

UNIVERSIDAD DE OVIEDO

MASTER UNIVERSITARIO EN BIOLOGÍA

Y

TECNOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN

Efecto del bolo de agonistas de la GnRH sobre
maduración final del ovocito en protocolos de
FIV con antagonistas de la GnRH en programas
de ovodonación

TRABAJO FIN DE MÁSTER

POR

María Amelia Rey Vicente.

Tutor: Pedro E. de la Fuente Ciruelas.

JUNIO 2012

Pedro de la Fuente Ciruelas, Ginecólogo Director de
la Clínica CEFIVA,

CERTIFICA:

que María Amelia Rey Vicente ha efectuado un trabajo
de Fin de Máster bajo mi dirección que reúne las
condiciones de aptitud para ser presentado para su
calificación por el Tribunal correspondiente.



Fdo.: Pedro de la Fuente Ciruelas



CENTRO DE FERTILIZACIÓN
IN VITRO DE ASTURIAS
C.I.F.: B-33127812
Pl. Ferrocarriles Económicos de Asturias, 6-8
Tfno.: 985 25 93 93
33011 - OVIEDO

Oviedo, 6 de junio de 2012

Dr. Pedro de la Fuente Ciruelas
Col. nº 3302566

Agradecimientos

Este Trabajo no habría sido posible sin todos los conocimientos adquiridos en las asignaturas y clases magistrales impartidas en este Máster.

Quería expresar mi más sincero agradecimiento a D. Pedro E. de la Fuente Ciruelas, Ginecólogo Director de la Clínica Cefiva, por abrirme las puertas de la clínica y ayudar a que este Trabajo Fin de Máster haya sido posible. Así como también al resto del equipo humano: ginecólogos, coordinadores, biólogos y demás personal, que trabajan en ella haciendo una gran labor, y que además me trataron como una compañera más desde el primer día en que llegué a ella. Gracias por toda la ayuda prestada.

De manera más personal mi más profundo agradecimiento a los amig@s y compañer@os que me llevo de este Máster, sin ellos esta aventura no habría sido la misma y no la habría vivido de la misma manera. Simplemente gracias.

Índice

Lista de Abreviaturas	7
INTRODUCCIÓN.....	8
OBJETIVOS.....	17
MATERIAL Y MÉTODOS	17
<i>Donantes.</i>	17
<i>Protocolo de estimulación ovárica.</i>	17
<i>Receptora</i>	18
<i>Transferencia de embriones</i>	19
<i>Evaluación de la gestación</i>	19
<i>Análisis estadístico de los datos</i>	20
RESULTADOS	21
DISCUSIÓN.....	23
CONCLUSIONES.....	35
Bibliografía.....	36

Lista de Abreviaturas

- *aGnRH*: agonistas de la GnRH.
- *antGnRH*: antagonistas de la GnRH.
- *CL*: Cuerpo Lúteo.
- *E2*: Estradiol.
- *FIV*: Fecundación *in vitro*.
- *FSH*: Hormona Folículo Estimulante.
- *GnRH*: Hormona Liberadora de Gonadotrofinas.
- *hCG*: Hormona Coriónica Humana.
- *hMG*: Gonadotrofina Menopáusica Humana.
- *ICSI*: Inyección Intracitoplasmática del Espermatozoide.
- *LH*: Hormona Luteotrófica.
- *P4*: Progesterona.
- *RA*: Reproducción Asistida.
- *rFSH*: Hormona Folículo Estimulante Recombinante.
- *SHO*: Síndrome de Hiperestimulación Ovárica.
- *SOP*: Síndrome de Ovario Poliquístico.
- *TRA*: Terapia de Reproducción Asistida.
- *UI*: Unidades Internacionales.
- *VEGF*: Factor de Crecimiento endotelial.

INTRODUCCIÓN

Con este trabajo se pretenden mostrar los efectos que tiene el uso de agonistas del factor liberador de gonadotropinas (aGnRH) sobre el pico de LH, cuando se usan éstos en vez de la gonadotropina coriónica humana (hCG), para inducir la maduración final ovocitaria y la inducción de la ovulación, en protocolos con antagonistas de GnRH en Fecundación *In Vitro* (FIV).

La regulación del ciclo ovárico se realiza a través de la síntesis y liberación de determinados factores endocrinos hipotalámicos (GnRH), hipofisarios (FSH y LH) y ováricos (estrógenos y progesterona), que actúan sobre el eje hipotálamo-hipófisis-ovario (Ilustración 1).

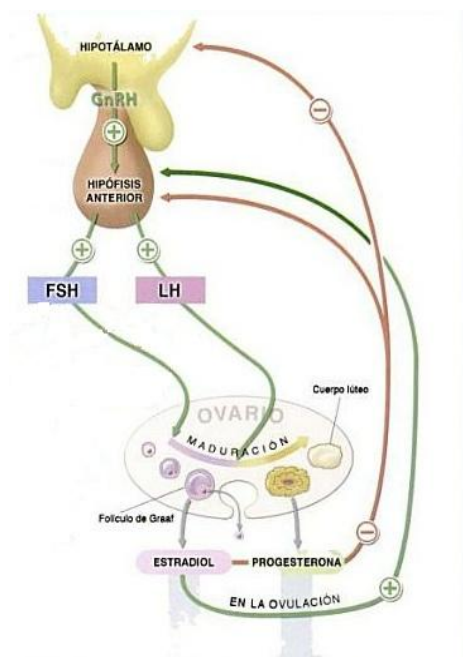


Ilustración 1. Regulación del ciclo ovárico (Imagen modificada de la original obtenida de "Farmacología Médica", Nicandro Mendoza Patiño, Ed.2008)

En el núcleo arcuato y en el área preóptica del hipotálamo se sintetiza y almacena el Factor Liberador de Gonadotropinas (GnRH). Este factor se va a liberar de manera pulsátil e intermitente, esto es en pulsos de diferente amplitud y frecuencia según el estímulo que se reciba.

Estas oleadas de GnRH van a viajar por el sistema porta hasta la hipófisis anterior o adenohipófisis. Allí hay unos receptores a los que se une y manda una señal para que se sintetizen y liberen las distintas gonadotropinas: la hormona foliculo estimulante (FSH) y la hormona luteinizante (LH). El que se libere FSH o LH va a depender de la frecuencia de los pulsos de GnRH, éstos, en una mujer adulta en edad reproductiva, se dan cada 90-100 minutos en la fase temprana folicular, y cada 60 minutos en la fase folicular tardía (Buffet y Bouchard 2001)

Estas gonadotropinas se liberan al torrente sanguíneo y van al ovario, donde actúan promoviendo la maduración gonadal y la esteroidogénesis. De manera más concreta, la FSH se sabe que actúa sobre el ovario estimulando el crecimiento folicular, la proliferación de las células de la granulosa y la producción de estrógenos por las mismas. Y la LH induce la ovulación y promueve la luteinización de las células de la

Efecto del bolo de aGnRH en protocolos de FIV con antGnRH

granulosa y de la teca, para dar lugar al cuerpo lúteo. Este cuerpo lúteo secreta progesterona. La LH favorece además la puesta en marcha de la meiosis del ovocito, la lleva del estado de profase I, en el que estaba, al de metafase II (Wiesak, 2003).

Los estrógenos y progesterona que se sintetizan en el ovario van a regular la liberación de GnRH y gonadotrofinas según el momento del ciclo en el que se esté. El estrógeno actúa, mediante un mecanismo de feed-back negativo o positivo, sobre el hipotálamo regulando la liberación de GnRH y por tanto la de gonadotrofinas. También estimulan la aparición de receptores de FSH en el folículo. Sobre el endometrio, el estrógeno estimula su proliferación aumentando su tamaño y preparándolo para las posteriores fases del ciclo. La progesterona, se secreta por el cuerpo lúteo y actúa sobre el endometrio para prepararlo para la implantación. Actúa sobre la liberación de GnRH

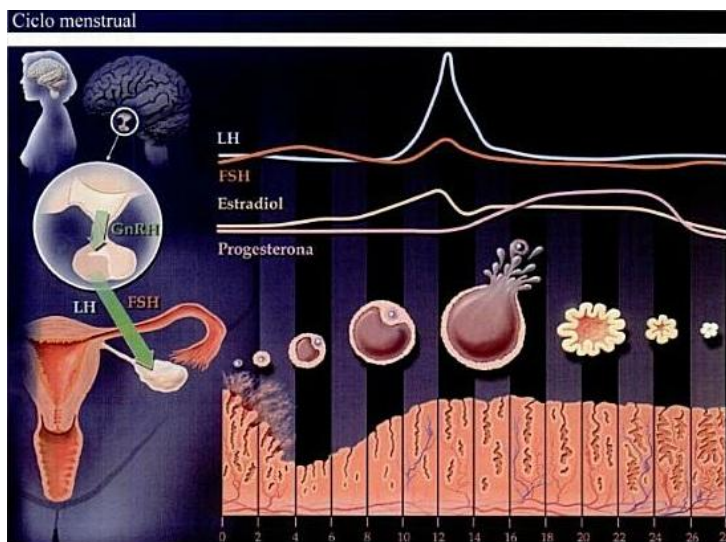


Ilustración 2. Variaciones hormonales durante el ciclo menstrual
(Imagen obtenida del libro 'Obstetricia y medicina materno filial', Luis Cabrero Roura, D. Saldivar Rodríguez. Ed.2007)

reduciendo la amplitud y la frecuencia de sus pulsos, de manera que deja de liberarse LH, la FSH no se ve afectada. El cuerpo lúteo también libera estrógenos aunque en menor cantidad que la progesterona.

