



UNIVERSIDAD DE OVIEDO

MÁSTER UNIVERSITARIO EN BIOLOGÍA Y TECNOLOGÍA DE LA
REPRODUCCIÓN

AGONISTAS VERSUS
ANTAGONISTAS:
RESULTADOS EN FIV E ICSI

TRABAJO FIN DE MÁSTER POR:

María Jesús Barros San Cristóbal

TUTORA:

Victoria Jiménez Moreno

JUNIO2014

Yo, Victoria Jiménez Rodríguez certifico que el trabajo presentado por María Jesús Barros San Cristóbal, titulado “ Agonistas versus antagonistas: Resultados en FIV e ICSI” realizado dentro del programa de Máster en Biología y Tecnología de la Reproducción, reúne a mi juicio las condiciones necesarias para ser admitido como Trabajo Fin de Máster, y por ello autorizo la presentación del mismo.

Y para que conste donde convenga, firmo la presente certificación en Oviedo, a 2 de junio de 2014.

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'Victoria Jiménez Rodríguez', written over a faint blue vertical line.

Fdo. Victoria Jiménez Rodríguez.

Abreviaturas:

B.R.....Baja respuesta.

FIV.....Fecundación In Vitro.

FSH.....Hormona folículo estimulante.

GnRH.....Hormona liberadora de gonadotropinas.

hCG.....Gonadotropina coriónica humana.

IA.....Inseminación Artificial.

ICSI.....Inyección intracitoplasmática del espermatozoide.

LH.....Hormona luteinizante.

MII.....Metafase II en la división celular.

TRA.....Técnicas de Reproducción Asistida.

TSH.....Hormona tirotrópica.

SHO.....Síndrome de Hiper-estimulación ovárica.

U.R.A.....Unidad de Reproducción Asistida.

Agradecimientos:

Quiero agradecer al grupo de la U.R.A del Hospital Universitario Marqués de Valdecilla por haberme facilitado los datos necesarios para realizar este trabajo y en concreto a Victoria Jimenez, mi tutora, por la amabilidad y paciencia que me ha mostrado brindándome en todo momento su ayuda. Y desde la Universidad de Oviedo a Elena Diaz por su disponibilidad y ayuda para la realización de este trabajo.

ÍNDICE:

1. INTRODUCCIÓN.....	7
2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	16
2.1 JUSTIFICACIÓN.....	16
2.2 HIPÓTESIS.....	16
2.3 OBJETIVOS.....	16
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	18
3.1 ESTIMULACIÓN OVÁRICA.....	18
3.2 PUNCIÓN OVÁRICA.....	21
3.3 TRATAMIENTO DE LAS MUESTRAS SEMINALES Y FECUNDACIÓN.....	22
3.4 TRANSFERENCIA EMBRIONARIA.....	23
3.5 DEFINICIÓN DE LAS VARIABLES.....	24
4. RESULTADOS.....	26
4.1 POBLACIÓN GENERAL.....	26
4.2 COMPARACIÓN RESULTADOS OBTENIDOS SEGÚN PROTOCOLO DE ESTIMULACIÓN CON AGONISTAS O ANTAGONISTAS.....	28
4.2.1 RESULTADOS SEGÚN PROTOCOLO DE ESTIMULACIÓN POR CICLOS INICIADOS.....	28
4.2.2 RESULTADOS SEGÚN PROTOCOLO DE ESTIMULACIÓN POR PUNCIÓN.....	29
5. DISCUSIÓN.....	33

6. CONCLUSIÓN.....	38
7. BIBLIOGRAFÍA.....	39

1. Introducción:

La especie humana no tiene un alto poder reproductivo si se la compara con otras especies animales, ya que se habla de un 25% de posibilidad de embarazo por relación sexual mantenida en el momento de la ovulación de la mujer¹. A este hecho hay que añadir que, según datos aportados por la Organización Mundial de la Salud (OMS) aproximadamente unos 80 millones de personas en todo el mundo se ven afectados por problemas de fertilidad². Con el deseo de ayudar a estas personas, se desarrollaron las Técnicas de Reproducción Asistida (TRA).

En el año 1978, nace la primera niña probeta, Louis Brown, mediante Fecundación in vitro clásica (FIV). Esta técnica consiste en poner en contacto los ovocitos con los espermatozoides en una placa de Petri para que pueda tener lugar la fecundación y posteriormente realizar la transferencia de los embriones al útero materno. Este primer nacimiento supuso un gran avance en el campo de la Reproducción Asistida y ha sido reconocido con la concesión del premio Nobel en Fisiología y Medicina al investigador británico Robert Edwards en el año 2011.

Hoy en día las TRA más utilizadas son las inseminaciones artificiales (IA) en la que se depositan los espermatozoides capacitados en la cavidad uterina, la Fecundación in vitro clásica (FIV) descrita anteriormente, y la Microinyección intracitoplasmática (ICSI) que consiste en introducir un espermatozoide en el interior de un ovocito maduro (MII) con la ayuda de un sistema de Micromanipulación³.

Para llevar a cabo las TRA, las pacientes son sometidas a protocolos de estimulación ovárica controlada con la finalidad de poder reclutar un mayor número de ovocitos maduros aumentando así las posibilidades de embarazo. Por este motivo, es necesaria la utilización de distintos tratamientos farmacológicos que permitan tener esquemas más fisiológicos, en los que se alcancen menores concentraciones de estradiol y se obtenga un número no exagerado de óvulos, para minimizar riesgos sin reducir la efectividad⁴.

Con cada ciclo menstrual natural, el sistema hormonal femenino regula la liberación u ovulación de un único ovocito a las trompas de Fallopio. Este proceso está coordinado por el eje hipotálamo-hipófisis-ovario donde el hipotálamo es el centro de síntesis de GnRH (hormona liberadora de gonodotrofinas) la cual, a través del sistema porta hipofisario alcanza a la adenohipófisis, donde promueve la secreción de la gonadotrofinas, FSH (hormona estimulante de folículos) y LH (hormona luteinizante)⁵. Estas dos hormonas son transportadas por el torrente sanguíneo al ovario donde ejercen su función.

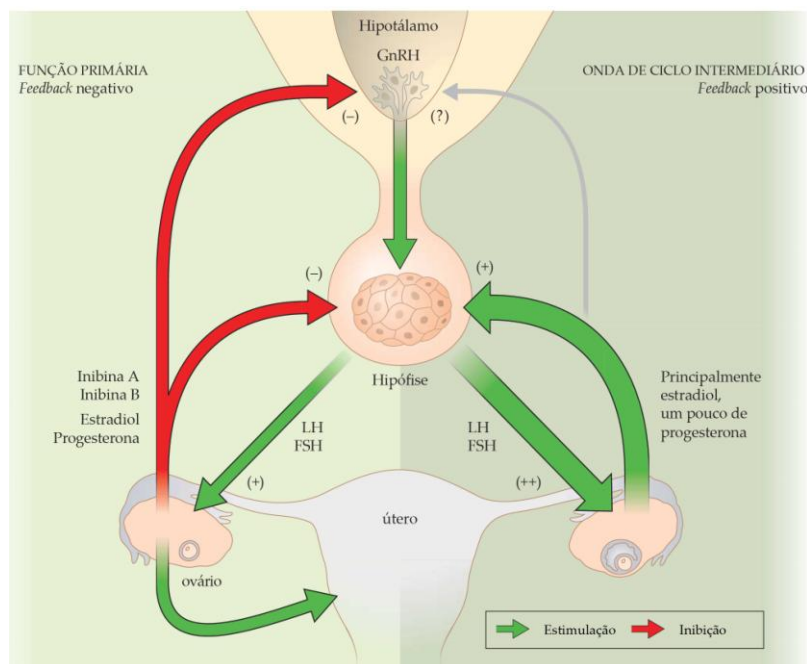


Figura 1. Regulación eje hipotálamo-hipófisis⁶.

La FSH es una glicoproteína formada por dos monómeros. Una subunidad alfa, común para un grupo de hormonas entre las que se encuentran las hormonas gonadotropina coriónica humana (hCG), la tirotropina (TSH) y la LH y una subunidad beta, la cual le confiere su acción biológica específica.

En el ovario, interviene en la maduración de los folículos ováricos. Actúa sobre receptores de FSH en las células de la granulosa estimulando el reclutamiento y crecimiento de un grupo de folículos al inicio de cada ciclo ovárico. Uno de ellos se

convertirá en el folículo dominante y será aquel en el que las células de la granulosa parecen responder mejor a la FSH convirtiéndose en el primero con capacidad de secretar estrógenos. Estos folículos en crecimiento sintetizan inhibina y estrógenos, los cuales ejercerán una regulación negativa por feed-back sobre la secreción de FSH en la adenohipófisis. De esta manera se produce una disminución de la FSH circulante hasta que resulte insuficiente para mantener el desarrollo de aquellos folículos con menor capacidad de respuesta, los cuales se atresiarán y solo continuará su desarrollo el folículo dominante.

La hormona luteinizante o LH es una glucoproteína compuesta por dos subunidades alfa y beta y al igual que en el caso de la FSH, la subunidad beta es específica de la LH. Esta hormona actúa sobre las células de la teca induciendo la formación de factores paracrinós tales como los andrógenos que además de actuar como sustrato para la aromatización en las células de la granulosa, ejercen acciones mediadas a través de receptor en la capa de células de la granulosa.

