTA, A.A., JONES, G.S., 1983. Serum luteinizing hormone during ovulation induction with human menopausal gonadotropin for in vitro fertilization in normally menstruating women. *Fertility and Sterility,* 40(6), pp. 742 –7.

[Filicori 1994] FILICORI, M., 1994. Gonadotrophin-releasing hormone agonists. A guide to use and selection. *Drugs*, 48(1), pp. 41–58

[Fleming 1982] FLEMING, R., ADAM, A.H., BARLOW, D.H., BLACK, W.P., MACNAUGHTON, M.C., COUTTS, JR., 1982. A new systematic treatment for infertile women with abnormal hormone profiles. *British Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 89(1), pp. 80–3.

[Fluker 1999] FLUKER, M.R., HOOPER, W.M., YUZPE, A.A., 1999. Withholding gonadotropins ("coasting") to minimize the risk of ovarian hyperstimulation during superovulation and in vitro fertilization-embryo transfer cycles. *Fertility and Sterility*, 71(2), pp. 294-301.

[Frattarelli 2003] FRATTARELLI, J.L., LEVI, A.J., MILLER, B.T., SEGARS, J.H., 2003. A prospective assessment of the predictive value of basal antral follicles in in vitro fertilization cycles. *Fertility and Sterility*, 80(2), pp. 350-5.

[Fujimoto 1997] FUJIMOTO, V.Y., MONROE, S.E., NELSON, L.R., DOWNEY, D., JAFFE, R.B., 1997. Dose-related suppression of serum luteinizing hormone in women by a potent new gonadotropin-releasing hormone antagonist (Ganirelix) administered by intranasal spray. *Fertility and Sterility,* 67(3), pp. 469-73.

[Fukaya 1995] FUKAYA, T., MURAKAMI, T., TAMURA, M.,

WATANABE, T., TERADA, Y. AND YAJIMA, A. 1995. Laser vaporization of the ovarian surface in polycystic ovary disease results in reduced ovarian hyperstimulation and improved pregnancy rates. *American Journal of Obstetrics & Gynecology*, 173(1), pp. 119-25.

[Griesinger 2006] GRIESINGER, G., DIEDRICH, K., DEVROEY, P., KOLIBIANAKIS, E.M., 2006. GnRH agonist for triggering final oocyte maturation in the GnRH antagonist ovarian hyperstimulation protocol: a systematic review and meta-analysis. *Human Reproduction Update*, 12(2), pp. 159-68.

[GDFSG 1998] GANIRELIX DOSE-FINDING STUDY GROUP, 1998. A double-blind, randomized, dose-finding study to assess the efficacy of the gonadotrophin-releasing hormone antagonist ganirelix (Org 37462) to prevent premature luteinizing hormone surges in women undergoing ovarian stimulation with recombinant follicle stimulating hormone (Puregon). The ganirelix dose-finding study group. *Human Reproduction,* 13(11), pp. 3023–31.

[García 2006] GARCIA-VELASCO, J.A., ISAZA, V., QUEA, G., PELLICER, A., 2006. Coasting for the prevention of ovarian hyperstimulation syndrome: much

ado about nothing? *Fertility and Sterility*, 85(3), pp. 547-54.

[Golan 1988] GOLAN, A., RON-EL, R., HERMAN, A., WEINRAUB, Z., SOFFER, CASPI, E., 1988. Ovarian hyperstimulation syndrome following D-Trp-6 luteinising hormone releasing hormone microcapsules and menotrophin for in vitro fertilization. *Fertility and Sterility*, 50(6), pp. 912-6.

[Golan 1989] GOLAN, A., RON-EL, R., HERMAN, A., SOFFER, Y., WEINRAUB, Z., CASPI, E., 1989. Ovarian hyperstimulation syndrome: an update review. *Obstetrical & Gynecological Survey,* 44(6), 430-40.

[Gómez 2009] GÓMEZ-GARCÍA, B., BAJO, J.M., COROLEU, B., 2009. Monitorización ultrasonográfica del ciclo ovárico. En: Fundamentos de reproducción. J.M. Bajo, B. Coroleu, editores. S.E.G.O. Madrid. 2009, cap. 9.

[Gonen 1990] GONEN, Y., BALAKIER, H., POWELL, W., CASPER, R.F., 1990. Use of GnRH agonist to trigger follicular maturation for in vitro fertilization. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism,* 71(4), pp. 918–22.

[Gonen 1991] GONEN, Y., POWELL, W.A., CASPER, R.F., 1991.

Effect of follicular aspiration on hormonal parameters in patients undergoing ovarian stimulation. *Human Reproduction*, 6(3), pp. 356-8.

[Gougeon 1984] GOUGEON, A., 1984. Caracteres qualitatifs et quantitatifs de la population folliculaire dans l'ovaire humaine adulte. *Contraception, fertilité, sexualité*, 12(3), pp.527–35.