Aunque la liberación por separado de cada gonadotrofina va a venir marcada por los pulsos de GnRH (cuando aumenta la frecuencia y la amplitud de los pulsos se libera más LH, la FSH no necesita un estímulo tan grande de GnRH), la cantidad de gonadotrofinas que se liberen está regulada por el ambiente estrogénico. Esto es por el feed-back negativo y positivo que ejercen sobre la hipófisis. Así, los niveles de estrógenos elevados durante la fase folicular crean una inhibición de la liberación de gonadotrofinas, por lo que disminuirían los niveles circulantes de FSH y LH. Pero, por otro lado, en la hipófisis se seguirían sintetizando gonadotrofinas por el estímulo de los estrógenos. Como se siguen manteniendo los pulsos de GnRH, llega un punto en que la hipófisis responde a este estímulo y se produce un pico máximo de liberación de gonadotrofinas, que es el pico ovulatorio.

Aunque en la fase lútea aún existen niveles elevados de estrógenos, no se produce ningún pico de gonadotrofinas. Esto es así porque, se sintetiza en elevados niveles progesterona, y esta actúa, mediante feed-back negativo sobre el hipotálamo, inhibiendo la liberación de GnRH.

GnRH

En las etapas tempranas de la aplicación de las Terapias de Reproducción Asistida (TRA), se empleaban preparados con gonadotrofinas procedentes de orina de mujeres gestantes para conseguir la estimulación folicular. Aunque estos preparados no estaban purificados tanto como era deseable. Hubo que esperar hasta 1960 para que se purificaran las gonadotrofinas (FSH y LH) de orina de mujeres post-menopáusicas (Hayden, 2008). El problema de estas preparaciones de gonadotrofinas, era que llevaban trazas de LH, por lo que a medida que evolucionaron las técnicas de ingeniería bioquímica, se empezaron a sintetizar FSH recombinantes (rFSH) a partir de la secuencia de ADN de los genes que codifican para la subunidades α y β de la FSH humana. Estas preparaciones tienen una pureza elevada (>99%) y una bioactividad idéntica a la FSH nativa y además, no contiene LH (Tulppala *et al.*, 1999).

En 1971, se aisló por primera vez la GnRH (*Ilustración 4*) por Schally y Guillemin. Es un decapeptido que, como se dijo anteriormente, controla la liberación de las gonadotrofinas. A partir de aquí, se analizó la estructura aminoacídica de esta molécula (*Ilustración 3*) y se observaron ciertas regiones en las que, si se cambiaba algún residuo aminoacídico, se aumentaba la potencia de la molécula, su afinidad por los receptores era

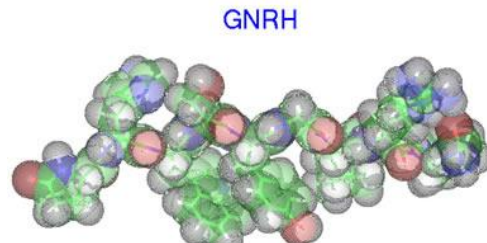


Ilustración 4. Estructura 3D de la GnRH (Imagen obtenida del portal de internet: <http://www.reproduccionasistida.org>)

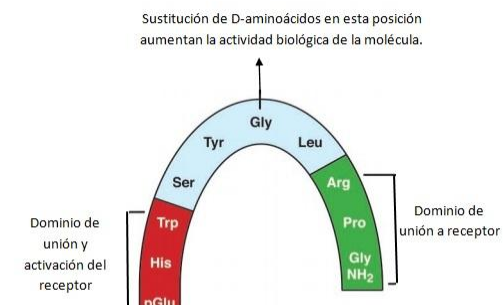


Ilustración 3. Secuencia de aminoácidos de la GnRH con los diferentes dominios (Imagen modificada de Millar *et al.*, 2004)

mayor y su vida media también, pasaba de 10 minutos a horas. Se desarrollaron así los análogos de GnRH (Hayden 2008).

Con la aplicación de estos análogos de GnRH lo que se consigue es tener un control del ciclo al suprimir la función del eje hipófisis-gonadal e inhibir la liberación de las

Efecto del bolo de aGnRH en protocolos de FIV con antGnRH

gonadotrofinas (FSH y LH) y de los esteroides sexuales (estrógenos y progesterona).

Dentro de los análogos de GnRH están los agonistas (aGnRH) y los antagonistas. Los dos suprimen el eje, pero lo hacen de distinta manera (Chillik 2002).

Los **agonistas de GnRH** (aGnRH) se unen a los receptores para la GnRH que hay en la hipófisis anterior con más afinidad que la propia GnRH. El efecto de este aGnRH va a ser la liberación endógena de gonadotrofinas después de su administración, debido al efecto “flare-up” que inducen. Cuando la administración de los aGnRH es continua en el tiempo, durante 1 o 2 semanas, se produce un efecto de “down-regulation” sobre la hipófisis (disminuyen los receptores de GnRH de la membrana del gonadotropo), y se suprime la función de la misma. Es decir, se produce una desensibilización de la hipófisis. Esta supresión continúa hasta dos semanas después de suspender el tratamiento con los aGnRH.

Los aGnRH se obtienen a partir de la modificación de las glicinas (Gly) de las posiciones 6 y 10 de la molécula de GnRH (*Ilustración 5*). Con estas modificaciones se aumenta la afinidad de la molécula por los receptores, así como su vida media y su resistencia a la degradación enzimática (Chillik 2002).

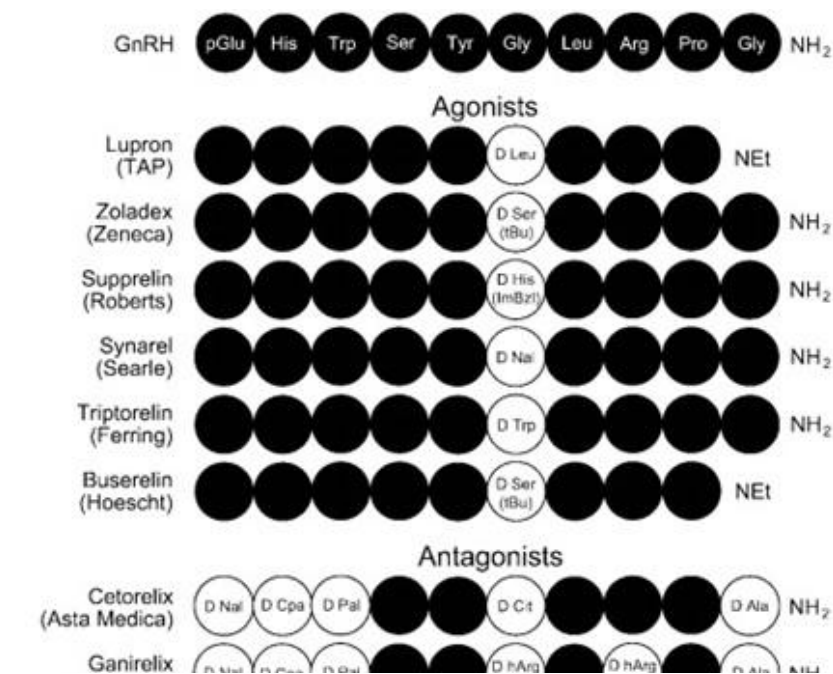


Ilustración 5. Algunos de los agonistas y antagonistas de la GnRH más usados (Imagen modificada de Millar et al., 2004)

Los **antagonistas de GnRH** (antGnRH) van a competir con la GnRH endógena por sus receptores. Cuando se une a éstos, produce una supresión inmediata de la

Efecto del bolo de aGnRH en protocolos de FIV con antGnRH

secreción de gonadotrofinas. La supresión no solo es inmediata, sino que se mantiene siempre y cuando exista el antagonista. En este caso, no ocurre la desensibilización que se da cuando se usan aGnRH. A las pocas de horas de suspender la administración de los antGnRH se reinicia la función de la hipófisis de manera normal.

En este caso, las modificaciones en la secuencia de aminoácidos de GnRH no son solo en las posiciones 6 y 10, como en el caso de los aGnRH, sino también en las posiciones 1, 2, 3 y 8 (*Ilustración 5*). Estas modificaciones le confieren la actividad competitiva por los receptores de GnRH, una mayor afinidad por los mismos, una vida media más larga y una mayor resistencia a la degradación enzimática (Chillik 2002).

Antes de que existieran los análogos de GnRH, en los protocolos estándares de FIV se aplicaban (Hayden 2008), para la estimulación ovárica, un co-tratamiento con citrato de clomifeno y gonadotrofina menopáusica humana (hMG). El citrato de clomifeno es un compuesto antiestrogénico, provoca una función anormal del eje hipotálamo-hipófisis-gonadal. El hipotálamo no detecta todo el estrógeno que circula en sangre, no se produce el “feed-back” negativo y, como consecuencia, se secreta más cantidad de FSH y se produce una estimulación ovárica. Con este co-tratamiento se rescata de la atresia a múltiples folículos que van a tener una fase lútea con niveles elevado de progesterona (P4). Pero existe un problema, y es que hay un riesgo elevado de que se produzca, de manera espontánea, un pico prematuro de LH debido a los elevados niveles de estrógenos presentes en la fase folicular media. Este pico prematuro conlleva a la cancelación de los ciclos (en un 20-25% de los casos) porque se produce una alteración en la maduración ovocitaria que afecta a la calidad del ovocito y, en ocasiones, se producía una ovulación prematura, además, también puede tener un efecto deletéreo sobre el endometrio. Estos factores comprometen el éxito del tratamiento.

Se empezó a pensar entonces, que habría que conseguir la estimulación ovárica provocando una supresión de este pico prematuro de LH espontáneo que surgía en estas estimulaciones con los protocolos clásicos. Para eso, sobre 1980, se empezaron a usar los protocolos con agonistas de GnRH.