Cuando el folículo dominante llega a la fase de madurez preovulatoria aumenta su producción de estrógenos produciéndose un pico de estradiol que actúa como feed-back positivo en la hipófisis desencadenando un pico ovulatorio de LH⁵(Figuras 1,2).

Este pico de LH interrumpe el crecimiento de folículos menos maduros, causando su atresia, suprime la división de células de la granulosa y conduce a la ruptura de la pared del folículo liberando el ovocito e induciendo la formación del cuerpo lúteo⁷, el cual produce progesterona necesaria para preparar el endometrio para una posible implantación. Por otro lado el pico de LH es imprescindible para que el ovocito continúe con la división meiótica y abandone el estadio de Profase I alcanzando el estadio de Metafase II (MII)^{5,8}.

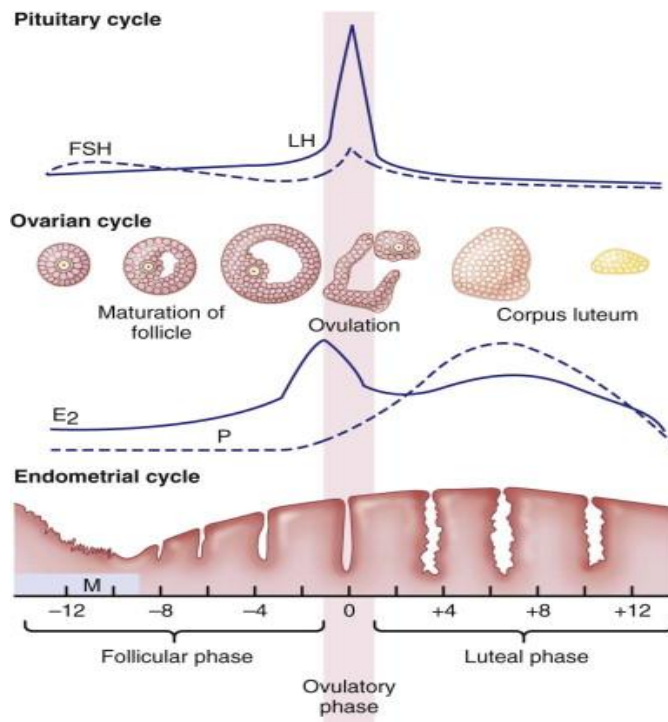


Figura 2. Esquema del ciclo menstrual femenino donde se observan los cambios que se dan tanto en los niveles hormonales, como en el crecimiento de los folículos y en el tejido endometrial⁹.

El conocimiento sobre este eje y la función de la GnRH así como los avances en la ciencia permitieron la síntesis química de análogos de esta molécula lo cual revolucionó el mundo de la reproducción ya que los fármacos utilizados anteriormente (clomifeno, letrozol, anastrozol y vorozol¹⁰) no evitaban el riesgo de ovulación espontánea y por tanto la pérdida de los ovocitos que se necesitaban recuperar para realizar las TRA.

La secuencia de aminoácidos de la GnRH fue identificada en 1971 por Schally y Guillemin (figura 3). Se trata de un decapeptido (p-Glu-His-Trp-Ser-Tir-Gli-Leu-Arg-Pro-Gli CONH₂) con estructura similar en todos los animales. En el humano el gen GnRH1, para el precursor de la GnRH, se localiza en el cromosoma 8.^{11,12}.

En mamíferos es sintetizada principalmente en el área preóptica del hipotálamo a partir de una preprohormona de 92 aminoácidos. La GnRH es considerada una neurohormona, ya que es descargada por las neuronas hipotalámicas

en la circulación porta hipofisaria, donde entra en contacto con los receptores de GnRH sobre gonadótropos hipofisarios. La secreción de la GnRH es pulsátil, siendo la frecuencia y amplitud de los pulsos aquello que determine la liberación de una u otra hormona gonadotropa. La baja frecuencia de pulsos de GnRH conduce a la liberación de FSH, mientras que la alta frecuencia de pulsos de GnRH estimula la liberación de LH^{5,8}.

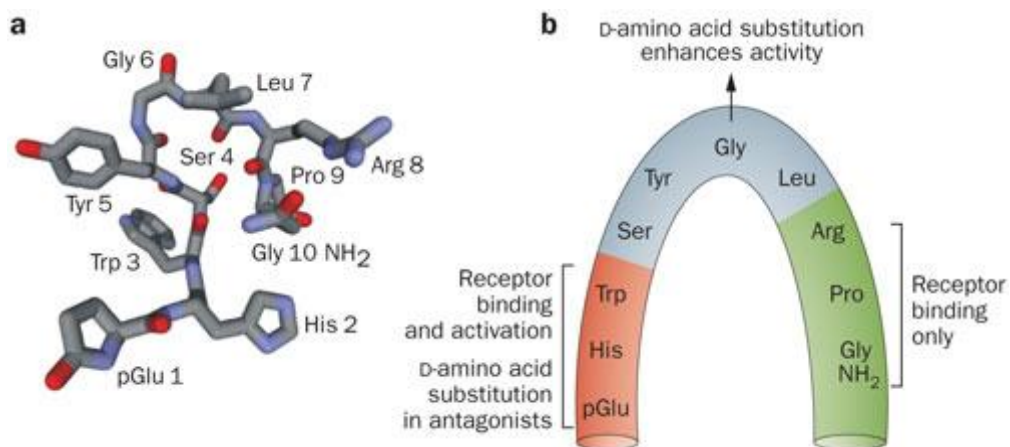


Figura 3: Estructura de la GnRH en mamíferos. B. Representación de la GnRH plegada en la cual se une al receptor¹³.

La modificación de algunos aminoácidos del decapeptido inicial permitió la creación de los análogos. Existen dos tipos de análogos de la GnRH, agonistas y antagonistas, ambos se consideran idóneos para evitar que en las estimulaciones ováricas controladas se produzca un pico prematuro de LH que provocaría no poder captar los ovocitos en la punción y por tanto tener que cancelar el ciclo⁸.

A- Agonistas:

En un primer momento surgen los análogos conocidos como *agonistas de la GnRH*. Los agonistas de la GnRH surgen por modificación de los aminoácidos en las posiciones 6 y 10. Su modo de acción se basa en la unión a los receptores de esta hormona en la hipófisis induciendo a la liberación de grandes cantidades de hormonas FSH y luteinizante LH, lo cual se conoce como efecto *flare-up* (figura 4), así como un

aumento en el número de receptores de GnRH conocido como *up-regulation*. Sin embargo, tras 7-14 días de exposición se produce una desensibilización hipofisaria dada por la internalización del complejo agonista de GnRH- receptor de GnRH lo que desencadena un descenso del número de receptores de GnRH conocido como *down-regulation*^{5,8,14}.

Existen tres tipos de protocolos para la FIV en los que se utilizan agonistas de la GnRH, basados en el momento del ciclo que empiezan a utilizarse y su duración¹⁵⁻¹⁷:

- **Protocolo largo:** El agonista empieza a administrarse a mitad de la fase lútea del ciclo previo.
- **Protocolo corto:** El agonista empieza a administrarse entre el primer y el tercer día del ciclo, aprovechando el efecto *flare-up*.
- **Protocolo ultracorto:** El agonista solo se administra durante los tres primeros días del ciclo.

B- Antagonistas:

Los antagonistas se empiezan a sintetizar en la misma época que los agonistas pero no están disponibles para su uso clínico hasta hace unos años debido a reacciones alérgicas y anafilácticas atribuibles a su administración¹⁸.

Estos fármacos son el resultado de las modificaciones del decapeptido de GnRH en los aminoácidos 1, 2, 3, 6 y 10⁵. Estos cambios le otorgan otro mecanismo de acción diferente al de los agonistas para inhibir la secreción de gonadotropinas. Se unen competitivamente a los receptores de la GnRH, previniendo la acción de los pulsos endógenos de GnRH en la hipófisis¹⁹. La secreción de gonadotropinas disminuye en unas horas tras la administración del antagonista, en este caso no se da efecto *flare-up* que se produce con el uso de agonistas. Al contrario que los agonistas de la GnRH, el tratamiento con antagonistas es altamente dosis-dependiente²⁰.

Se han desarrollado dos tipos de protocolo para la estimulación ovárica controlada: el protocolo de dosis múltiple y el protocolo de dosis única. El primero consiste en la administración diaria del antagonista de la GnRH (dosis mínima 0,25

mg/día) desde el sexto día de estimulación ovárica con gonadotropinas hasta el día de la hCG, incluido¹⁹.

El protocolo de dosis única consiste en la administración de una única dosis de antagonistas de la GnRH cuando el folículo mayor haya alcanzado 14 mm de diámetro.

Si transcurridas 72 horas no se ha administrado la hCG, se administra una segunda inyección de antagonista (dosis mínima 3 mg)²¹.