[Griesinger 2006] GRIESINGER, G., DIEDRICH, K., TARLATZIS, B.C., KOLIBIANAKIS, E.M., 2006. GnRH-antagonists in ovarian stimulation for IVF in patients with poor response to gonadotrophins, polycystic ovary syndrome, and risk of ovarian hyperstimulation: a meta-analysis. *Reproductive BioMedicine Online,* 13(5), pp. 628-38.

[Gustofson 2006] GUSTOFSON, R.L., SEGARS, J.H., LARSEN, F.W. 2006. Ganirelix acetate causes a rapid reduction in estradiol levels without adversely affecting oocyte maturation in women pretreated with leuprolide acetate who are at risk of ovarian hyperstimulation syndrome. *Human Reproduction,* 21(11), pp. 2830-7.

[Haning 1983] HANING, R.V., JR, AUSTIN, C.W., CARLSON, I.H., KUSAM, D.L., SHAPIRO, S.S., ZWEIBEL, W.L., 1983. Plasma estradiol is superior to ultrasound

and urinary estriol glucuronide as a predictor of ovarian hyperstimulation during induction of ovulation with menotropins. *Fertility and Sterility*, 40(1), pp. 31-6.

[Hazum 1988] HAZUM, E.; CONN, P.M., 1988. Molecular mechanism of gonadotropin releasing hormone (GnRH) action. I. The GnRH receptor. *Endocrine Reviews, 9(4)*, pp. 379-86.

[Hendriks 2004] HENDRIKS, D.J., KLINKERT, E.R., BANCSI, L.F., LOOMAN, C.W., HABBEMA, J.D., TE VELDE, E.R., BROEKMANS, F.J., 2004. Use of stimulated serum estradiol measurements for the prediction of hyperresponse to ovarian stimulation in in vitro fertilization (IVF). *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 21(3), pp. 65-72.

[Hendriks 2007] HENDRIKS, D.J., KWEE, J., MOL, B.W., TE VELDE, E.R., BROEKMANS, F.J., 2007. Ultrasonography as a tool for the prediction of outcome in IVF patients: a comparative meta-analysis of ovarian volume and antral follicle count. *Fertility and Sterility,* 87(4), pp. 764-75.

[Ho 2003] HO, H.Y., LEE, R.K., LIN, M.H., HWU, Y.M. 2003. Estradiol level on day 9 as a predictor of risk for ovarian hyperresponse during controlled

ovarian hyperstimulation. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 20 (6), 222-6.

[Hodgen 1982] HODGEN, G.D., 1982. The dominant ovarian follicle. *Fertility and Sterility,* 38(3), pp. 281–300.

[Hoff 1983] HOFF, J.D., QUIGLEY, M.E., YEN, S.S., 1983. Hormonal dynamics at midcycle: a reevaluation. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism,* 57(4), pp. 792-6.

[Hsueh 1981] HSUEH, A.J., JONES, P.B., 1981. Extrapituitary actions of gonadotropin-releasing hormone. *Endocrine Reviews*, 2(4), pp. 437-61.

[Humaidan 2005a] HUMAIDAN, P., BREDKJAER, H.E., BUNGUM, L., BUNGUM, M., GRØNDAHL, M.L., WESTERGAARD, L., ANDERSEN, C.Y., 2005. GnRH agonist (Buserelin) or HCG for ovulation induction in GnRH antagonist IVF/ICSI cycles: a prospective randomised study. *Human Reproduction,* 20(5), pp. 1213–20.

[Humaidan 2005b] HUMAIDAN, .P, BUNGUM, L., BUNGUM, M., HALD, F., AGERHOLM, I., BLAABJERG, J., YDING ANDERSEN, C., LINDENBERG, S., 2005. Reproductive outcome using a GnRH antagonist (cetrorelix) for luteolysis and follicular synchronization in poor responder IVF/ICSI

patients treated with a flexible GnRH antagonist protocol. *Reproductive Biomedicine Online,* 11(6), pp. 679-84.

[Humaidan 2006] HUMAIDAN, P., BUNGUM, L., BUNGUM, M., *YDING ANDERSEN, C.,* 2006. Rescue of corpus luteum function with peri-ovulatory HCG supplementation in IVF/ICSI GnRH antagonist cycles in which ovulation was triggered with a GnRH agonist: a pilot study. *Reproductive BioMedicine Online* 13(2), pp. 173-8.

[Imai 2007] IMAI, A., FURUI, T., 2007. Chemotherapy-induced female infertility and protective action of gonadotropin-releasing hormone analogues. *Journal of obstetrics and gynaecology*, 27(1), pp. 20-4.