Los protocolos de FIV con **aGnRH** pueden ser de dos maneras (Chillik 2002):

1. *Protocolo largo o supresor*: la administración de los aGnRH puede iniciarse en la fase folicular temprana o en la fase lútea media. La administración de gonadotrofinas tendría lugar cuando la supresión ovárica tuviera lugar, que sería

Efecto del bolo de aGnRH en protocolos de FIV con antGnRH

después de recibir los análogos durante 10 o 14 días. La supresión ovárica se confirma por niveles de estradiol (E2) por debajo de 35pg/mL, y se descarta por ecografía transvaginal si hay actividad folicular.

2. *Protocolo corto o “flare-up”*: el efecto “flare-up” inicial que producen los aGnRH conlleva al aumento de los niveles basales de FSH y LH, éstos últimos en mayor proporción, también hay un aumento de E2. La FSH elevada iniciaría el rescate folicular. A los 3 días de la administración con aGnRH se iniciaría la administración con gonadotrofinas (para continuar con el desarrollo folicular) y se mantienen los aGnRH para evitar el pico endógeno de LH.

En estos protocolos con aGnRH, la maduración final del ovocito y la inducción de la ovulación, así como la luteinización de las células de la granulosa, se consigue con la administración de la gonadotrofina coriónica humana (hCG), que se une a los receptores de la LH en el ovario, aunque presenta algunas diferencias que se verán más adelante.

Posteriormente a estos protocolos, se iniciaron los protocolos con **antagonistas de GnRH**. En este caso se puede aplicar un esquema supresor desde el inicio de la estimulación o un esquema para prevenir el pico de LH.

1. *Esquema supresor desde el inicio de la estimulación*: en cuanto se produce la supresión hipofisaria se inicia el co-tratamiento con las gonadotrofinas. Como la supresión se consigue a las pocas horas de la administración, se pueden iniciar las gonadotrofinas en el día 2 o 3 del ciclo.

2. *Esquema para prevenir el pico de LH*: tiene dos variantes, una de dosis múltiple (o diaria) y otra de dosis única (Tarlantzis *et al.*, 2006). Ambos pueden darse según dos esquemas:

- a. *Esquema fijo*: la administración se haría a partir del día 6 del ciclo de manera continuada hasta la administración del desencadenante de la ovulación, hCG o bien aGnRH.
- b. *Esquema variable o flexible*: se administra cuando hay un folículo >14mm, independientemente del día del ciclo en el que se esté.

El esquema de dosis múltiple variable o flexible es el más empleado.

Aunque en la primera mitad del ciclo el pico de LH es indeseable, en la segunda mitad, sin embargo, es totalmente imprescindible. En un ciclo natural, con el pico de

Efecto del bolo de aGnRH en protocolos de FIV con antGnRH

LH se pone en marcha de nuevo la meiosis, lo que conlleva a la maduración del ovocito (paso de Profase I a Metafase II) y se inicia la ovulación en el folículo preovulatorio (Hayden 2008). Con la ruptura del folículo, se produce la expansión del complejo cúmulo-ovocito, y el folículo residual se convierte en el cuerpo lúteo (CL) al producirse la luteinización de las células de la teca y la granulosa. Como la liberación de LH se sigue manteniendo, el CL se mantiene y se sigue desarrollando. En el caso de que exista una fecundación, la hCG liberada una vez se produce la implantación del blastocisto, al tener afinidad por los receptores de LH, se une a ellos y mantiene al CL hasta que se desarrolle la placenta.

Por lo tanto, en un ciclo estimulado, hay que conseguir ese efecto que tiene la LH. En este caso, de manera generalizada se emplea hCG. La hCG es una gonadotrofina que, administrada de manera exógena, cuando hay una supresión de la función hipofisaria, tiene el mismo efecto que la LH. La hCG se administra unas 36 horas antes de realizarse la punción folicular, cuando los folículos tienen el tamaño adecuado para proceder a su extracción. Lo que se consigue con esta hCG, es desencadenar la maduración final del ovocito y la inducción de la ovulación.

La vida media de la hCG de unas 24 horas, mucho mayor que la de la LH que son solo 60 minutos (J.Itzkovitz-Eldor *et al.*, 2000). Además, la hCG tiene mucha más afinidad por los receptores de la LH que la propia LH. Por lo tanto, el efecto luteotrófico de la hCG es mucho mayor y más prolongado en el tiempo. Además, los niveles de E2 y P4 serán suprafisiológicos.

Este efecto luteotrófico prolongado y los niveles suprafisiológicos de E2 y P4, son factores claves para desencadenar el Síndrome de Hiperestimulación Ovárica (SHO) en algunas pacientes (Humaidan *et al.*, 2005). Con la luteinización excesiva las células de la granulosa aumenta la producción del Factor de Crecimiento Endotelial (VEGF). Este factor es importante en el desarrollo y mantenimiento de la vascularización de los tejidos circundantes al CL. Además, se sabe que cuando está sobreexpresado, como en el caso de que haya una luteinización excesiva, está implicado en el SHO.

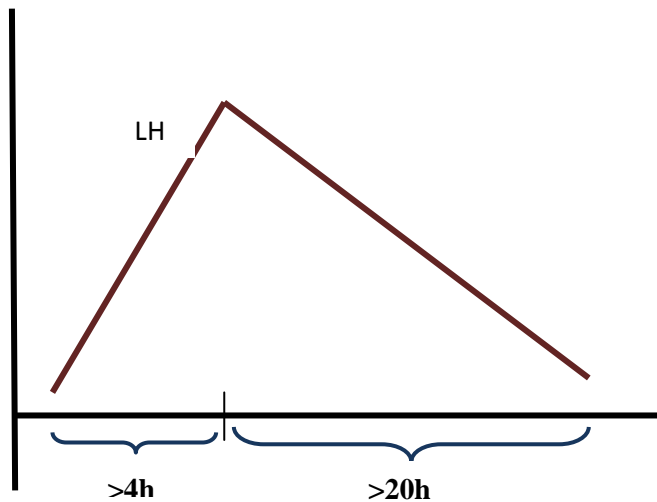
El SHO es un síndrome que puede ser muy peligroso, ya que produce pérdidas severas del volumen intravascular y la acumulación del líquido extravascular, y puede derivar en trombosis, ascitis, problemas renales y problemas cardio-respiratorios.

Efecto del bolo de aGnRH en protocolos de FIV con antGnRH

Este síndrome suele darse en mujeres jóvenes que están sometidas a un protocolo de estimulación en Reproducción Asistida (RA). También se puede dar en mujeres con Síndrome de Ovario Poliquístico (SOP).

Para evitar este tipo de problemas, en protocolos de FIV con antagonistas de GnRH, se puede desencadenar la maduración final ovocitaria y la inducción de la ovulación, empleando agonistas de GnRH.

Cuando se usan los aGnRH para inducción de la ovulación se produce una

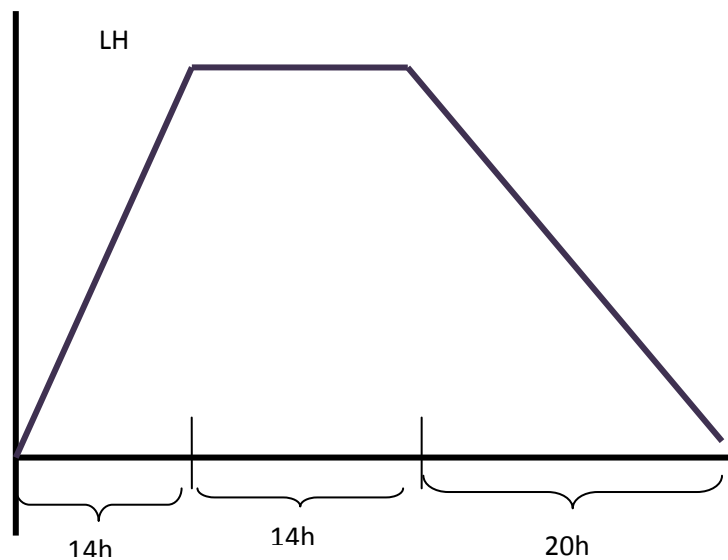


liberación sostenida (>24h) de LH por la hipófisis, que es similar, dentro de unos límites, a la producida en un ciclo natural. Además, también hay una liberación, aunque en menor cantidad, de FSH.

La administración de la aGnRH puede darse unas 12 horas

Figura 1. Pico de LH inducido por los aGnRH

después de la última administración con antGnRH. El efecto “flare-up” de los aGnRH producen un pico de LH que tiene dos fases (Figura 1): una corta ascendente de >4h y



otra más larga descendente de >20h, en total unas 24-36h (Humaidan *et al.*, 2005). Este pico es similar al que se produce en un ciclo natural aunque con un esquema diferente y de menor duración. En un ciclo natural (Figura 2), el pico de LH consta de 3 fases: una ascendente de 14h, otra plana

Figura 2. Pico de LH en un ciclo natural

de 14h y una última fase descendente de 20h, en total unas 48h.

Aún así, aunque el pico de LH sea más corto, la maduración ovocitaria y la inducción de la ovulación son normales. Y no se ve afectado ni el número, ni la calidad ovocitaria, ni la capacidad de fertilización, ni la división embrionaria (Sismanoglu *et al.*, 2009). Sin embargo, la fase lútea es deficiente (algo que no pasa con la hCG). Por otro lado, se sabe que hay receptores endometriales y uterinos para la LH, por lo tanto si la LH endógena es más baja que en un ciclo normal, la receptividad endometrial será menor, llegando incluso a impedir la implantación. Una fase lútea deficiente y una receptividad endometrial baja desencadenarían unas tasas de implantación y preñez bajas e indeseables.