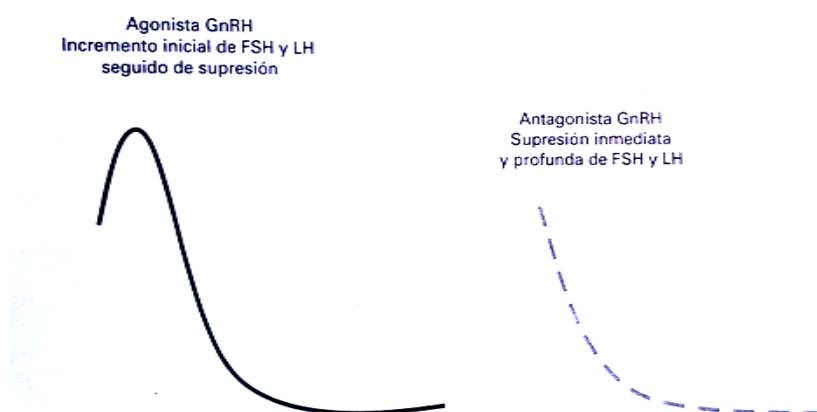


Figura 4. Perfil sérico de las gonadotropinas tras la administración de los dos tipos de análogos de la GnRH. ²¹

En la actualidad el uso de ambos análogos de la GnRH está muy extendido en todas las unidades de Reproducción Asistida, aunque existen algunas discrepancias en los resultados obtenidos con ambos protocolos.

Diferentes estudios muestran tasas de embarazo en los ciclos de tratamiento con antagonista moderadamente menores en comparación con los ciclos de agonistas con protocolo largo²², posiblemente porque los antagonistas de la GnRH podrían influir en la programación mitótica de las células implicadas en la foliculogénesis, la formación de blastómeros y el desarrollo endometrial.

Sin embargo, el uso de agonistas también conlleva algunas desventajas, como un aumento inicial de la secreción de gonadotropinas (efecto *flare-up*), un extenso

periodo de desensibilización, ya que el antagonista bloquea los receptores de GnRH pero no produce una disminución de los mismos. Esto hace que la sensibilidad de la hipófisis tras el tratamiento con agonistas no se recupere de inmediato.

Con agonistas se ha de iniciar el tratamiento en la mitad de la fase lútea para que ocurra el efecto flare-up y se consiga posteriormente regular la hipófisis (figura 4). Mientras que con antagonistas se puede comenzar la estimulación ovárica coincidiendo con el reclutamiento folicular y por tanto precisa menos dosis de gonadotropinas para la estimulación ovárica, lo que implica un menor coste económico y por tanto una estimulación menos agresiva al utilizar una menor cantidad de hormonas y más individualizada. Por este motivo con el uso de agonistas existe un mayor riesgo a sufrir síndrome de hiperestimulación que con antagonistas²⁰. Para intentar disminuir el riesgo se desarrolló el protocolo corto o ultracorto, sin embargo las tasas de embarazo con estos protocolos no fueron tan altas como las obtenidas al seguir el protocolo largo²¹.

Por último, es importante resaltar que la finalidad de estos tratamientos no es solo reclutar un número determinado de ovocitos, si no que estos sean maduros tanto a nivel del núcleo como del citoplasma ya que van a aportar al embrión la mitad del material genético y una gran reserva de proteínas, ARNm y orgánulos que van a suplir los requerimientos funcionales, nutricionales y energéticos en los primeros estadios del desarrollo embrionario^{23,24,25}.

La formación de un ovocito competente está estrechamente ligada al desarrollo y crecimiento de los folículos, ya que estos van a contribuir a crear el microambiente que rodea al ovocito en crecimiento aportando nutrientes, factores de crecimiento implicados en la regulación del proceso de meiosis del ovocito y hormonas²⁶ que participan en el funcionamiento del eje hipófisis-hipotálamo-ovario.

La estrecha relación que existe entre la ovogénesis y la foliculogénesis implica que los tratamientos utilizados para la estimulación ovárica controlada van a influir en el metabolismo, contenido de ATP²⁶, transcripción²⁷, maduración asincrónica del núcleo y citoplasma^{28,29} entre otros. De hecho en el trabajo publicado por el grupo de Tan³⁰ en 2013, hace referencia a una posible disminución en la calidad de los ovocitos

obtenidos con antagonistas ya que estos ciclos presentan niveles más bajos de estradiol el día de la administración de hCG. Lo cual parece indicar un posible efecto inhibitorio en el ovario por acción del antagonista pudiendo implicar una menor calidad de los ovocitos puncionados y consecuentemente de los embriones obtenidos.

Por todos estos motivos la elección del protocolo de estimulación ovárica va a ser fundamental para obtener ovocitos de buena calidad intentando a la vez evitar cualquier tipo de riesgo o complicaciones médica para la paciente.

2. Hipótesis y objetivos

2.1 Justificación

En la actualidad los análogos de GnRH se usan de forma rutinaria para llevar a cabo la estimulación ovárica controlada.

Existen dos tipos de análogos de la GnRH, agonistas y antagonistas. La estimulación ovárica controlada bajo un protocolo u otro ha mostrado eficacia a la hora de evitar el pico de LH prematuro, disminuir las tasas de cancelación y aumentar el número de embarazos si se comparan con los tratamientos farmacológicos para estimulación ovárica anteriores.

Ya que en esta Unidad los protocolos de estimulación con antagonistas se incorporan más tarde que los de agonistas, nos anima a realizar un estudio comparativo entre ambos protocolos para comprobar cuál de los dos ofrece mejores resultados.

2.2 Hipótesis

El protocolo de estimulación ovárica con agonistas de la GnRH es el tratamiento más seguro y eficaz para conseguir un embarazo a término en las pacientes tratadas en la U.R.A del Hospital Universitario Marqués de Valdecilla.

2.3 Objetivos

El objetivo de este trabajo es comprobar con cuál de los protocolos de estimulación ovárica se obtienen mejores resultados según nuestra experiencia en la Unidad de Reproducción Asistida (U.R.A) del Hospital Universitario Marqués de Valdecilla (HUMV).

Para ello planteamos los siguientes objetivos secundarios: Comparar el número de ovocitos y ovocitos maduros por punción siguiendo un protocolo de estimulación u

otro. Comparar los porcentajes de cancelación de ciclos y sus motivos así como los porcentajes de fecundación, transferencia, embarazos, implantación y abortos. De los embriones seleccionados para transferir se comparó la calidad de los mismos según protocolo de estimulación.

3. Materiales y métodos

3.1 Sujetos de estudio

Ante un caso de esterilidad el camino a seguir es realizar un estudio a ambos miembros de la pareja para determinar las causas, y en caso de que esté indicado se aplicarán las TRA.

Para realizar este trabajo se llevaron a cabo principalmente tres estudios donde se incluyeron un total de 2.787 ciclos de estimulación, realizadas a 1.309 parejas que acudieron al Programa de Reproducción Asistida del Hospital Universitario Marqués de Valdecilla en el periodo de tiempo entre Agosto de 2003 hasta Febrero de 2012.

Todos los casos se estudiaron inicialmente de forma conjunta (estudio 1) y posteriormente en función de los resultados obtenidos según protocolo de estimulación por ciclo iniciado (estudio 2) o en función del protocolo de estimulación por punción (estudio 3) como se detalla a continuación:

Estudio 1: Estudio de la población general.

En este estudio se incluyen 2.787 ciclos de estimulación ovárica controlada iniciados bajo protocolo de agonistas o antagonistas de la GnRH, a 1.309 parejas o mujeres solas en el periodo de estudio. En este caso se valoran los resultados generales obtenidos en aquellas pacientes que acudieron a la U.R.A.

Estudio 2: Estudio comparativo de los resultados obtenidos según protocolo de estimulación con agonistas o antagonistas por Ciclos iniciados.

- Grupo 1: En este grupo se incluyen 2.015 ciclos de estimulación ovárica, siguiendo el protocolo largo de agonistas, en 1.036 parejas o mujeres solas que acudieron a la U.R.A durante el periodo de estudio.

- Grupo 2: En este grupo se incluyen 766 ciclos de estimulación ovárica, siguiendo en protocolo de dosis múltiple con antagonistas, a 273 parejas o mujeres solas que acudieron a la U.R.A durante el periodo de estudio.

Estudio 3: Estudio comparativo de los resultados obtenidos según protocolo de estimulación por Punción.

En este estudio se comparan los resultados obtenidos en 1.430 punciones en el grupo 1 con los resultados obtenidos en las 490 punciones en el grupo 2.

3.2 Estimulación ovárica

Cada grupo de estudio fue estimulado siguiendo un protocolo de agonistas o antagonistas de la GnRH.

En aquellas pacientes tratadas con agonistas la estimulación ovárica se realizó según el protocolo largo³¹. Este comienza con la administración de leuprolide (Procrin[®] Laboratorios Abbott. Madrid) a una dosis de 0,2 mg/día desde la fase lútea (día 21) del ciclo previo al de estimulación. Una vez se produce la supresión de la hipófisis se inició la administración de FSH recombinante (Gonal-F[®] Lab. Serono. Madrid; Puregon[®] Lab. Organon. Barcelona) se inició el día 2 del ciclo, a una dosis adaptada a cada paciente durante 5 días, a partir de los cuales se ajustó a los requerimientos necesarios de cada paciente (figura 6).