[Imoedemhe 1991] IMOEDEMHE, D.A., SIGUE, A.B., PACPACO, E.L., OLAZO, A.B., 1991. Stimulation of endogenous surge of luteinizing hormone with gonadotropin-releasing hormone analogoue after ovarian stimulation for in vitro fertilization. *Fertility and Sterility,* 55(2), pp. 328–32.

[Itskovitz 1991] ITSKOVITZ, J., BOLDES, R., LEVRON, J., ERLIK, Y., KAHANA, L., BRANDES, J.M., 1991. Induction of preovulatory luteinizing hormone surge and

prevention of ovarian hyperstimulation syndrome by gonadotropin-releasing hormone agonist. *Fertility and Sterility* 56(2), pp. 213–20.

[Iskovitz 1998] ITSKOVITZ-ELDOR, J., KOL, S., MANNAERTS, B., COELINGH BENNINK, H., 1998. Case report: first established pregnancy after controlled ovarian hyperstimulation with recombinant follicle stimulating hormone and gonadotrophin releasing hormone antagonist ganirelix (Org 37462). *Human Reproduction,* 13, pp. 295.

[Itskovitz 2000] ITSKOVITZ-ELDOR, J., KOL, S., MANNAERTS, B., 2000. Use of a single bolus of GnRH agonist triptorelin to trigger ovulation after GnRH antagonist ganirelix treatment in women undergoing ovarian stimulation for assisted reproduction, with special reference to the prevention of ovarian hyperstimulation syndrome: preliminary report: short communication. *Human Reproduction,* 15(9), pp. 1965-8.

[Karten 1986] KARTEN, M.J., RIVIER, J.E., 1986. Gonadotropin-releasing hormone analog design. Structurefunction studies toward the development of agonists and antagonists: rationale and perspective. *Endocrine Review,*

7(1), pp. 44-66.

[Kessler 1979] KESSLER, M.J., REDDY, M.S., SHAH, R.H., BAHL, O.P., 1979. Structures of N-glycosidic carbohydrate units of human chorionic gonadotropin. *The Journal of biological chemistry,* 254(16), pp. 7901–8.

[Kligman 2001] KLIGMAN, I., ROSENWAKS, Z., 2001. Differentiating clinical profiles: predicting good responders, poor responders, and hyperresponders. *Fertility and Sterility,* 76(6), pp. 1185-90.

[Kol 2000] KOL, S., ITSKOVITZ-ELDOR, J., 2000. Severe OHSS: yes, there is a strategy to prevent it!. *Human Reproduction,* 15(11), pp. 2266-7.

[Kol 2004] KOL, S., 2004. Luteolysis induced by a gonadotropin-releasing hormone agonist is the key to prevention of ovarian hyperstimulation syndrome. *Fertility and Sterility,* 81(1), pp. 1-5.

[Kol 2005] KOL, S., MUCHTAR, M., 2005. Recombinant gonadotrophin-based, ovarian hyperstimulation syndrome-free stimulation of the high responder: suggested protocol for further research. *Reproductive BioMedicine Online* 10(5), pp. 575–7.

[Kol 2006] KOL, S., 2006. Agonist trigger in the context of

OHSS prevention: primum non nocere. *Human Reproduction Update,* 12(3), pp. 327-8.

[Kolibianakis 2005] KOLIBIANAKIS, E.M., SCHULTZE-MOSGAU, A., SCHROER, A., VAN STEIRTEGHEM, A., DEVROEY, P., DIEDRICH, K., GRIESINGER, G., 2005. A lower ongoing pregnancy rate can be expected when GnRH agonist is used for triggering final oocyte maturation instead of HCG in patients undergoing IVF with GnRH antagonists. *Human Reproduction,* 20(10), pp. 2887–92.

[Krause 2006] KRAUSE, B.T., OHLINGER, R., 2006. Safety and efficacy of low dose hCG for luteal support after triggering ovulation with a GnRH agonist in cases of polyfollicular development. *European Journal Of Obstetrics, Gynecology, and Reproductive Biology*, 126(1), pp. 87-92.

[Kwee 2007] KWEE, J., ELTING, M.E., SCHATS, R., MCDONNELL, J., LAMBALK, C.B., 2007. Ovarian volume and antral follicle count for the prediction of low and hyper responders with in vitro fertilization. *Reproductive Biology and Endocrinology*. 15; pp. 5-9.

[Latouche 1989] LATOUCHE, J., CRUMEYROLLE-ARIAS, M., JORDAN, D., KOPP, N., AUGENDRE-FERRANTE, B., CEDARD, L., HAOUR, F., 1989. GnRH

receptors in human granulosa cells: anatomical localization and characterization by autoradiographic study. *Endocrinology,* 125(3), pp. 1739-41.