También hay que tener presente que en los estudios llevados a cabo con agonistas para desencadenar la ovulación y la maduración final del ovocito en pacientes (Fauser *et al.*, 2002; Humaidan *et al.*, 2005; Kolibianakis *et al.*, 2005; Anderesen *et al.*, 2006; Griesinger *et al.*, 2007), se ha suplementado la fase lútea, con progesterona micronizada por vía vaginal y con estrógenos por vía oral, para ver si así se aumentaban las tasas de implantación y gestación, y se disminuían las tasas de abortos. Pero eso no ayudaba, lo que hace pensar, que el efecto de los agonistas en el endometrio es deletéreo, y es una de las causas principales de la baja implantación y gestación. Este es un argumento más a favor del uso de los agonistas en programas de ovodonación.

Sin embargo, cuando se analiza el SHO, se ve que cuando se usan protocolos de antGnRH usando aGnRH para desencadenar la ovulación, los casos de SHO son, inexistentes (Humaidan *et al.*, 2005; Kolibianakis *et al.*, 2005; Galindo *et al.*, 2009; Sismanoglu *et al.*, 2009; Erb *et al.*, 2010).

Por lo tanto, el uso de aGnRH en protocolos de FIV con antGnRH es una buena opción en el caso de donantes de ovocitos. Ya que se consiguen un número adecuado de ovocitos sin comprometer su calidad ni su futuro potencial de desarrollo, y además se puede evitar el riesgo de que sufran SHO (Galindo *et al.*, 2009; Sismanoglu *et al.*, 2009; Erb *et al.*, 2010).

OBJETIVOS

El objetivo de este trabajo observacional es valorar cómo afecta el uso de agonistas de GnRH para desencadenar la maduración final ovocitaria y la inducción de la ovulación en protocolos de FIV con antagonistas de GnRH en el programa de ovodonación.

Para eso, se va a analizar el efecto que tiene en la reducción de casos de SHO. Y el efecto que tiene sobre la cantidad de ovocitos recogidos y la capacidad de los mismos de fertilizar. Así como también, cómo afecta al potencial de los embriones para dividirse y para implantarse en las receptoras.

MATERIAL Y MÉTODOS

Donantes.

Se han analizado los datos de todas las donantes tratadas en la Centro de Fertilización In Vitro de Asturias (CEFIVA) en el año 2011. Todas las donantes siguieron un mismo protocolo de FIV con antagonistas de GnRH, en el que se usaban los agonistas de la GnRH para desencadenar la ovulación.

En el estudio se incluyen un total 109 donantes de las que se ha obtenido un promedio de 7 ovocitos por donante, aunque hubo algunas de las que se obtuvieron más ovocitos. Cada donante pasó los controles psicológicos y clínicos de rigor, así como los controles serológicos pertinentes para descartar posibles marcadores bioquímicos de Hepatitis B, Hepatitis C y VIH.

Protocolo de estimulación ovárica.

Todas las donantes se han sometido a un mismo protocolo de estimulación ovárico con algunas variantes en casos determinados. El protocolo consistió en una administración de anticonceptivos orales en un ciclo previo, para programar los ciclos y mantener la hipófisis controlada.

Al terminar este ciclo con anticonceptivos, se pasó a la estimulación con gonadotrofinas recombinantes, *Gonal* en forma de inyecciones diarias. La administración del *Gonal* se inicia el día 5 del ciclo, en dosis entre 150 y 300 UI. Las

Efecto del bolo de aGnRH en protocolos de FIV con antGnRH

dosis de 150 UI se dieron en los casos que existiera un mayor riesgo de SHO, esto es casos que se viera un número elevado de folículos mediante ecografía basal o casos en los que la paciente mostrara Síndrome de Ovario Poliquístico (SOP). En los casos en donde el número de folículos antrales fuera menor se administraban dosis entre 225 y 300 UI, predominando las dosis de 225 UI.

El inicio del tratamiento con antagonistas de GnRH, Cetrotide (Cetrorelix) o Orgalutran (Ganirelix), se hizo generalmente siguiendo un protocolo de dosis múltiples fijo, esto es, independientemente del tamaño de los folículos se administró el antagonistas el día 6 del ciclo, 0,25mg diarios. Hubo en casos que se siguió un protocolo variable, es decir, el inicio de la administración se hizo en el momento en que los folículos tenían un tamaño mayor ≥ 14 mm.

El criterio para la administración del agonista de GnRH, Procrin (*Acetato de Leuprolide*) o Decapeptyl (*Triptorelina*), para desencadenar la ovulación y la maduración ovocitaria final, es que el tamaño de 3 o más folículos sea de 17mm. Cuando se alcanzó este criterio, se procedió a la administración del agonista, 0,3cc (1,5mg) en el caso del Procrin, y 0,2mg en el caso del Decapeptyl. La dosis del agonista se dio aproximadamente 24 horas después de la última dosis de antagonista y de gonadotrofina recombinante. 36 horas después se programó la punción ovárica.

La punción ovárica se llevó a cabo de manera guiada ecográficamente y con sedación.

No se observó ningún caso de SHO en las donantes.

Receptoras

Se han analizado los datos de 123 receptoras con edades comprendidas entre los 30 y 50 años. Antes de empezar con el tratamiento estas receptoras fueron sometidas a controles clínicos y ginecológicos, para comprobar que eran susceptibles de ser receptoras de los embriones. Las asignaciones de ovocitos se hacen según las características fenotípicas y sanguíneas de las donantes y receptoras.

La preparación endometrial se llevó a cabo por dos sistemas diferentes, que se administraron de manera aleatoria entre las diferentes receptoras.

Uno consistió en un tratamiento con estrógenos, *valerato de estradiol*, por vía oral siguiendo una pauta ascendente como la que sigue: una dosis de 2mg durante los

Efecto del bolo de aGnRH en protocolos de FIV con antGnRH

primeros 8 días, seguida de una dosis de 4mg los días 9, 10 y 11; y una dosis de 6mg a partir del día 12.

El otro sistema de preparación endometrial, consistió en la administración de estrógenos por vía transdérmica, mediante parches, de *Estradot*, en una dosis de 150mg administrado en dos parches de 75mg cada uno. Los parches se renuevan cada 2 días.

En ambos sistemas se realizó, a los 14 días, una valoración del grosor endometrial por ecografía. Cuando este endometrio mide más de 7mm y tiene un aspecto trilaminar, se considera óptimo para recibir los embriones.

A partir de aquí se procedió de dos maneras distintas dependiendo si, en el momento de las condiciones óptimas del endometrios hubiera una donante disponible o no. Si la donante estaba disponible, se le administró a la receptora un tratamiento con progesterona por vía vaginal, Utrogestan, en una dosis de 600-800mg diarios, de manera indefinida. En el caso de que la donante no estuviera disponible, se mantuvo a la receptora en espera, ya que el endometrio sigue estando receptivo hasta que se produzca la descamación endometrial.

Transferencia de embriones

En todos los casos el proceso de fertilización fue llevado a cabo mediante un Inyección Intracitoplasmática del espermatozoide (ICSI) con el semen del cónyuge de la receptora correspondiente, o de donante de semen de ser el caso.

La transferencia embrionaria se realizó de manera ecoguiada y se depositaron los embriones en la cavidad uterina. Esta transferencia se realizó de manera habitual el día +3 después de la realización de la ICSI, aunque en algunos casos se realizó el día +2, o en estadio de blastocisto los días +5 o +6, dependiendo de la evolución de los embriones.

Evaluación de la gestación

Para la evaluación de la gestación se hace una determinación de la β -hCG en sangre a los 12 días después de la transferencia embrionaria. Y mediante ecografía transvaginal, para observar la presencia de saco gestacional intrauterino unos 10-15 días después de la determinación de la β -hCG.

Análisis estadístico de los datos

Para el análisis de los datos se usó el test estadístico exacto de Fisher. Además, para comprobar la significación se ha empleado un test de comparación de proporciones basado en una distribución binomial.

RESULTADOS

De las 109 donantes que se incluyen en este estudio se han obtenido una media de 7 ovocitos por donante (806 ovocitos en metafase II), aunque cabe destacar que alguna donante obtuvo un número de ovocitos suficiente para ser asignados a dos receptoras. Estos ovocitos se asignaron a 123 receptoras, con edades comprendidas entre los 30 y los 50 años (Tabla 1).

Para ver si la edad de la receptora influía en los análisis, se separaron por rangos de edad, y no se han encontrado diferencias significativas entre ningún grupo.

Tabla 1. Fertilización de ovocitos donados

Edad	Pacientes	Ovocitos	Embriones	Fertilización
30-35	16	107	79	73,83%
36-40	39	251	197	78,49%
41-44	50	325	237	72,92%
45-50	18	123	95	77,24%
Totales	123	806	608	75,43%

El número total de embriones obtenidos fue de 608, lo que corresponde a una tasa de fertilización del 75,43% (Tabla 1).

En cuanto a la transferencia de embriones, se ha transferido una media de 2 embriones por paciente, en total se ha transferido 242 embriones (Tabla 2). Se han observado 59 gestaciones (por la observación de 76 sacos gestacionales intrauterinos) y 12 abortos. La tasa de implantación ha sido del 34,40%. La tasa de gestación por transferencia ha sido de 50,43% y la tasa de abortos del 20,34% (Tabla 3).

No se observó ningún caso de SHO.