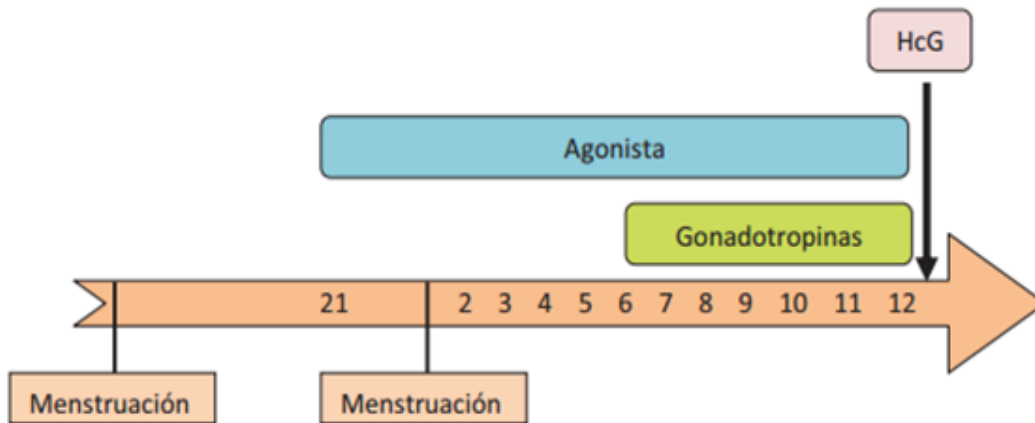


Figura 6. Protocolo largo de estimulación con agonistas de la GnRH ³¹.

La administración de antagonista, sin embargo, comenzó entre el día 5-7 del ciclo, una vez fue comprobado mediante ecografía, la existencia de un folículo de 12mm o superior. La dosis con el tratamiento de antagonista (Orgalutran [®] Lab. Organon. Barcelona) fue de 0,25mg/día hasta finalizar el tratamiento (figura 7).

En ambos tratamientos el desarrollo de los folículos fue controlado determinando los niveles de estradiol sérico y mediante ecografía transvaginal. La presencia de al menos 4 folículos de 16mm así como de niveles adecuados de estradiol determinará si la paciente ha alcanzado una adecuada madurez folicular. Cuando se alcanza este requerimiento mínimo de madurez folicular, se inició la administración de 10.000 UI de Gonadotropina coriónica humana recombinante (Ovitrelle [®] Merck-Serono), y 36 horas más tarde se procedió a la punción folicular ecoguiada.

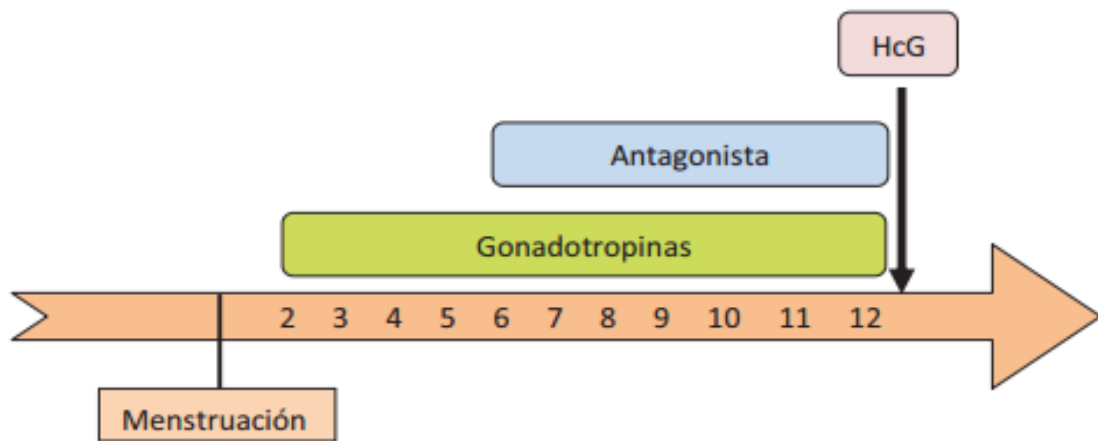


Figura 7. Protocolo de dosis múltiple con antagonistas de la GnRH.³¹

3.2 Punción ovárica

Tras la estimulación, en general el objetivo es conseguir el mayor número de folículos y que estos tengan un tamaño de 17-18mm y una concentración de estradiol sérico concordante a la cantidad y madurez de folículos.

También es necesario vigilar el grosor del endometrio, ya que es muy importante para la implantación, los valores adecuados están entre 8-9mm de grosor.

Una vez se alcanzan los umbrales de respuesta deseados, se administra 10.000 UI de Gonadotropina coriónica humana recombinante (hCG) como inductor de la ovulación. A las 35 horas de la administración de hCG se realiza la punción folicular.

Para llevar a cabo las punciones ha de estar preparado todo el material en el laboratorio de embriología y en el quirófano.

Durante la punción se aspiran ovocitos y líquido folicular en el quirófano con la ayuda de una aguja acoplada a un ecógrafo transvaginal y se depositan en tubos. Los tubos con el líquido folicular captado son procesados en el laboratorio de embriología donde se vierten en placas donde se aspiran los ovocitos.

Los ovocitos captados se lavaron con Flushing Medium (® Medicult. Dinamarca) y a continuación se cambiaron a una placa con IVF (® Medicult. Dinamarca) y se incubaron a 37°C y 6% de CO₂ durante 2 horas aproximadamente. Antes de llevar a cabo la fecundación se comprobó si los ovocitos se encontraban en metafase II. Este estado de madurez se alcanza cuando se ha extruido el primer corpúsculo polar y las células del cúmulo suelen encontrarse expandidas y luteinizadas.

Para proceder a la fertilización de los ovocitos según la técnica más indicada en cada caso, FIV o ICSI, previamente se valoran y capacitan las muestras seminales.

3.3 Tratamiento de las muestras seminales y fecundación

El tratamiento de las muestras seminales se llevó a cabo en el laboratorio de andrología donde en primer lugar se valoraron las muestras en fresco, para ello se utilizó una cámara Makler y un microscopio óptico (20x) determinándose la concentración y motilidad espermática. Según estos valores se capacitaron las muestras realizando un Swim up directo o inverso.

En la capacitación mediante Swim up directo, se escogen el número de tubos según la motilidad y concentración de la muestra. Se lavaron las muestras con Flushing Medium (® Medicult. Dinamarca) y se centrifugaron a 300g durante 10 minutos. A los pellet obtenidos se les añadió una cantidad entre 150 y 400 µl de medio IVF (® Medicult. Dinamarca) y se incubaron durante una hora a 37°C y 6% de CO₂. Por último tras la hora de incubación se recuperó el sobrenadante, donde se esperan encontrar aquellos espermatozoides con mayor movilidad, y se valoró en la cámara Makler la concentración y motilidad espermática de la muestra ya capacitada.

Para realizar la capacitación mediante Swim up inverso, en primer lugar se añadió 1ml de Flushing Medium (® Medicult. Dinamarca) en diferentes tubos, dependiendo el número de estos según la cantidad y calidad de la muestra, y se repartió la muestra en el fondo de los diferentes tubos, sin mezclar las dos fases. A continuación se incubaron las muestras durante una hora a 37°C y 6% de CO₂. Pasada esta hora, se recogió el sobrenadante y se centrifugaron las muestras a 300g durante

10 minutos. A los pellets obtenidos se les añadió entre 300-400 µl de medio IVF (® Medicult. Dinamarca) y se observó en la cámara Makler para valorar la concentración y motilidad de la muestra espermática.

Una vez las muestras seminales capacitaron y transcurrieron las tres horas de incubación de los ovocitos tras la punción se procede con la técnica de fecundación seleccionada, fecundación in vitro (FIV) o microinyección intracitoplasmática del espermatozoide (ICSI). En los casos en los que se realizó FIV se cultiva cada ovocito con una concentración de 50.000 o 100.000 espermatozoides.

En los casos en los que se realizó ICSI, previamente los ovocitos fueron desnudados o provistos de las células de la granulosa bajo la acción enzimática de la hialuronidasa. Una vez fueron desnudados y se comprobó que eran maduros (MII) fueron microinyectados e incubados en medio ISM1 (® Medicult. Dinamarca).

Pasadas 18 horas tras la inseminación o microinyección, se comprobó que hubiera habido fecundación. Considerando como tal la presencia de dos pronúcleos y dos corpúsculos polares siguiendo la clasificación de Gianaroli y col³².

Todos los cigotos fueron cultivados en ISM1 (® Medicult. Dinamarca) hasta las 48 horas (D+2) de la punción folicular, momento en el que los embriones se clasificaron según su ritmo de división y otros parámetros morfológicos como (porcentaje de fragmentación, blastómeras regulares y simétricas, grosor de la zona pelúcida y presencia de blastómeras multinucleadas), según la clasificación de L. Veek³³ y la Asociación Española para el Estudio de la Biología Reproductiva (ASEBIR).

3.4 Transferencia embrionaria

Entre los embriones obtenidos se seleccionaron aquellos de mejor calidad y se transfirieron de 1 a 3 embriones según decisión de la pareja. La transferencia se realizó bajo guía ecográfica en D+2 o D+3, siendo la clasificación embrionaria a las 72 horas de la punción en este último caso.