[Laufer 1984] LAUFER, N., DECHERNEY, A.H., TARLATZIS, B.C., ZUCKERMAN, A.L., POLAN, M.L., DLUGI, A.M., GRAEBE, R., BARNEA, E.R., NAFTOLIN, F., 1984. Delaying human chorionic gonadotrophin administration in human menopausal gonadotrophin-induced cycles decreases successful in vitro fertilization of human oocytes. *Fertility and Sterility,* 42(2), pp. 198-203.

[Laufer 1990] LAUFER, N., GRUNDFELD, L. AND GARRISI, G.J., 1990. In vitro fertilization. *In:* Leibel, M.M. (ed.), Infertility: A Comprehensive Text. Appleton-Lange, Norwalk: CT, 481-511.

[Ludwig 2003] LUDWIG, M., DOODY, K., DOODY, K., 2003. Use of recombinant human chorionic gonadotropin in ovulation induction. *Fertility and Sterility*, 79(5), pp. 1051-9.

[Macklon 2006] MACKLON, N.S., STOUFFER, R.L., GIUDICE, L.C., FAUSER, B.C., 2006. The science behind 25 years of ovarian stimulation for in vitro fertilization. *Endocrine Reviews,* 27(2), pp. 170-207.

[Mannaerts 1998] MANNAERTS, B.M., GEURTS, T.B., ODINK, J., 1998. A randomized three-way cross-over study in healthy pituitary-suppressed women to compare the bioavailability of human chorionic gonadotrophin (Pregnyl) after intramuscular and subcutaneous administration. *Human Reproduction,* 13(6), pp. 1461-4.

[Mansour 2003] MANSOUR, R.T., ABOULGHAR, M.A., SEROUR, G.I., AL-INANY, H.G., AMIN, Y.M., ABOU-SETTA, A.M., 2003. The use of gonadotropin-releasing hormone antagonist in a flexible protocol: a pilot study. *American Journal of Obstetrics and Gynecology,* 189(2):444-6.

[Mathur 2000] MATHUR, R.S., AKANDE, A.V., KEAY, S.D., HUNT, L.P., JENKINS, J.M., 2000. Distinction between early and late ovarian hyperstimulation syndrome. *Fertility and Sterility,* 73(5), pp. 901-7.

[McArdle 2002] MCARDLE, C.A., FRANKLIN, J., GREEN, L., HISLOP, J.N., 2002. The gonadotrophin-releasing hormone receptor: signalling, cycling and desensitisation. *Archives of Physiology and Biochemistry,* 110(1-2), pp. 113-22.

[Miao 2009] MIAO, M.F., HUANG, H.F., 2009. Dynamic measurements of serum inhibin B and estradiol:

a predictive evaluation of ovarian response to gonadotrophin stimulation in the early stage of IVF treatment. *Journal of Zhejiang University. Science. B.,* 10(1), pp. 35-45.

[Minaretzis 1995] MINARETZIS, D., JAKUBOWSKI, M., MORTOLA, J.F., PAVLOU, S.N., 1995. Gonadotrophin releasing hormone receptor gene expression in human ovary and granulosa lutein cells. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 80(2), pp. 430–4.

[Moreno 2007] MORENO. J., 2007, "Mejora clínica de la implantación embrionaria mediante la utilización de medios secuenciales definidos químicamente para el desarrollo de embriones humanos hasta el estadio de blastocistos", Tesis doctoral, Universidad de Valencia, Valencia, España.

[Morgan 1986] MORGAN, J.E., O'NEIL, C.E., COY, D.H., HOCART, S.J., NEKOLA, M.V., 1986. Antagonistic analogs of luteinizing hormone-releasing hormone are mast cell secretagogues. *International Archives of Allergy and Applied Immunology,* 80(1), pp. 70-5.

[Nakano 1973] NAKANO, R., MIZUNO, T., KOTSUJI, F., KATAYAMA, K., WSHIO, M., TOJO, S., 1973.

"Triggering" of ovulation after infusion of synthetic luteinizing hormone releasing factor (LRF). *Acta Obstetricia et Gynecologica Scandinavica,* 52(3), pp. 269–72.

[Nathwani 2000] NATHWANI, P.S., KANG, S.K., CHENG, K.W., CHOI, K.C., LEUNG, P.C., 2000. Regulation of gonadotropin-releasing hormone and its receptor gene expression by 17beta-estradiol in cultured human granulosa-luteal cells. *Endocrinology*, 141(5), pp. 1754–63.

[Navot 1988] NAVOT, D., RELOU, A., BIRKENFELD, A., RABINOWITZ, R., BRZEZINSKI, A., MARGALIOTH, E.J., 1988. Risk factors and prognostic variables in the ovarian hyperstimulation syndrome. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 159(1), pp. 210-5.