Efecto del bolo de aGnRH en protocolos de FIV con antGnRH**Tabla 2. Transferencia de embriones y gestaciones**

Edad	Pacientes	Transferencias	Embriones transferidos	Sacos	Gestación	Abortos
30-35	16	14	32	12	9	2
36-40	39	37	76	25	18	3
41-44	50	49	100	31	24	4
45-50	18	17	30	10	8	1
Totales	123	117	242	76	59	12

Tabla 3. Tasas de implantación, gestación y abortos

Edad	Pacientes	Implantación	Gestación/Transferencia	Abortos
30-35	16	37,50%	64,29%	22,22%
36-40	39	32,89%	48,65%	16,67%
41-44	50	31,00%	48,98%	16,67%
45-50	18	33,33%	47,06%	12,50%
Totales	123	31,40%	50,43%	20,34%

DISCUSIÓN

Cuando se habla de programas de donantes de ovocitos hay que tener presentes varios objetivos, dentro de los cuales el echo de conseguir obtener un número elevado de ovocitos en metafase II de buena calidad, no es el único importante. Si no que es necesario conseguir un protocolo seguro para la donante, ya que se embarca en esta aventura de manera altruista y voluntaria.

Uno de los mayores riesgos derivado de las estimulaciones en los protocolos de FIV es el desarrollo del Síndrome de Hiperestimulación Ovárica (SHO). Las más propensas a desarrollarlo son las donantes de ovocitos y esto es debido a que son las que cumplen con los factores de riesgo, a saber, ser jóvenes y estar sometidas a protocolos de estimulación ovárica.

Se sabe que uno de los desencadenantes del SHO es el empleo de la hCG para desencadenar la maduración final del ovocito y la inducción de la ovulación, y ésto es debido a que tiene un efecto más duradero y más intenso sobre la fase lútea que la LH endógena que se libera de manera fisiológica en un ciclo natural. La razón no radica solo en el echo de que tanto la vida media de la hCG (>24h) como su efecto son mayores que los de la LH (unos 60 minutos aproximadamente), sino a que la hCG tiene una afinidad mayor por los receptores de la LH, con lo que provoca una luteinización y unos niveles de estrógenos y progesterona, suprafisiológicos (J.Itskovitz-Eldor *et al.*, 2000).

Para solventar este gran problema, se empezaron a plantear otros protocolos que disminuyeran o evitaran la incidencia del SHO, pero sin afectar a los ovocitos. Para ello se empezó a valorar qué ocurría cuando se usaba el efecto “flare-up” de los agonistas de GnRH para desencadenar la maduración final ovocitaria y la inducción de la ovulación, en protocolos de FIV donde se administraba un co-tratamiento de gonadotrofinas y antagonistas de GnRH para la estimulación.

Se empezaron a desarrollar estudios comparativos entre pacientes en las que se empleaban los aGnRH en vez de hCG. Con los primeros estudios llevados a cabo se demostró que era posible usar los aGnRH para desencadenar la maduración final ovocitaria e inducir la ovulación en protocolos de FIV con antGnRH. Como es el caso del estudio realizado por J.Itskovitz-Eldor *et al.* (2000), en el que observaron que 30

Efecto del bolo de aGnRH en protocolos de FIV con antGnRH

horas después de la administración de un aGnRH se producía un pico de LH y FSH endógenos, de condiciones similares a los picos que surgen de manera natural cuando se induce la ovulación. Es decir, los aGnRH eran capaces de desplazar a los antGnRH de los receptores de la GnRH y desencadenar la liberación de LH y FSH endógenos, solo unas horas después de haber cesado la administración de los antGnRH. No es necesario esperar más de 2 semanas para restablecer la función hipofisaria, como ocurría en los protocolos de estimulación con aGnRH. También se observó, que las concentraciones de estrógenos y progesterona eran más similares a las fisiológicas cuando se usaba el aGnRH que cuando se usaba la hCG, y esto contribuía a disminuir los casos de SHO. Esto se debe a que el efecto luteotrófico de la LH endógena liberada por los aGnRH, es más similar a la que ocurre en un ciclo natural, y no como en el de la hCG, que es más duradero y más intenso, provocando unas concentraciones de E2 y P4 suprafisiológicas, y es lo que provoca el SHO.

Estudios posteriores, como el realizado por Fauser *et al.* (2002), o el de Beckers *et al.* (2003), tuvieron resultados similares. Observaron que el desencadenamiento de la maduración final ovocitaria y la inducción de la ovulación era posible con aGnRH. Y además, era más segura para las pacientes. Sin embargo, empezaron a observar que el pico de LH endógeno que surgía del efecto “flare-up” de los aGnRH no era suficiente para soportar la fase lútea. Además, las tasas de implantación y gestación eran más bajas en el grupo de los aGnRH que en el de la hCG, y las tasas de abortos eran mayores en el caso del aGnRH.

Se continuaron con estudios similares comparando el efecto de los aGnRH y la hCG, pero suplementando la fase lútea con progesterona micronizada por vía vaginal y con estrógenos por vía oral. Este es el caso de dos estudios del año 2005 llevados a cabo por Humaidan *et al.*, y por Kolibianakis *et al.* En ambos estudios se obtuvieron tasas de implantación y gestación menores en el caso de los aGnRH que con la hCG. Se empieza a pensar que puede ser debido a que el pico endógeno de LH generado por los aGnRH, que tiene una duración inferior al natural, además de generar una fase lútea deficiente, tendría un efecto negativo sobre el endometrio, dificultando así la implantación y por tanto la gestación.

En cuanto al número de ovocitos recuperados, los resultados fueron diferentes, en el caso de Humaidan *et al.*, se obtuvieron más ovocitos totales y en metafase II cuando se empleaban los aGnRH que con hCG. Mientras que en el caso de Kolibianakis *et al.*,

no se aprecian diferencias, en ambos grupos se recogen un número similar de ovocitos totales y en metafase II.

Un meta-análisis llevado a cabo por Griesinger *et al.*, (2006), puso de manifiesto que la capacidad de los aGnRH para inducir la maduración final ovocitaria y la ovulación era adecuada, y que además, los ovocitos obtenidos se obtenían en un cantidades similares a los obtenidos con hCG, y eran capaces de fertilizar, generando embriones capaces de dividirse.

En un estudio observacional, Griesinger *et al.*, (2007), emplearon la criopreservación de pronúcleos en mujeres sometidas a ciclos con aGnRH para desencadenar la maduración final ovocitaria y la inducción de la ovulación, en protocolos con antagonistas de la GnRH en pacientes con alto riesgo de desarrollar SHO. Los resultados muestran que ninguna paciente desarrolló el SHO, el número de ovocitos recogidos y los ovocitos fertilizados no se vieron afectados. La supervivencia de los embriones desvitrificados fue buena. Y las tasas de implantación y gestación no se vieron comprometidas.

Estos resultados analizados en conjunto, hacen pensar que el uso de los agonistas de la GnRH para desencadenar la maduración final ovocitaria y la inducción de la ovulación en protocolos con antagonistas de la GnRH, sería una buena solución para solventar los problemas relacionados con el SHO en los programas de donación de ovocitos. Ya que ni el número de ovocitos recogidos ni su grado de madurez se ve afectado, así como tampoco la capacidad de los mismos para fertilizar y desarrollar embriones competentes para dividirse adecuadamente.

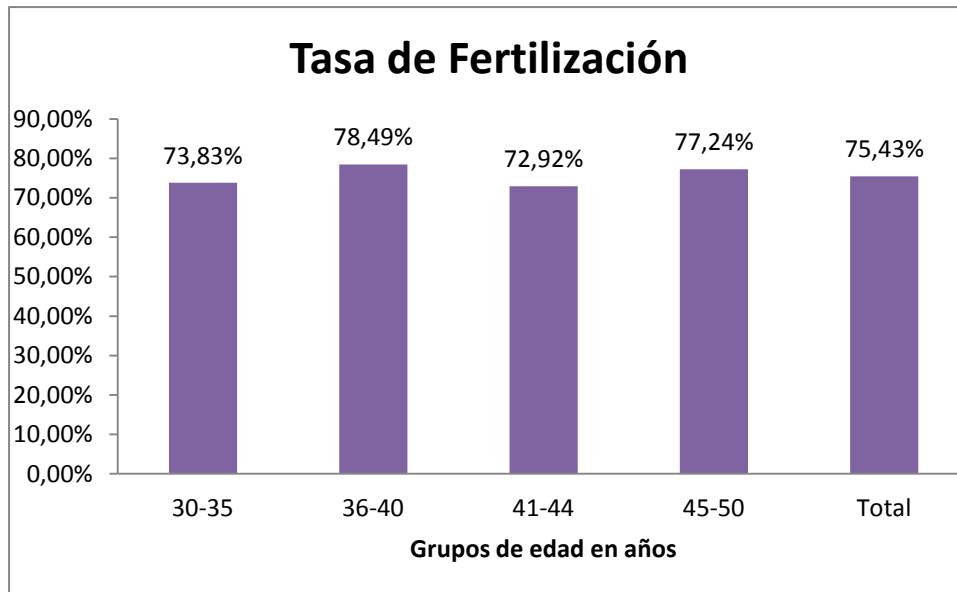
Hay tres estudios que corroboran ésta hipótesis y que se desarrollan en donantes de ovocitos. Uno es el de Galindo *et al.* (2009), otro el de Sismanoglu *et al.* (2009), y el otro de Erb *et al.* (2010). En todos se hace una comparativa entre ciclos de donantes con hCG y aGnRH como desencadenantes. En el caso de de Sismanoglu *et al.* (2009) se estudian las mismas donantes en ciclos sucesivos, en los otros dos se estudian donantes diferentes. En el estudio de Galindo *et al.* (2009), no hay diferencias en el número de ovocitos recogidos ni en los ovocitos metafase II en ninguno de los dos grupos, las tasas de fertilización, implantación, gestación y abortos también son similares. En este estudio además, hacen una comparación entre las cantidades de folículos por tamaños, y encuentran que también son similares en ambos grupos. En el estudio de Sismanoglu *et*

al. (2009), no hay diferencias entre los ovocitos recogidos ni los ovocitos en metafase II en ambos grupos, las tasas de fertilización, implantación y gestación también son similares. En el estudio de Erb *et al.* (2010), sí se encuentran diferencias en el número de ovocitos recogidos y los que están en metafase II, es mayor en el grupo de los aGnRH que en el de hCG. En este caso, se vitrifican embriones y se observa que las tasas de implantación y preñez son similares. En los tres estudios los casos de SHO en el grupo del aGnRH fueron inexistentes, mientras que sí se daban casos en el grupo de la hCG.