El procedimiento se llevó a cabo en el quirófano. En el laboratorio de embriología el o los embriones se transfirieron al medio UTM (medio de transferencia) y se cargaron en el catéter. La transferencia se realizó bajo una guía ecográfica transabdominal, la cual ayudó a la inserción del catéter, confirmar la colocación correcta y evitar traumatismos accidentales al endometrio en el fondo del útero.

Pasados 12 días de la transferencia embrionaria se valoraron los niveles de β -hCG en sangre para determinar la gestación. Confirmándose como embarazo positivo tras realizar una ecografía a las 7 semanas de la punción folicular y detectar latido cardiaco.

3.5 Definición de las variables

Con el objetivo de comparar ambos protocolos de estimulación con agonistas o antagonistas de la GnRH estudiamos la variabilidad de los siguientes parámetros en nuestra población de estudio:

- a- Edad de las pacientes el día de la punción.
- b- Número de ovocitos obtenidos por punción.
- c- Número de MII: Número de ovocitos maduros por punción y por ciclo
- d- Número de 2PN2CP: Número de ovocitos fecundados. Considerando como fecundados aquellos que presentes dos pronúcleos y dos corpúsculos polares a las 18 horas tras la fertilización.
- e- Número de embriones transferidos
- f- Número de sacos: Número de sacos embrionarios con latido fetal que se observan en el embarazo.
- g- % Ciclos cancelados: $\text{Número de ciclos cancelados} \times 100 / \text{número de ciclos iniciados}$.
- h- % Ciclos cancelados por BR: $\text{Número de ciclos cancelados por baja respuesta} \times 100 / \text{número de ciclos cancelados por ciclo iniciado}$.

- i- % Ciclos cancelados por RSHO: $\text{Número de ciclos cancelados por riesgo de sufrir Síndrome de Hiper Estimulación ovárica} \times 100 / \text{número de ciclos cancelados por ciclo iniciado}$.
- j- % Cancelación por OTROS: $\text{Número de ciclos cancelados (por algún motivo distinto a baja respuesta o riesgo de sufrir SHE)} \times 100 / \text{número de ciclos cancelados por ciclo iniciado}$.
- k- % Fecundación: $\text{Número de 2PN2CP} \times 100 / \text{n}^{\circ} \text{ de MII}$.
- l- % Transferencia: $\text{Número de transferencias} \times 100 / \text{n}^{\circ} \text{ de punciones}$.
- m- % Embarazos / transferencia: $\text{Número de embarazos positivos} \times 100 / \text{número de transferencias}$.
- n- % Implantación: $\text{Número de sacos embrionarios} \times 100 / \text{número de embriones transferidos}$.
- o- % Abortos: $\text{Número de abortos} \times 100 / \text{número de embarazos positivos}$.
- p- Calidad de los embriones transferidos:
 - 1- Buena calidad: Embriones con 2- 4 células de igual tamaño en D+2. Ausencia de blastómeras multinucleadas y presentan menos de un 25% de fragmentación celular.
 - 2- Mala calidad: Embriones que no cumplen las características mencionadas anteriormente.
 - 3- Calidad mixta: Al menos uno de los embriones es de buena calidad.

La comparación entre los resultados obtenidos entre ambos grupos de estudio se ha llevado a cabo mediante el test T-Student, para comparar medias, y la prueba Chi-cuadrado para comparar tasas. Los resultados se consideran estadísticamente significativos cuando $p < 0,05$. El análisis de los datos se llevó a cabo mediante el paquete estadístico IBM SPSS Statics 20.

4. Resultados

4.1 Población general

De los 2.787 ciclos iniciados 1.920 acabaron en punción, el resto (867) fueron cancelados por diversos motivos como riesgo de Síndrome de Hiper-estimulación Ovárica (SHO), baja respuesta, por enfermedad o problemas personales o bien por coincidir la fecha de punción y/o transferencia en días no hábiles.

De las 1.920 punciones, 1.786 tuvieron transferencia embrionaria, el resto (134) no tuvieron transferencia por fallo de fecundación o fecundación anómala, o por ingreso por complicaciones post-punción (hemorragia, hiperestimulación ovárica, infecciones etc.)

En esta primera parte del estudio, se realiza una descripción de la población general donde se determina la edad media de las mujeres que inician un ciclo de estimulación, el número de ciclos iniciados y de los ciclos iniciados aquellos que llegan a punción así como la tasa de ciclos cancelados (Tabla 1).

	Población general
Edad	35,06 ± 3,54
Nº Ciclos iniciados	2.781
Nº Punciones	1.920
Ciclos cancelados	861 (30,0 %)

Tabla 1. Descripción de número de ciclos iniciados, número de punciones, porcentaje de ciclos cancelados.

Después de valorar las diferentes causas de cancelación, se observó que el 705 de los ciclos cancelados se debía a que las pacientes no habían respondido al tratamiento de estimulación ovárica, mientras que solo un 16% eran suspendidos debido al riesgo elevado de que se produjera un síndrome de hiperestimulación ovárica (Tabla 2).

Población general	
Cancelación B.R	610 (70,0 %)
Cancelación por R.SHO	135 (16,0 %)
Cancelación Otros	116 (14,0%)

Tabla 2. Porcentaje de cancelación por baja respuesta, riesgo de sufrir síndrome de hiperestimulación (R.SHO) o bien por otros motivos.

A continuación se valoraron los resultados obtenidos de las 1920 punciones realizadas a la población general (tablas 3 y 4). En la tabla 3, se muestra la edad media de las pacientes, el número de ovocitos captados en la punción, número de ovocitos maduros o en metafase II, número de ovocitos con fecundación normal (2PN2CP), número de embriones transferidos y número de sacos de aquellos embriones transferidos que han llegado a implantar. También se puede observar en la tabla 4, las tasas de fecundación, transferencia, embarazo, implantación y aborto.

	Población general
Edad	34,96 ± 3,527
Nº Ovocitos	9,96 ± 5,655
Nº Metafases II	8,06 ± 4,980
Nº 2PN2CP	4,91 ± 3,575
Nº Embr transf	2,17 ± 0,611
Nº Sacos	1,28 ± 0,538

Tabla 3: Descripción de las punciones realizadas a la población general. Medias ± Desviación típica.

	Población general
Fecundación	9420 (61,0 %)
Transferencia	1786 (93,0 %)
Embarazos/trf	526 (29,0 %)
Implantación	686 (18,0%)
Abortos	82 (16,0 %)

Tabla 4: Descripción de las punciones realizadas a la población general. Porcentajes(%).

De las 1.920 punciones realizadas 134 no tuvieron transferencia debido a que en 32 de ellas no se obtuvieron ovocitos o estos no fueron maduros (MII), en 69 no hubo fecundación o esta fue anómala y en 33 de ellas debido a otros motivos como ingresos o por síndromes de hiperestimulación ovárica o complicaciones post-punción.

4.2 Comparación resultados obtenidos según protocolo de estimulación con agonistas o antagonistas

Para realizar esta parte del estudio los ciclos de estimulación ovárica de la población general fueron divididos en dos grupos en base al protocolo de estimulación utilizado.

En el grupo 1 se incluyen 2.015 ciclos de estimulación ovárica realizados con Agonistas a 1.036 parejas. De los ciclos iniciados, 1.430 acabaron en punción de los cuales 1.343 llegaron a transferencia.

En el grupo 2 se incluyen 766 ciclos de estimulación con Antagonistas realizados a 273 parejas. De los ciclos iniciados 490 acabaron en punción de los cuales 443 tuvieron transferencia.

4.2.1 Resultados según protocolo de estimulación por ciclos iniciados

En los resultados obtenidos al comparar los 2.015 ciclos iniciados con agonistas con los 766 iniciados con antagonistas, se observan diferencias significativas ($p < 0,05$) en la edad de los pacientes y en la tasa de cancelación, siendo ambas variables mayores en el grupo de Antagonistas que en el de Agonistas (tabla 5).

	Agonistas	Antagonistas
Edad	34,72 ± 3,47	35,95 ± 3,55*
Nº Ciclos iniciados	2015	766
Ciclos cancelados	21%	36%

Tabla 5. Edad media de las pacientes según protocolo de estimulación, número de ciclos iniciados y tasa de ciclos cancelados. *: P<0.05

Al igual que se hizo con la población general, se compararon los motivos de cancelación de ciclo y se observaron diferencias significativas entre los dos grupos (tabla 6). Por un lado el grupo de antagonistas presentó una diferencia significativa ($p < 0,05$) en la tasa de cancelación por baja respuesta mayor que la del grupo de agonistas mientras que la media de cancelación por riesgo de síndrome de hiperestimulación (R.SHO) fue mayor en el grupo de agonistas. En este caso no se incluyeron los 116 ciclos cancelados por otros motivos ya que estos no estaban relacionados con el protocolo de estimulación, ej. Motivos personales, enfermedad etc.

	Agonistas	Antagonistas	
Ciclos Cancelados	21%(585)	36%(276)*	P < 0,05
Cancelación por BR	65,3%(382)	82,6%(228)*	P < 0,05
Cancelación por RSHO	19,5%(114)	7,6%(21)*	P < 0,05

Tabla 6. Comparación de tasas de cancelación según protocolo de estimulación así como sus motivos de cancelación, por baja respuesta (BR) y riesgo de síndrome de hiper-estimulación (SHO).