[Navot 1992] NAVOT, D., BERGH, P.A., LAUFER, N., 1992. Ovarian hyperstimulation syndrome in novel reproductive technologies: prevention and treatment. *Fertility and Sterility*, 58(2), pp. 249-61.

[Oktay 2006] OKTAY, K., HOURVITZ, A., SAHIN, G., OKTEM, O., SAFRO, B., CIL, A., BANG, H., 2006. Letrozole reduces estrogen and gonadotropin exposure in women with breast cancer undergoing ovarian

stimulation before chemotherapy. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism,* 91(10), pp. 3885-90.

[Oktay 2008] OKTAY, K., 2008. *GnRh agonist for triggering ovulation in letrozole protocol for cancer patients?* [*E-mail*] (Comunicación personal, 29 de abril 2008).

[Olivennes 1998] OLIVENNES, F., ALVAREZ, S., BOUCHARD, P., FANCHIN, R., SALAT-BAROUX, J., FRYDMAN, R., 1998. The use of a GnRH antagonist (Cetrorelix) in a single dose protocol in IVF-embryo transfer: a dose finding study of 3 versus 2 mg. *Human Reproduction,* 13(9), pp. 2411–4.

[Olivennes 1996] OLIVENNES, F., FANCHIN, R., BOUCHARD, P., TAIEB, J., FRYDMAN, R., 1996. Triggering of ovulation by a gonadotropin-releasing hormone (GnRH) agonist in patients pretreated with a GnRH antagonist. *Fertility and Sterility,* 66(1), pp. 151–3.

[Oon 2000] OON, V.J., JOHNSON, M.R., 2000. The regulation of the human corpus luteum steroidogenesis: a hypothesis? *Human Reproduction Update,* 6(5), pp. 519-29.

[Ortmann 1999] ORTMANN, O., DIEDRICH, K., 1999. Pituitary and extrapituitary actions of gonadotrophin-

releasing hormone and its analogues. *Human Reproduction,* 14(Supl. 1), pp. 194-206.

[Orvieto 2009] ORVIETO, R., HOMBURG, R., MELTCER, S., RABINSON, J., ANTEBY, E.Y., SCHARF, S., 2009. GnRH agonist versus GnRH antagonist in controlled ovarian hyperstimulation: their role in patients with an unfavorable prognosis a priori. *Fertility and Sterility,* 91(Supl. 4), pp. 1378-80.

[Pache 1990] PACHE, T.D., WLADIMIROFF, J.W., DE JONG, F.H., HOP, W.C., FAUSER, B.C., 1990. Growth patterns of nondominant ovarian follicles during the normal menstrual cycle. *Fertility and Sterility,* 54(4), pp. 638–42.

[Papanikolaou 2006] PAPANIKOLAOU, E.G., POZZOBON, C., KOLIBIANAKIS, E.M., CAMUS, M., TOURNAYE, H., FATEMI, H.M., VAN STEIRTEGHEM, A., DEVROEY, P., 2006. Incidence and prediction of ovarian hyperstimulation syndrome in women undergoing gonadotropin-releasing hormone antagonist in vitro fertilization cycles. *Fertility and Sterility,* 85(1), pp. 112-20.

[Parneix 2001] PARNEIX, I., EMPERAIRE, J.C., RUFFIE, A, PARNEIX, P., 2001. Comparison of different protocols of ovulation induction, by GnRH

agonists and chorionic gonadotropin, *Gynécologie Obstétrique & Fertilité,* 29(1), pp. 100-5.

[Pellicer 1999] PELLICER, A., ALBERT, C., MERCADER, A., BONILLA-MUSOLES, F., REMOHI, J., SIMON, C., 1999. The pathogenesis of ovarian hyperstimulation syndrome: in vivostudies investigating the role of interleukin-1beta, interleukin-6, and vascularendothelial growth factor. *Fertility and Sterility,* 71, pp. 482–9.

[Peñarrubia 1998] PEÑARRUBIA, J., BALASCH, J., FÁBREGUES, F., CREUS, M., CASAMITJANA, R., BALLESCÁ, J.L., PUERTO, B., VANRELL, J.A., 1998. Human chorionic gonadotrophin luteal support overcomes luteal phase inadequacy after gonadotrophin-releasing hormone agonist-induced ovulation in gonadotrophin-stimulated cycles. *Human Reproduction,* 13(12), pp. 3315–8.

[Pirard 2006] PIRARD, C., DONNEZ, J., LOUMAYE, E., 2006. GnRH agonist as luteal phase support in assisted reproduction technique cycles: results of a pilot study. *Human Reproduction, 21*(7), pp. 1894-900.

[Rabadán 2005] RABADÁN, S, 2005. Actitud ante la alta

respuesta. Coasting. *En*: Manual práctico de esterilidad y reproducción humana. 2ª ed. Madrid: Mc Graw-Hill. Interamericana, 133-141.