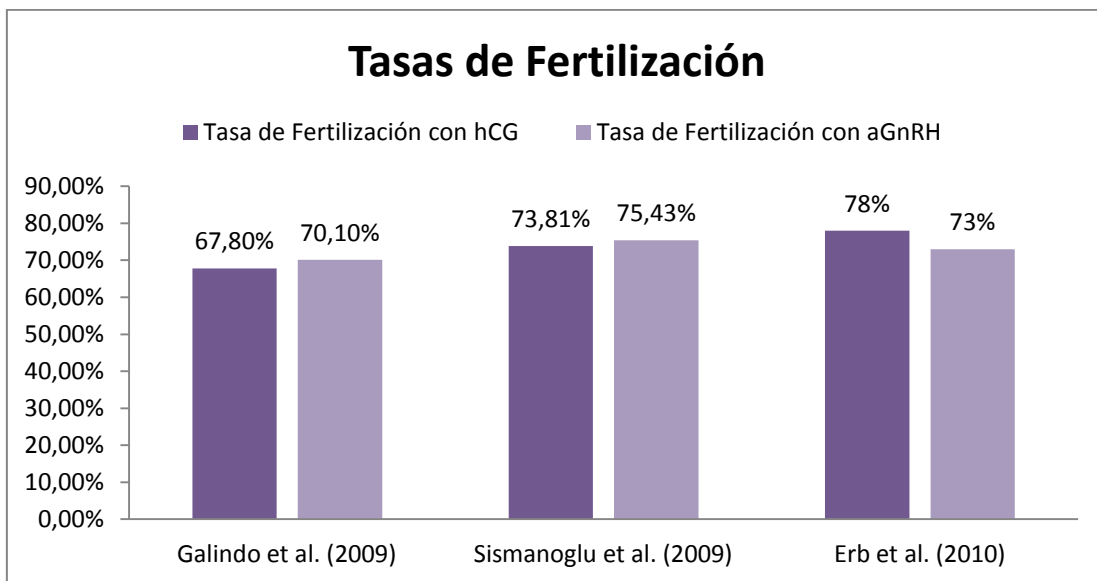
Con estos tres estudios se pone de manifiesto, otra vez, que la capacidad de los ovocitos para fertilizar y generar embriones capaces de dividirse e implantar, no se ve afectada por el uso de aGnRH para desencadenar la maduración final ovocitaria y la inducción de la ovulación. Y que además, se evita el desarrollo del SHO.

Con estos estudios en mente, se realiza un estudio observacional sobre los datos del programa de ovodonación del Centro de Fertilización In Vitro de Asturias (Cefiva). En este caso todas las donantes (n=109) se estimularon bajo el mismo protocolo, y se les administró el aGnRH para desencadenar la maduración final ovocitaria y la inducción de la ovulación. Ninguna de estas donantes desarrolló el síndrome de hiperestimulación ovárica. Se obtiene el mismo resultado que en los estudios de Galindo *et al.* (2009), de Sismanoglu *et al.* (2009) y Erb *et al.* (2010).

El número de ovocitos obtenidos en metafase II es de unos 7 ovocitos por donante (806 ovocitos totales), y el número de embriones es de 608, lo que da una tasa de fertilización del 75,43% (Figura 3). Además, la tasa de fertilización (Figura 4) es similar a la obtenida en los estudios de Galindo *et al.* (2009), 67,8% y 70,1%, con hCG y aGnRH, respectivamente; de Sismanoglu *et al.* (2009), 73,81 y 75,43, con hCG y aGnRH, respectivamente; y de Erb *et al.* (2010), 78% y 73%, con hCG y aGnRH, respectivamente.

Efecto del bolo de aGnRH en protocolos de FIV con antGnRH**Figura 3. Tasa de fertilización**

En este caso, para comprobar si la edad de la receptora influía se analizaron los datos en rangos de edades. Pero se vio que la edad no influía en ninguno de los parámetros, y que las diferencias se debían únicamente al azar.

**Figura 4. Tasas de Fertilización en estudios previos con donantes**

Como se puede observar analizando los resultados de todos los estudios, incluido éste, el uso de aGnRH genera un pico de LH endógeno que es capaz de desencadenar la maduración final y la inducción de la ovulación, de manera similar a como lo hace la hCG, y sin repercutir en los ovocitos, ni en la cantidad ni en su capacidad de fertilización.

Efecto del bolo de aGnRH en protocolos de FIV con antGnRH

Esta información sobre los aGnRH ya se podía deducir de los estudios previos realizados por Humaidan et al (2005) o por Kolibianakis et al. (2005). En ambos, la recogida de ovocitos totales y metafase II son similares tanto en los grupos con hCG como en los de aGnRH, y las tasas de fertilización (Figura 5) también. Para Humaidan *et al.* (2005) se obtienen unas tasas de fertilización del 60% y 54%, con aGnRH y hCG, respectivamente. Y para Kolibianakis *et al.* (2005) las tasas de fertilización son del 55,6% y del 58,0% con aGnRH y hCG, respectivamente. Esto confirma, una vez, la capacidad que tienen los aGnRH para desencadenar la maduración final del ovocito y la inducción de la ovulación, sin perjudicar en ningún momento a los ovocitos ni a sus competencias.

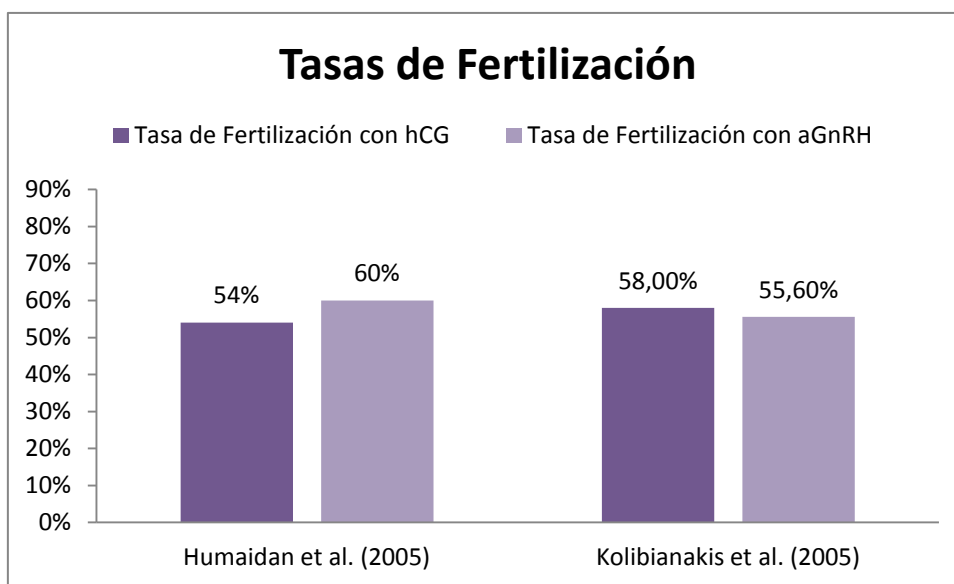


Figura 5. Tasas de Fertilización en estudios previos con pacientes

El número de ovocitos y los embriones es esperable, así como la tasa de fertilización, ya que, como se había visto en estudios anteriores, el uso de aGnRH no afecta a la cantidad de ovocitos ni a su capacidad de fertilización.

En cuanto a la implantación (Figura 6), en este estudio se obtuvo una tasa de implantación del 31,40%. En los estudios previos (Figura 7) de Galindo *et al.* (2009) la tasa de implantación fue del 23% y 27,7%, con hCG y aGnRH, respectivamente. En el de Sismanoglu *et al.* (2009) la tasa de implantación fue del 36,53% y del 32,93%. Y en el de Erb *et al.* (2010), las tasas fueron de 29% y 30%.

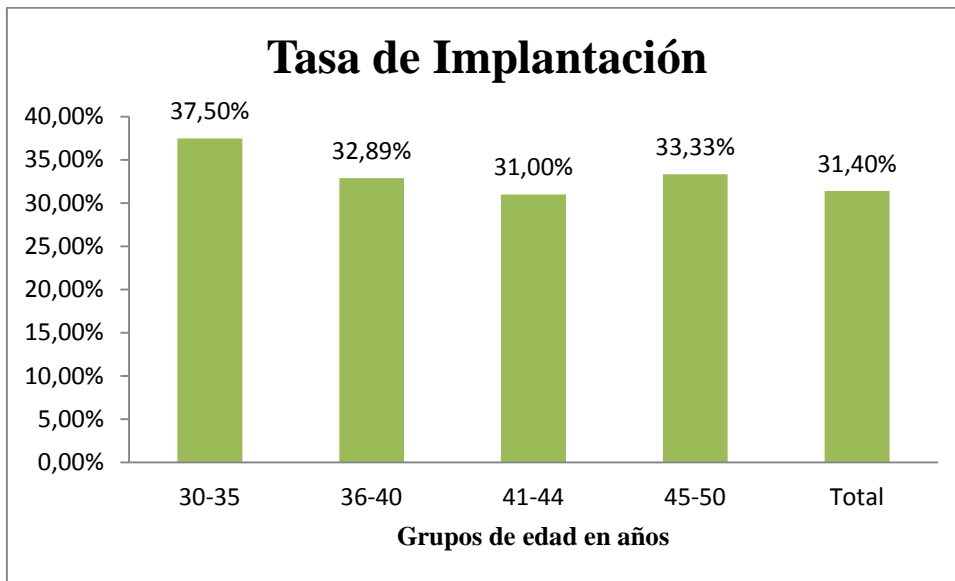


Figura 6. Tasa de implantación

Si se comparan las tasas de implantación con las obtenidas en el estudio de Humaidan *et al.* (2005), 3,37% (3/89) y 34,02% (33/97) con aGnRH y con hCG, respectivamente. Y con el de Kolibianakis *et al.* (2005), 6,8% y 22,6%, con aGnRH y hCG, respectivamente (Figura 8). Se puede ver una clara diferencia entre las tasas obtenidas en los grupos con hCG y con aGnRH, cuando se estimula y se transfiere en las mismas pacientes. Se ve una tasa de implantación significativamente menor en las que se administra el aGnRH. Por el contrario, cuando se emplean estos protocolos para la estimulación de donantes, se ve que las tasas de implantación, en las receptoras, no son diferentes en ninguno de los dos grupos.