4.2.2 Resultados según protocolo de estimulación por punción:

En los resultados obtenidos al comparar las 1430 punciones bajo protocolo de Agonistas con las 490 punciones realizadas con protocolo de Antagonistas se muestran diferencias significativas en la edad de las mujeres al igual que ocurría en el apartado anterior (4.2.1). Igualmente se muestran diferencias significativas en cuanto al número de ovocitos obtenidos por punción, número de ovocitos maduros (metafase

II), número de ovocitos fecundados (2PN2CP) y en el número de embriones, siendo mayores estos valores en el grupo de Agonistas (tabla 7). En cambio no se aprecian diferencias significativas cuando se comparan el número de sacos entre ambos protocolos de estimulación.

	Agonistas	Antagonistas	Valor P
Edad	34,65 ± 3,51	35,87 ± 3,40*	P < 0,05
Nº Ovocitos	10,56	8,22*	P < 0,05
Nº Metafases II	8,52	6,72*	P < 0,05
Nº 2PN2CP	5,24	3,94*	P < 0,05
Nº Embr transf	2,21	2,07*	P < 0,05
Nº Sacos embrionarios	1,28	1,26	NS

Tabla 7. Comparación de la media de edad, número de ovocitos, número de metafases II, número de ovocitos fecundados (2PN 2CP), número de embriones transferidos y media del número de sacos.

En la tabla 8 se comparan los resultados muestran diferencias significativas ($p < 0,05$) entre la tasa de fecundación, transferencia, embarazos por transferencia y tasa de implantación siendo estas mayores en el grupo de estudio para protocolo de agonistas. Sin embargo no se aprecian diferencias significativas en las tasas de abortos entre ambos protocolos.

	Agonistas	Antagonistas	Valor P
Fecundación	61,5%(7.491)	58,6%(1.929)*	P<0,05
Transferencia	93,9%(1.343)	90,4%(443)*	P<0,05
Embarazos/trf	30,8%(414)	25,3%(112)*	P<0,05
Implantación	18,4%(545)	15,3%(141)*	P<0,05
Abortos	14,5%(60)	19,6%(22)	NS

NS: no significativo.

Tabla 8. Comparación entre tasa de fecundación, tasa de transferencia por punción , tasa de embarazo por transferencia, tasa de implantación y tasa de abortos según protocolo de estimulación.

Al comparan la calidad de los embriones transferidos según protocolo de estimulación no se observar diferencias significativas entre los dos grupos.

	Agonistas	Antagonistas	
Calidad 1 (Buena)	50%(670)	46%(202)	NS
Calidad 2 (Mala)	22%(292)	27%(119)	NS
Calidad 3 (Mixta)	28%(381)	28%(122)	NS

NS: no significativo.

Tabla 9. Comparación entre la calidad de los embriones transferidos según protocolo de estimulación con agonistas o antagonistas.

Por último en la gráfico 1 se hace un pequeño resumen de los resultados obtenidos tanto en la población general como cuando está es dividida en los dos grupos de estudio según el protocolo de estimulación ovárica utilizado. Para poder realizar esta comparación, se ha considerado el número de ciclos iniciado en cada grupo como el 100% y en base a ese valor se han realizado los cálculos del resto de las tasas. En esta gráfica se puede observar que el número de cancelaciones de ciclos es mayor en el grupo de antagonistas ya que se realizan más punciones en el grupo de

agonistas. Lo mismo ocurre con el número de punciones que tienen transferencia. También se puede observar que la tasa e embarazo por ciclo iniciado es mayor en la población de pacientes estimulada con Agonistas.

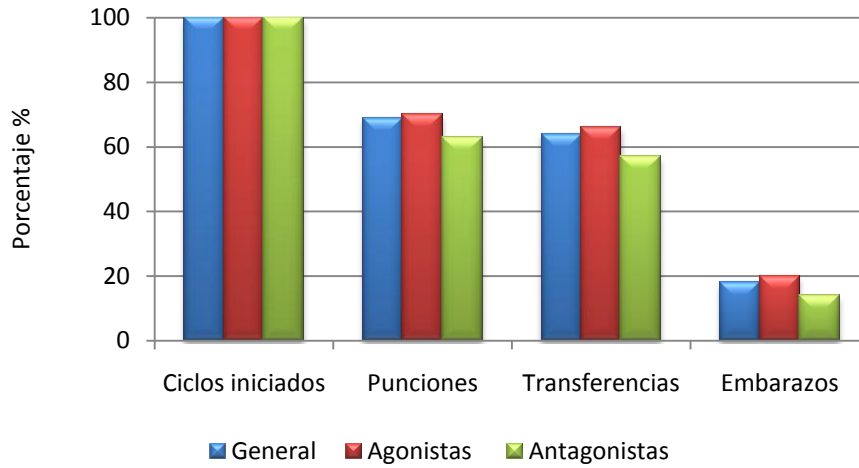


Figura 1. Comparación de tasa de punciones realizadas, tasa de transferencias y tasa de embarazos entre población general y pacientes tratados con protocolo de agonistas y pacientes tratados con protocolo de antagonistas.

5. Discusión

En los años 80, los análogos de la GnRH fueron introducidos en los protocolos de estimulación ovárica sustituyendo a los fármacos utilizados previamente ya que mejoraban las tasas de embarazo clínico y disminuían las tasas de cancelación de ciclos¹⁹. Diferentes estudios muestran que los análogos permiten el reclutamiento de un número mayor de folículos, evitan los picos de LH prematuros y la luteinización prematura de los folículos^{35,36}. Por estos motivos, el empleo de los análogos, en concreto de los agonistas, se extendió por todo el mundo y se incorporó a la rutina de todas las Unidades de Reproducción. En cambio la incorporación de los antagonistas fue posterior debido a que las primeras generaciones de este fármaco producían la liberación de histaminas dando lugar a reacciones anafilácticas como efecto secundario¹⁹.

En nuestra unidad los primeros ciclos de antagonistas fueron realizados en el año 2004 pero su uso estandarizado dentro de nuestros protocolos de estimulación no tuvo lugar hasta el año 2009 y esto explica la diferencia de los tamaños muestrales que existen en nuestros grupos de estudios. También es importante señalar que al inicio del uso de los antagonistas, estos fueron utilizados con pacientes que habían mostrado una mala respuesta con agonistas siendo la mayoría de ellas bajas respondedoras o pacientes mayores de 35 años. Este dato se confirma al comparar la edad media de ambos grupos, siendo esta significativamente mayor en el grupo de antagonistas.

Tal y como se menciona al principio de la discusión, al inicio de las TRA uno de los principales motivos de cancelación de ciclos de estimulación ovárica era la posibilidad de que ocurriese un pico de LH prematuro durante el mismo, lo que implicaba un impacto negativo en la calidad de ovocitos y embriones y como consecuencia en las tasas de embarazo³⁶. De hecho la tasa de cancelación de ciclos antes de la aplicación de los agonistas era aproximadamente del 20%, tras su aplicación se consigue una reducción de este porcentaje a 2%³⁷.

Con la intención de estudiar el posible efecto de los dos tipos de análogos de la GnRH en la cancelación de los ciclos, en nuestro estudio comparamos la tasa de cancelación del total de ciclos iniciados en ambos grupos, así como los motivos de cancelación más relevantes de los mismos siendo estos la cancelación por baja respuesta y la cancelación por riesgo de síndrome de Síndrome de Hiper-estimulación ovárica.

Respecto a las tasa de cancelación del total de ciclos iniciado por tratamiento, nuestros resultados muestran una diferencia significativa en la tasa de cancelación en ambos grupos, siendo esta mayor en el grupo de antagonistas (36%). Hay que tener en cuenta que estos resultados pudieran estar influenciados por la curva de aprendizaje que se requirió al introducir los protocolos de antagonistas en nuestra Unidad.

Al estudiar las causas de cancelación también observamos diferencias entre los dos grupos. Por un lado las tasas de cancelación por baja respuesta son mayores en el grupo de antagonistas (82,6% vs 65,3%) y esto podría ser debido a la población de pacientes que han sido estimuladas con antagonistas ya que como se ha comentado anteriormente en un principio estos fueron usados en bajas respondedoras. En principio la estimulación con antagonistas está indicado en mujeres bajas respondedoras a los tratamientos. En este grupo de mujeres el tratamiento con antagonistas de la GnRH podría ser especialmente útil debido a que elimina los efectos supresores que los agonistas por su acción prolongada pueden tener sobre la respuesta folicular³⁷. Un estudio de realizado en 2003 por el grupo de Faouliotis³⁸ en mujeres con respuesta baja que no consiguieron concebir con un protocolo corto convencional, un régimen de tratamiento con un antagonista produjo un número mayor de embriones, transferencias y tasas de embarazo en curso por transferencia.

En nuestros resultados existe un mayor porcentaje de cancelación por baja respuesta con antagonistas porque la mayoría de ese grupo muestral son mujeres bajas respondedoras a los tratamientos. Sin embargo los agonistas se han utilizado más en casos de normo-respondedoras.