[Rabinovici 1987] RABINOVICI, J., KUSHNIR, O., SHALEV, J., GOLDENBERG, M., BLANKSTEIN, J., 1987. Rescue of menotrophin cycles prone to develop ovarian hyperstimulation. *British Journal of Obstetrics and Gynaecology,* 94(11), pp. 1098-102.

[Raga 2009] RAGA, F, 2009. Manejo con agonistas-antagonistas II. Protocolos. En F. Bonilla-Musoles, M. Dolz, J. Moreno, F. Raga, ed. *Reproducción Asistida Abordaje en la práctica clínica*. Madrid: Panamericana. Capítulo 31.

[Rahimipour 2001] RAHIMIPOUR, S., BEN-AROYA, N., FRIDKIN, M., KOCH, Y., 2001. Design, synthesis, and evaluation of a long-acting, potent analogue of gonadotropin-releasing hormone. *Journal of Medicinal Chemistry,* 44(22), pp. 3645-52.

[Revel 2001] REVEL, A., CASPER, R.F., 2001. The use of LHRH agonists to induce ovulation. *Infertility and Reproductive Medicine Clinics of North America* 12, 105–18.

[Rimigton 1997] RIMINGTON, M.R., WALKER, S.M., SHAW, R.W., 1997. The use of laparoscopic ovarian

electrocautery in preventing cancellation of invitro fertilization treatment cycles due to risk of ovarian hyperstimulation syndrome in women with polycystic ovaries. *Human Reproduction,* 12(7), pp. 1443-7.

[Rizk 1991] RIZK, B., ABOULGHAR, M.A., 1991. Modern management of ovarian hyperstimulation syndrome. *Human Reproduction*, 6(8), pp. 1082-7.

[Romeu 1997] ROMEU A, MONZÓ A, PEIRÓ, T., DIEZ, E., PEINADO, J.A., QUINTERO, L.A., 1997 Endogenous LH surge versus hCG as ovulation trigger after low-dose highly purified FSH in IUI: a comparison of 761 cycles. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics,* 14(9), pp. 518-24.

[Rosenwaks 1995] ROSENWAKS, Z., DAVIS, O.K., DAMARIO, M.A., 1995. The role of maternal age in assisted reproduction. *Human Reproduction*, 10(Supl. 1), pp. 165-73.

[Sankaran 2008] SANKARAN, S., MANYONDA, I.T., 2008. Medical management of fibroids. *Best Practice & Research. Clinical Obstetrics & Gynaecology*, 22(4), pp. 655-76.

[Schally 1999] SCHALLY, A.V., 1999. Luteinizing hormone-releasing hormone analogs: their impact on the

control of tumorigenesis. *Peptides, 20(10)*, pp. 1247-62.

[Schally 1971] SCHALLY, A. V., ARIMURA, A., KASTIN, A. J., MATSUO, H., BABA, Y., REDDING, T., W., NAIR, R. M. G., DEBELJUK, L., WHITE, W. F., 1971. Gonadotropin-releasing hormone: One polypeptide regulates secretion of luteinizing hormone and follicle-stimulating hormones. *Science, 173(4001)*, pp. 1036-8.

[Schenker 1993] SCHENKER, J.G., 1993. Prevention and treatment of ovarian hyperstimulation syndrome. *Human Reproduction*, 8(5), pp. 653-9.

[Schenker 1978] SCHENKER, J.G., WEINSTEIN, D., 1978. Ovarian hyperstimulation syndrome: a current survey. *Fertility and Sterility*, 30(3), pp. 255-68.

[Segal 1992] SEGAL, S., CASPER, R.F., 1992. Gonadotropin-releasing hormone agonist versus human chorionic gonadotropin for triggering follicular maturation in in vitro fertilization. *Fertility and Sterility,* 57(6), pp. 1254–8.

[Shapiro 2008] SHAPIRO, B.S., DANESHMAND, S.T., GARNER, F.C., AGUIRRE, M., THOMAS, S., 2008. Gonadotropin-releasing hormone agonis combined with a reduced dose of human

chorionic gonadotropin for final oocyte maturation in fresh autologous cycles of in vitro fertilization. *Fertility and Sterility,* 90(1), pp. 231-3.

[Sharara 1999] SHARARA, F.I., MCCLAMROCK, H.D., 1999. Ratio of oestradiol concentration on the day of human chorionic gonadotrophin administration to mid-luteal oestradiol concentration is predictive of in-vitro fertilization outcome. *Human Reproduction,* 14(11), pp. 2777-82.

[Sher 1993] SHER, G., SALEM, R., FEINMAN, M., DODGE, S., ZOUVES, C., KNUTZEN, V., 1993. Eliminating the risk of life-endangering complications following overstimulation with menotropin fertility agents: a report on women undergoing in vitro fertilization and embryo transfer. *Obstetrics & Gynecology*, 81(6), pp. 1009-11.