Esto viene a confirmar, una vez más, que el efecto de los aGnRH sobre los ovocitos no es perjudicial, pero sí sobre la fase lútea y sobre el endometrio. Cabe recordar que en los estudios de Humaidan *et al.* (2005) y de Kolibianakis *et al.* (2005), las fases lúteas están suplementadas con progesterona micronizada por vía vaginal y con estrógenos por vía oral. Por lo que, se confirma el efecto nocivo de los aGnRH sobre el endometrio. Debido, posiblemente, a que la cantidad de LH endógena que desencadena el efecto “flare-up” de los aGnRH no es lo suficientemente grande para producir una correcta esteroidogénesis. Uno de los lugares de actuación de los estrógenos es sobre el endometrio, por lo tanto, si las concentraciones de estrógenos no son las adecuadas, el endometrio no va a estar en las condiciones adecuadas de receptividad. Y de ahí, las bajas tasas de implantación cuando se usan los aGnRH para desencadenar la

maduración final ovocitaria e inducir la ovulación, en las mismas pacientes en las que se va a transferir.

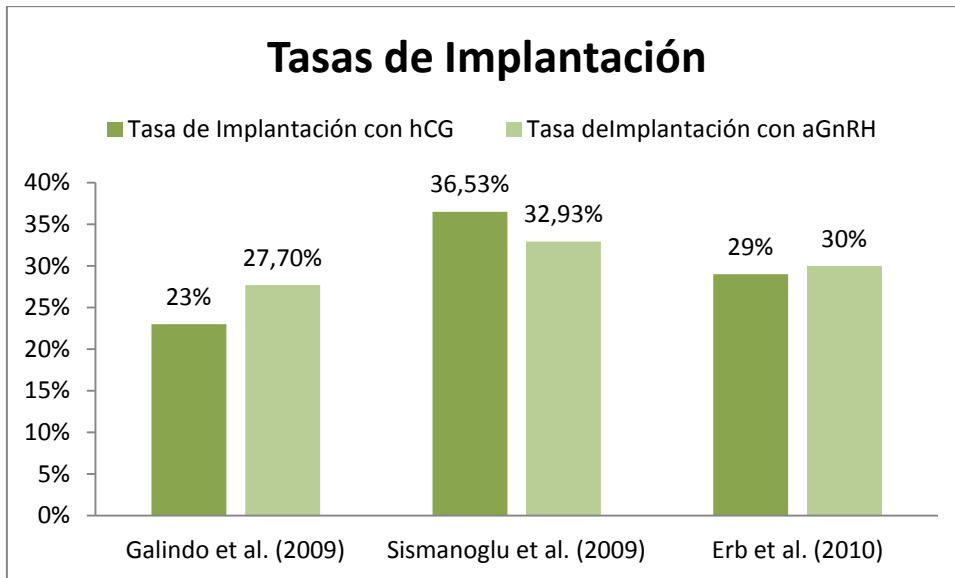


Figura 7. Tasas de Implantación en estudios previos con donantes

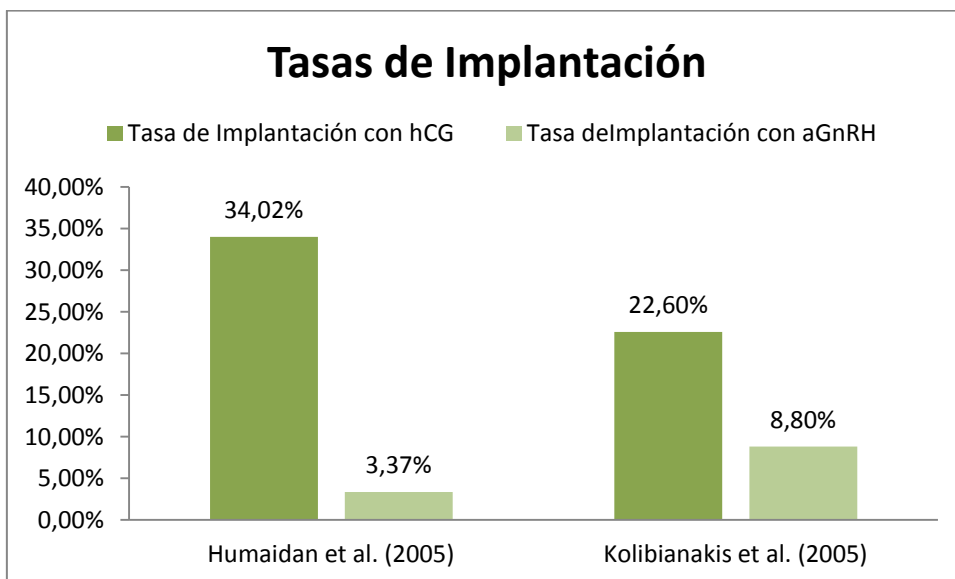


Figura 8. Tasas de Implantación en estudios previos con pacientes

Otro argumento a favor del uso de aGnRH para desencadenar la maduración final ovocitaria y la inducción de la ovulación en programas de donantes de ovocitos, son las gestaciones y los abortos. En este estudio se diagnosticaron 59 gestaciones, por la observación de 76 sacos vitelinos, en un total de 117 transferencias, en las que se transfirieron 242 embriones, unos 2 embriones por paciente. La tasa de gestación por transferencia fue del 50,43% y la tasa de abortos del 20,34% (Figura 9 y Figura 10).

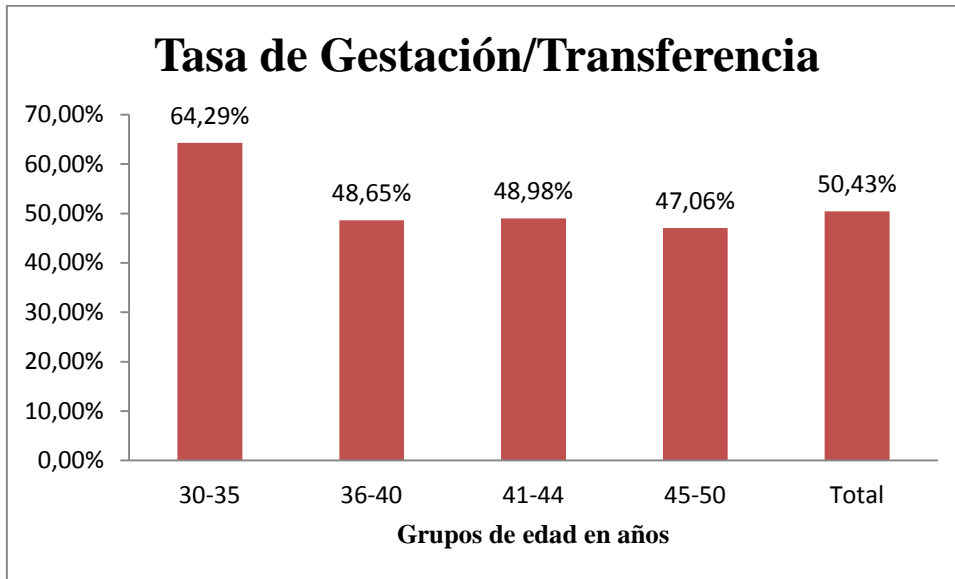


Figura 9. Tasa de Gestación por Transferencia

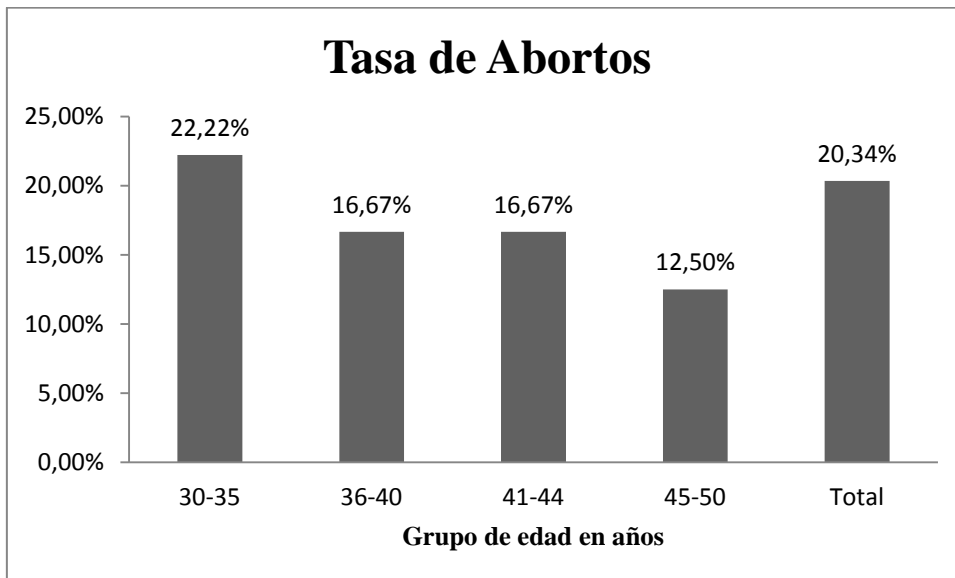


Figura 10. Tasa de Abortos

Las tasas de gestación de los estudios de Galindo *et al.* (2009) fueron de 30% y 31%, con hCG y aGnRH, respectivamente. Las de Sismanoglu *et al.* (2009) fueron de 35,60 % y 34,70%, respectivamente. Y las de Erb *et al.* (2010) de 50% y 40%, respectivamente (Figura 11). Como se puede ver, son similares tanto para hCG como para aGnRH. El endometrio de las receptoras no estuvo expuesto a los agonistas de GnRH, por lo tanto, no se ven los efectos deletéreos que producen sobre el mismo.