Por otro lado, las tasas de cancelación por posible riesgo de hiperestimulación ovárica son significativamente mayores en el grupo de agonistas (19,5% vs 7,6%)

coincidiendo con los resultados publicados por otros grupos donde se describe un mayor riesgo con el uso de agonistas a sufrir síndrome de hiperestimulación que con antagonistas ya que este último permite desencadenar la ovulación con un bolo de agonista en lugar de utilizar hCG lo cual disminuye este riesgo^{20, 39,40}.

Respecto a la calidad folicular, para que tenga un lugar un correcto desarrollo folicular y esteroidogénesis, es necesaria la presencia de distintos esteroides, péptidos, polipéptidos y factores de crecimiento que medien o potencien las acción de gonadotropinas a nivel folicular. Algunos son las hormonas esteroideas, cortisol, CA125, la insulina y factor de crecimiento insulin-like (IGF-I)⁴¹. Se ha sugerido que pacientes estimuladas con antagonistas han obtenido niveles de esteroides y factores de crecimiento distintos a las estimuladas con agonistas⁴². Por otro lado, las células de la granulosa de pacientes estimuladas con antagonistas difieren funcionalmente de las de folículos estimulados con agonistas⁴³, no estando claro si la calidad folicular que se obtiene con estos protocolos es similar o diferente.

Existen estudios^{44,45} que describen un menor número de complejos oocito-cumulus aspirados así como una cohorte más pequeña de folículos en crecimiento junto con una menor cantidad de ovocitos maduros y un número significativamente menor de embriones para transferir en los ciclos de estimulación con antagonistas. Estos resultados coinciden con los obtenidos en nuestra Unidad ya que muestran una diferencia significativamente menor en el grupo de antagonistas tanto en el número de ovocitos aspirados como en el número de ovocitos en metafase II.

En cuanto al número de embriones transferidos la explicación a la existencia de diferencias significativas es la siguiente:

Las diferencias significativas que se observan en el número de embriones transferidos se debe probablemente a la mejora en los protocolos de estimulación ovárica, así como a las condiciones y medios de cultivo que han permitido en los últimos años reducir el número de embriones a transferir para evitar los embarazos múltiples sin disminuir las probabilidades de éxito. La estandarización del uso de antagonistas en nuestra unidad, (7 años más tarde) coincide con estas mejoras y por tanto con la política de transferir dos embriones en la mayoría de los casos.

Son numerosos los estudios que comparan la eficacia de los antagonistas, ya sea en protocolo de dosis única como dosis múltiple, con el protocolo largo de agonistas ofreciendo datos enfrentados en lo que se refiere a tasa de embarazo y embarazo clínico^{46,47}. En el año 2006 fue publicado un meta-análisis en el cual se analizaron 22 estudios controlados aleatorizados de la literatura, con un tamaño muestral de 3176 pacientes, comparando la tasa de nacidos vivos según protocolo de estimulación con agonistas o agonistas de la GnRH. Como resultado no se encontraron diferencias significativas en la probabilidad de nacido vivo entre los dos análogos de la GnRH⁴⁴.

Por otro lado se ha publicado una revisión por Cochane Library en ella se analizan 27 estudios controlados aleatorizados comparando el tratamiento con antagonistas de la GnRH con el protocolo largo de agonistas de GnRH¹⁵. En este caso se observa una menor tasa de embarazo clínico con el uso de antagonistas al igual que la tasa de embarazo en curso / nacido vivo⁴⁵. Esta reducción ocurre a pesar de que se transfieran un número equivalente de embriones de buena calidad entre ambos grupos. Los resultados en esta revisión también muestran un menor número de ovocitos recuperados bajo el tratamiento con antagonista siendo este más corto y utilizando una menor dosis de gonadotropinas. Resultados similares podemos encontrar en nuestro estudio en el que se muestra una diferencia significativa en las tasas de embarazo siendo menor en antagonistas a pesar de no existir diferencias en la calidad de los embriones transferidos.

En cuanto a calidad embrionaria nuestros resultados coinciden con lo descrito en la literatura^{48,40,49} donde no encuentran diferencias significativas al analizar la calidad de los embriones obtenidos y su velocidad de crecimiento.

Respecto a aquellos embriones que se llegan a transferir existen resultados enfrentados sobre el efecto que puedan tener los agonistas sobre el endometrio y por tanto su efecto en las tasas de implantación. Un pequeño estudio prospectivo randomizado⁵⁰ muestra que el uso de antagonista frente al no uso de agonistas o antagonista responde a un aumento aunque no significativo de las tasas de implantación y embarazo. Por otro lado el grupo de Raoul Orvieto⁵¹ estudian 712 ciclos de FIV comparando la influencia de los análogos de GnRH sobre la receptividad

endometrial concluyendo que el grupo bajo protocolo de agonistas de GnRH mostró un grosor endometrial significativamente mayor así como mayor tasa de embarazo pudiendo deberse por tanto a una mayor receptividad e endometrial comparado con el grupo de antagonistas. En este estudio si se aprecia un aumento significativo en la tasa de implantación en el grupo de agonistas si la comparamos con el grupo de antagonistas lo cual se relaciona con la menor tasa de embarazo consecuentemente en el grupo de antagonistas.

A pesar de los resultados obtenidos y teniendo en cuenta que el uso de antagonistas requiere un menor tiempo de estimulación y menor dosis de gonadotropinas lo que implica por un lado mayor facilidad de programar los ciclos, un menor coste económico de los mismos y una mayor facilidad de las pacientes a la hora de medicarse, sería recomendable continuar con este estudio ya que es posible que nuestros resultados se hayan visto afectados por las diferencias en el tamaño muestral y el tiempo de aprendizaje que ha requerido el uso de antagonistas, ya que como se ha comentado anteriormente, son introducidos años más tarde en nuestra Unidad, y este hecho implica una necesidad para ginecólogos y biólogos de familiarizarse con los protocolos y la nueva medicación.

También sería recomendable en un futuro comparar ambos protocolos según la causa de esterilidad femenina permitiendo individualizar el protocolo más adecuado para cada paciente.

6. Conclusiones

1. Ambos protocolos muestran eficacia en la estimulación ovárica controlada.
2. En nuestra Unidad el grupo de agonistas ofrece en general mejores resultados en las pacientes.
3. En particular, el tratamiento con antagonistas reduce el riesgo por síndrome de hiper-estimulación ovárica.

BIBLIOGRAFÍA

1. IVI ¿Qué es la infertilidad?. Consulta: 23 abril 2014. Disponible en: <http://www.ivi.es/pacientes/preguntas-frecuentes/infertilidad/>
2. Jarque. J ¿Crece la infertilidad?. La Vanguardia. Vida. 16 de septiembre 2011. Consulta 24 de abril 2014. Disponible en : <http://www.lavanguardia.com/estilos-de-vida/20110916/54215194005/crece-la-infertilidad.html>
3. Las técnicas de reproducción asistida. Reproducción asistida org. Revista oficial. Consulta: 25 abril 2014. Disponible en : <http://www.reproduccionasistida.org/las-tecnicas-de-reproduccion-asistida/>
4. Perez P.E, Gutierrez G.A, Perez L.E, Rojas R. F. Estimulación ovárica controlada. Tiempo de reevaluar. Revista Mexicana de medicina de la reproducción, 2010; 3 (1): 1-9.
5. Perez G. Hormona liberadora de gonadotropina (GnRH). Gonadotropina.com. Consulta 08 de mayo 2014. Disponible en: [http://www.gonadotropina.com/hormona liberadora de gonadotropina gnrh](http://www.gonadotropina.com/hormona-liberadora-de-gonadotropina-gnrh)
6. Janet E. Hall. MD. La menstruación normal y anormal. Fisiología del aparato reproductor en las mujeres. 10 de febrero de 2012. Medicinanet. Consulta 22 d abril 2014. Disponible en: [http://www.medicinanet.com.br/conteudos/acp-medicine/4456/menstruacao normal e anormal.htm](http://www.medicinanet.com.br/conteudos/acp-medicine/4456/menstruacao-normal-e-anormal.htm)
7. Zuccotti M., Merico V., Cecconi S., Redi C.A., Garagna S. What does it take to make a developmentally competent mammalian egg?. Human Reproduction Update, 28 March, 2011 ; 0,0: 1-16.

8. Remohí J, Bellver J, Matorras R, Ballesteros A, Pellicer.A. Manual práctico de Esterilidad y Reproducción Humana. Aspectos clínicos.2012, Panamérica, 4ª Edición.
9. Rebar, Robert W. Endocrine and Metabolism Continuing Education Quality Control Program, 1982. American Association for Clinical Chemistry, Inc. Reproductive Endocrinology and Infertility. Goldman's Cecil Medicine,2012; 244, e109-e122.
10. Escudero L.E. Estimulación ovárica en reproducción asistida, Revista peruana de Ginecología y Obstetricia. N°3 Lima 2012. Versión On line Disponible en : http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S2304-51322012000300006&script=sci_arttext
11. Herbison, A.E. Noradrenergic regulation of cyclic GnRH secretion. Rev. Reprod;1997, 2:1-6.
12. Turkstra, J; Meloen, R. Active Immunisation against gonadotropin-releasing hormone, an active tool to block the fertility axis in mammals. Veterinary Sciences Tomorrow.2006 Disponible en: <http://www.vetscite.org/publish/articles/000062/index.html>
13. Millar R.P & Newton C.L. Current and future applications of GnRH, kisspeptin and neurokinin B analogues *Nature Reviews Endocrinology*. Agosto 2013 ;9, 451-466. http://www.nature.com/nrendo/journal/v9/n8/fig_tab/nrendo.2013.120_F2.html
14. A.M. Padula. GnRH analogues-agonists and antagonists. Animal Reproduction Science,2005 ; 88, 115-126.