[Smitz 1990] SMITZ, J., CAMUS, M., DEVROEY, P., ERARD, P., WISANTO, A., VAN STEIRTEGHEM, A.C., 1990. Incidence of severe ovarian hyperstimulation syndrome after GnRH agonist/HMG superovulation for in vitro fertilization. *Human Reproduction*, 5(8), pp. 933–7.

[Smitz 1988] SMITZ, J., DEVROEY, P., CAMUS, M., DESCHACHT, J., KHAN, I., STAESSEN, C., VAN

WAESBERGHE, L., WISANTO, A., VAN STEIRTEGHEM, A.C., 1988. The luteal phase and early pregnancy after combined GnRH-agonist/HMG treatment for superovulation in IVF or GIFT. *Human Reproduction,* 3(5), pp. 585–90.

[Soares 2008] SOARES, S.R., GÓMEZ, R., SIMÓN, C., GARCÍA-VELASCO, J.A., PELLICER, A., 2008. Targeting the vascular endothelial growth factor system to prevent ovarian hyperstimulation syndrome. *Human Reproduction Update,* 14(4), pp. 321-33.

[Speroff 2005] SPEROFF, L., FRITZ, M., 2005. The Ovary – Embryology and Development. En L. Speroff y M. Fritz eds. *Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility*. 7ma ed. Filadelfia: Lippincott Williams and Wilkins. Cap. 3, pp. 109.

[Strickland 1976] STRICKLAND, S., BEERS, W. H., 1976. Studies on the role of plasminogen activator in ovulation. In vitro response of granulosa cells to gonadotrophins, cyclic nucleotides and prostaglandins. *The Journal of Biological Chemistry,* 251(18), pp. 5694–9.

[Takekida 2000] TAKEKIDA, S., DEGUCHI, J., SAMOTO, T., MATSUO, H., MARUO, T., 2000. Comparative analysis of the effects of gonadotropin-releasing

hormone agonist on the proliferative activity, apoptosis, and steroidogenesis in cultured porcine granulosa cells at varying stages of follicular growth. *Endocrine,* 12(1), pp. 61-7.

[TERLHSG 2001] THE EUROPEAN RECOMBINANT LH STUDY GROUP, 2001. Human recombinant luteinizing hormone is as effective as; but safer than, urinary human chorionic gonadotropin in inducing final maturation and ovulation in in vitro fertilization procedures: results of a multicenter double-blind study. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 86(6), pp. 2607-18.

[TPCASRM 2004] THE PRACTICE COMMITTEE OF THE AMERICAN SOCIETY FOR REPRODUCTIVE MEDICINE, 2004. Ovarian hyperstimulation syndrome. *Fertility and Sterility,* 82(1), pp. 81-6.

[TRPCOSCG 2004] THE ROTTERDAM ESHRE/ASRM-SPONSORED PCOS CONSENSUS WORKSHOP GROUP, 2004. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome (PCOS). *Human Reproduction,* 19(1), 41-7.

[Tortorielo 1998] TORTORIELLO, D.V., MCGOVERN, P.G., COLON, J.M., SKURNICK, J.H., LIPETZ, K., SANTORO, N.,

1998. “Coasting” does not adversely affect cycle outcome in a subset of highly responsive in vitro fertilization patients. *Fertility and Sterility*, 69(3), pp. 454-60.

[Trout 2001] TROUT, S.W., BOHRER, M.K., SEIFER, D.B., 2001. Single blastocyst transfer in women at risk of ovarian hyperstimulation syndrome. *Fertility and Sterility,* 76(5), pp. 1066-7.

[Ulug 2002] ULUG, U., BAHCECI, M., ERDEN, H.F., SHALEV, E. AND BEN-SHLOMO, I., 2002. The signifcance of coasting duration during ovarian stimulation for conception in assisted fertilization cycles. *Human Reproduction*, 17(2), pp. 310-3.

[Urman 1992] URMAN, B., PRIDE, S.M., YUEN, B.H., 1992. Management of overstimulated gonadotrophin cycles with a controlled drift period. *Human Reproduction*, 7(2), pp. 213-7.

[Veeck 1990] VEECK, L.L., 1990. The morphological assessment of human oocytes and early concepts. *Handbook of the laboratory diagnosis and treatment of infertility*. Boca Raton (FL): CRC Press, pp. 353-69.

[Whelan 2000] WHELAN, J., VLAHOS, N., 2000. The ovarian hyperstimulation syndrome. *Fertility and Sterility*, 73(5), pp. 883–96.

[Wiltbank 2003] WILTBANK, M.C., OTTOBRE, J.S., 2003. Regulation of intraluteal production of prostaglandins. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 10;1:91.