15. B.C. Tarlatzis, E.M. Kolibianakis. GnRH agonists vs antagonists. ELSEVIER. Best practice & Research Clinical Obstetrics and Gynaecology 2007;1: 57- 65.
16. Brzyski R, Muasher S, Droesch K, Simonetti S, Jones G, Rosenwaks Z. Follicular atresia associated with concurrent initiation of gonadotropin-releasing hormone agonist and follicle stimulating hormone for oocyte recruitment. Fertil Steril 1988; 50:917-921.
17. Katayama K, Roesler M, Gunnarson G, Stehlik E, Jagusch S. Short-term use of gonadotropin-releasing hormone agonist (leuprolide) for in vitro fertilization. J In Vitro Fert and Embryo Transfer, Dec 1988; 5(6):332-334.
18. Hahn D.W, McGuire J.L, Vale W.W, Rivier J.: Reproductive endocrine and Anaphylactoid Properties of an LHRH antagonist. 1985; 37:505-14.
19. Coccia.E.M, Comparetto C, Bracco G.L, Scarselli G. GnRH antagonists. European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology 2004. 115 :44-56.
20. Balasch J, González-Merlo J. Análogos de la GnRh: agonistas y antagonistas. Institut Clínic de Ginecologia, Obstetrícia y Neonatologia. Facultat de Medicina-Universitat de Barcelona. Vol 42, Nº 9 Noviembre 1999. Disponible en : <http://zl.elsevier.es/es/revista/progresos-obstetricia-ginecologia-151/analogos-gnrh-agonistas-antagonistas-13009679-editorial-1999>
21. Remohí J, Cobo A, Romero J.L, Pellicer A, Simón C. Manual práctico de esterilidad y reproducción humana, Mc Graw Hill-Interamericana, 2ªed.2005.

22. Al-Inany H & Aboulghar M. GnRH antagonist in assisted reproduction: a Cochrane review. *Hum Reprod* 2002; 17: 874-885.
23. Austin C. The eggs. En *Reproduction in mammals*. Cambridge University Press, 1982, 1: 46-62.
24. Browder L. *Developmental biology: A comprehensive synthesis. Oogenesis*. New York: Plenum Press, 1985, vol 1.
25. Davison E. *Gene activity in early development*. Orlando Academic Press, 1986.
26. Jason E. Swain¹ and Thomas B. Pool. ART failure: oocyte contributions to unsuccessful fertilization. *Human Reproduction Update* 2008. 14,5: 431–446.
27. Combelles C.M, Albertini D.F. Assessment of oocyte quality following repeated gonadotropin stimulation in the mouse. *Biol Reprod* 2003;68:812–821.
28. Yun Y.W, Yuen B.H, Moon Y.S. Effects of superovulatory doses of pregnant mare serum gonadotropin on oocyte quality and ovulatory and steroid hormone responses in rats. *Gamete Res* 1987;16:109–120.
29. Yun Y.W, Yu F.H, Yuen B.H, Moon Y.S. Effects of a superovulatory dose of pregnant mare serum gonadotropin on follicular steroid contents and oocyte maturation in rats. *Gamete Res* 1989;23:289–298.
30. Orkun Tan, B.C, Beshay V. E, Bukulmez O. The extrapituitary effects of GnRH antagonists and their potential clinical implications: A narrated review. *Reproductive Sciences* 2013,20:16-25.

31. Barri P. Indications and results of oocyte donation in Spain. *J. Gynecol. Obstet. Biol. Reprod* 2005; 34(7 Pt 2): 5545-5547.
32. Giarnoli L, Magali C, Ferraretti A.P, Fortini D, Griego N. Pronuclear morphology and chromosomal abnormalities as scoring criteria for embryo selection. *Fertil. Steril* 2003, 80:341-349.
33. Veeck LL. Evaluación de los ovocitos y preembriones en el laboratorio de FIV. Remohi J, Pellicer A, Bonilla- Musoles F, (Eds): *Avances en reproducción asistida*. Ediciones Diaz de Santos S.A.;1992.
34. Rutherford AJ, Subak-Sharpe RJ, Dawson KJ, Margara RA, Franks S, Winston RM. Improvement of in vitro fertilisation after treatment with buserelin, an agonist of luteinizing hormone releasing hormone. *BrMed J* 1988;25:1765-8.
35. Tarlatzis BC, Bili H. Safety of GnRH agonists and antagonists. *Expert Opin Drug Saf* 2004; 3(1):39
36. Diedrich K, Diedrich C, Santos E, Zoll C, al-Hassani S, Reissman T: Suppression of the endogenous luteinizing hormone surge by the gonadotrophin-releasing hormone antagonist cetrorelix during ovarian stimulation. *Hum Reprod* 1994; 9:788-91.
37. Surrey ES, Schoolcraft WB. Evaluating strategies for improving ovarian response of the poor responder undergoing assisted reproductive techniques. *Fertil Steril* 2000; 73:667-76.
38. Fasouliotis SJ, Laufer N, Sabbagh-Ehrlich S, Lewin A, Hurwitz A, Simon A. Gonadotropin releasing hormone (GnRH-antagonist versus GnRH-agonist in

- ovarian stimulation of poor responders undergoing IVF. *J Assist Reprod Genet* 2003; 20:455-60.
39. Tarlatzis B, Fauser BC, Kolibianakis EM, Diedrich K, Devroey P.: GnRH antagonist in ovarian stimulation for IVF. *Hum. Reprod.* 2006; 12: 333-40.
 40. Olivennes F, Belaisch-Allart J, Emperaire JC, Dechaud H, Álvarez S, Moreau L, Nicollet B, ZornJR, Bouchard P, Frydman R.: Prospective, randomized, controlled study of in vitro fertilization-embryo transfer with a single dose of a luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH) antagonist (cetorelix) oral depot formula of an LH_RH agonist (triptorelin). *Fertil. Steril.* 2000; 73(2): 314-20.
 41. Jimena P, Castilla JA, Peran F, Molina R, Ramirez JP, Acebal M et al. Insulin and Insulin-like growth factor I in follicular fluid after induction of ovulation in women undergoing in vitro fertilization. *J Reprod Fertil* 1992, 96:242-50.
 42. Garcia-Velasco JA, Isaza V, Vidal C, Landazábal A, Remohí J, Simon C, Pellicer A. Human steroid secretion ovarian in vivo: effects of GnRH agonist versus antagonist (Cetorelix). *Human Reprod* 2001; 16:2533-9.
 43. Minaretzis D, Alper MM, Oskowitz SP. Gonadotropin releasing hormone antagonist versus agonist administration in women undergoing controlled ovarian hyperstimulation cycle performance and in vitro steroidogenesis, of granulosa lutein-cells. *Am J Obstet Gynecol* 1995; 172:1518-25.
 44. Kolibianakis EM, Collins J, Tarlatzis BC et al. Among patients treated for IVF with gonadotrophins and GnRH analogues, is the probability of live birth dependent on the type of analogue used? A systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod* .2006;12:651-71.

45. Matallín MP, Eleno I. Estudio comparativo del uso de agonistas de GnRH vs antagonistas en pacientes normorespondedoras sometidas a estimulación ovárica controlada en ciclos de FIV/ICSI. Revista fertilidad .Vol 25 nº1 Enero-Febrero 2008.
46. Check ML, Check JH, Choel JK, Davies E, Kiefer D.: Effect of antagonist vs agonist on in vitro fertilization outcome. Clin Exp Obstet Gynecol. 2004; 31: 257- 259.
47. Lee TH, Wu MY, Chen HF, Chen MJ, Ho HN, Yang YS.: Ovarian response and follicular development for single-dose and multiple-dose protocols for gonadotropin-releasing hormone antagonist administration. Fertil Steril 2005; 83: 1700-1707.
48. Albano C, Felberbaum RE, Smitz J, Riethmuller-Winzen H, Engel J, Diedrich K et al. Ovarian stimulation with HMG: results of a prospective randomized phase III European study comparing the luteinizing releasing hormone (LHRH)-antagonist cetrorelix and the LHRH agonist buserelin. European Cetrorelix study Group. Hum Reprod 2000; 15:526-31.
49. European and Middle East Orgalutran Study Group Comparable Clinical outcome using the GnRH antagonist ganirelix or a long protocol of the GnRH agonist triptorelin for the prevention of premature LH surges in women undergoing ovarian stimulation. Hum Reprod 2001; 16:644-51.
50. Akman M, Erden H, Tosum S, Bayazit N, Aksoy E, Bahceci M. Addition of GnRH-antagonist in cycles of poor responders undergoing IVF. Hum Reprod 2000; 15:2145-7.
51. Orvieto R, Meltzer S, Rabinson J, Zohav E, Y. Anteby E, Ravit N. GnRH agonist versus GnRH antagonist in ovarian stimulation: the role of endometrial receptivity. Fertility and Sterility. October 2008. 90; 4:1294-1296.