[Winkel 1994] WINKEL, C.A., 1994. Gonadotropin-releasing hormone agonists. Current uses for these increasingly important drugs. *Postgraduate Medicine*, 95(6), pp. 111-8.

[Yding 1999] YDING ANDERSEN, C., LEONARDSEN, L., ULLOA-AGUIRRE, A., BARRIOS-DE-TOMASI, J., MOORE, L. BYSKOV, A.G., 1999. FSH-induced resumption of meiosis in mouse oocytes: effect of different isoforms. *Molecular Human Reproduction,* 5(8), pp. 726–31.

[Yen 1968] YEN, S.S., LLERENA, O., LITTLE, B., PEARSON, O.H., 1968. Disappearance rates of endogenous luteinizing hormone and chorionic gonadotropin in man. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism,* 28(12), pp. 1763-7.

[Zegers 2006] ZEGERS-HOCHSCHILD, F., NYGREN, K.G., ADAMSON, G.D., DE MOUZON, J., LANCASTER, P., MANSOUR, R., SULLIVAN, E., 2006. International Committee Monitoring Assisted Reproductive Technologies. The International

Committee Monitoring Assisted Reproductive Technologies (ICMART) glossary on ART terminology. *Fertility and Sterility,* 86(1), pp. 16-9.

[Zelinski 1995] ZELINSKI-WOOTEN, M.B., HUTCHISON, J.S., HESS, D.L., WOLF, D.P., STOUFFER, R.L., 1995. Follicle stimulating hormone alone supports follicle growth and oocyte development in gonadotrophin-releasing hormone antagonist-treated monkeys. *Human Reproduction,* 10(7), pp. 1658–66.

[Zhang 2009] ZHANG, M., OUYANG, H., XIA, G., 2009. The signal pathway of gonadotrophins-induced mammalian oocyte meiotic resumption. *Mo*lecular *Human Reproduction,* 15(7), pp. 399-409.

<<No es preciso tener muchos libros, sino tenerlos buenos>>—
Lucio A. Séneca, filósofo y pensador cordobés, 4 a.C. -65.

Índice de figuras

1.1. Concentración sérica de hCG tras la administración i.m. o s.c. (adaptado de [Mannaerts 1998])…… 6

2.1. Esquema del decapéptido GnRH (adaptado de [Conn 1991])…….. 18

2.2. Esquema del agonista GnRH (adaptado de [Conn 1991]) 21

2.3. Duración del pico de LH inducido por agonistas GnRH y en ciclo natural (adaptado de [Itskovitz 1991])…….…… 22

2.4. Esquema del antagonista GnRH (adaptado de [Conn 1991])…….... 25

2.5. Esquema de los diferentes tipos de acción de la GnRH y análogos sobre el gonadotropo pituitario…… 28

2.6. Esquema de la acción de agonista vs antagonista GnRH sobre la hipófisis…….. 29

3.1. Progresión del desarrollo folicular ovárico…… 38

3.2. Medición de los folículos antrales…….. 39

3.3. Ecografía ovárica y recuento de folículos antrales en modo AVC (*Automatic Volume Calculation*). Baja respuesta…….. 40

3.4. Ecografía ovárica y recuento de folículos antrales en modo AVC (*Automatic Volume Calculation*). Normo respuesta…….. 41

3.5. Ecografía ovárica y recuento de folículos antrales en modo inverso. Alta respuesta…….…… 41

3.6. Diagrama de asignación de protocolo según evaluación. 42
3.7. Ecografía ovárica y recuento de folículos antrales en modo AVC (*Automatic Volume Calculation*). Ovarios poliquísticos…… 47
3.8. Electrocauterización ovárica laparoscópica……. 55
3.9. Electrocauterización ovárica por fertiloscopia. …… 56
4.1. Esquema del protocolo de estimulación para manejo de pacientes con alta respuesta…….. 67
4.2. Esquema del protocolo de tratamiento y soporte de fase lútea……. 68
4.3. Material quirúrgico para la captura ovocitaria……. 69
5.1. Número y distribución de pacientes según la utilización de hCG en fase lútea……. 78
5.2. Número de casos y distribución del SHO…….. 84
6.1. Protocolo propuesto para el manejo de pacientes con alta respuesta a la estimulación ovárica en ciclos de fecundación *in vitro*…….. 96

Índice de tablas

2.1. Análogos GnRH comúnmente empleados en la práctica clínica…….. 30

2.2. Diversos protocolos y modos de utilización de los análogos de GnRH en TRA……..... 31

5.1. Edad de las pacientes y características de la estimulación ovárica…… 81

5.2. Resultados del ciclo de tratamiento……... 82

5.3. Incidencia del síndrome de hiperestimulación ovárica…… 83

VNIVERSITAT
DE VALÈNCIA