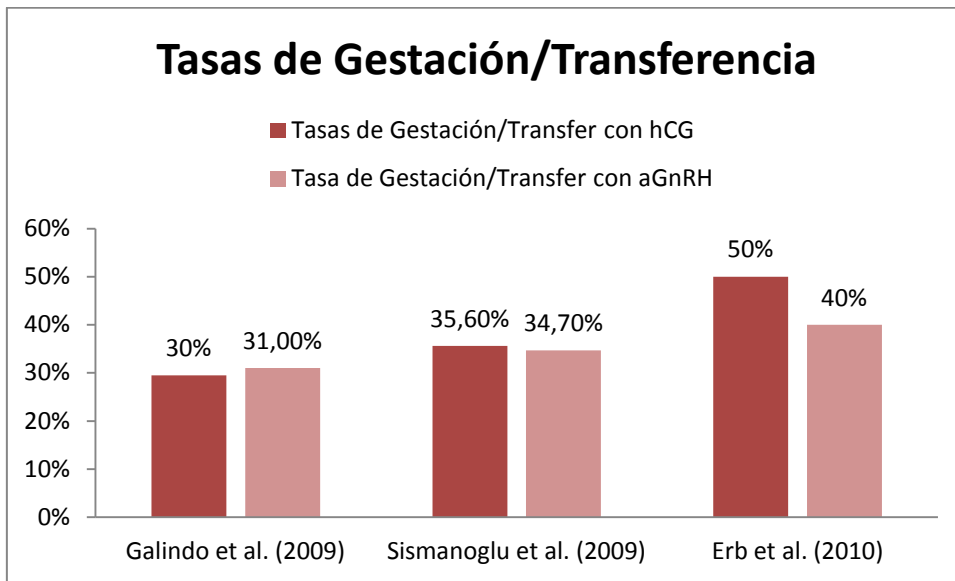


Figura 11. Tasa de Gestación/Transferencia en estudios previos con donantes

Si se comparan las tasas de gestación por transferencia y las tasas de abortos, con los estudios de Humaidan *et al.* (2005) y Kolibianakis *et al.* (2005) (Figura 12 y Figura 13). En cuanto a las tasas de gestación, en el caso de Humaidan son de 6% y 36%, con aGnRH y hCG, respectivamente; y las tasas de abortos son de 79% y 44%, con aGnRH y hCG, respectivamente. En el caso de Kolibianakis, en el grupo I, las tasas de gestación son de 5,60% y 41,70%, para aGnRH y hCG, respectivamente, y las de abortos de 66,7% y 9,1%, respectivamente. Y en el grupo II, las tasas de gestación son de 2,90% y 17%, para aGnRH y hCG, respectivamente, y las de abortos de 83,3% y 16,7%, respectivamente. Como se puede ver, las tasas de gestación, en estos casos, ya varían según a la paciente se le haya administrado hCG o aGnRH. Además, las tasas de aborto son menores en el caso de la hCG que de la aGnRH. Esto viene a indicar, una vez más, que el efecto negativo de los agonistas de la GnRH no está a nivel de los ovocitos, sino a nivel del endometrio y de la fase lútea.

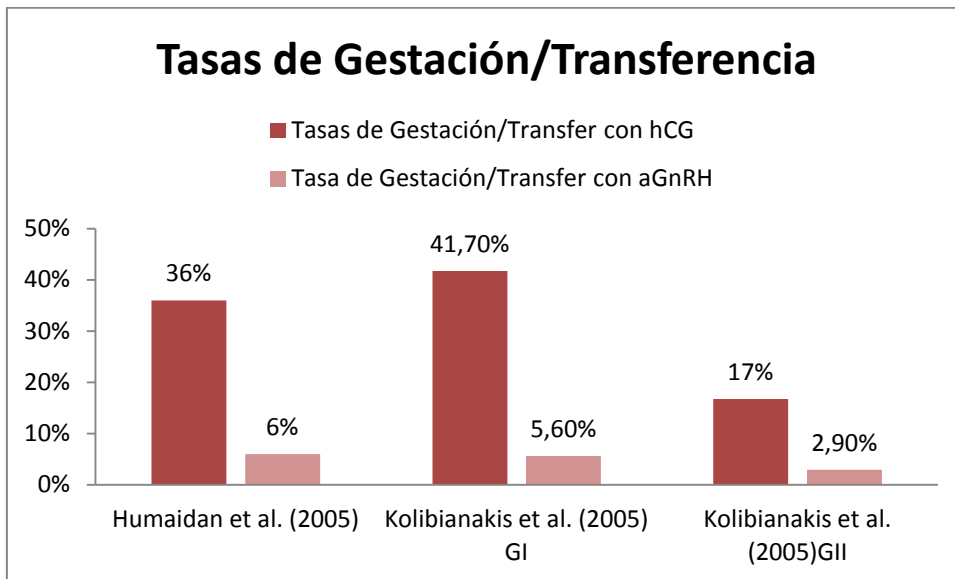


Figura 12. Tasas de Gestación/Transferencia en estudios previos en pacientes

Hay que destacar además, que en los estudios llevados a cabo en programas de donación de ovocitos, es decir, los de Galindo *et al.* (2009), Sismanoglu *et al.* (2009), y Erb *et al.* (2010), en los grupos de pacientes tratadas con los agonistas de la GnRH para desencadenar la maduración final ovocitaria y la inducción de la ovulación, no se ha desarrollado ningún caso de Síndrome de Hiperestimulación Ovárica. Sin embargo, en los protocolos con hCG sí que se han detectado casos leves de SHO y algunos severos, como en el caso del estudio realizado por Galindo *et al.* (2009), donde en el grupo en el que se administraba hCG, se dieron 9 casos de SHO leves y uno severo; o el de Sismanoglu *et al.* (2009) donde hubo un 6,81% de pacientes que desarrollaron SHO. En el estudio observacional que se está analizando en este trabajo, no se ha diagnosticado ningún caso de SHO ni leve ni severo.

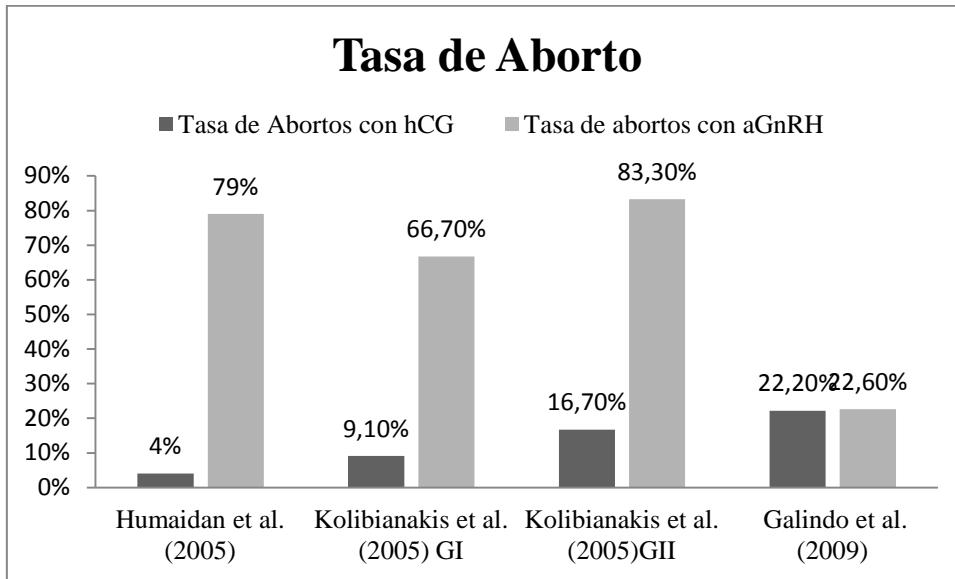


Figura 13. Tasa de Abortos en estudios previos

En resumen, los nuevos protocolos de estimulación ovárica con antagonistas de la GnRH, permiten el uso de agonistas de la GnRH para desencadenar la maduración final ovocitaria y la inducción de la ovulación. Los aGnRH son capaces de desencadenar un pico de LH y FSH endógeno, de características similares al que ocurriría de manera fisiológica en un ciclo natural, que es capaz de desencadenar la maduración final ovocitaria y la inducción de la ovulación, sin alterar las capacidades de los ovocitos para fertilizar, ni las de los embriones resultantes para dividirse, implantarse y producir una gestación. Y que además, es seguro para las pacientes, ya que se evita el desarrollo del SHO, al tener un efecto luteotrófico más suave, fisiológico y menos duradero, que el que tiene la hCG, y que es el desencadenante del SHO.

CONCLUSIONES

- 1) El uso del bolo de agonistas de la GnRH para desencadenar la maduración final ovocitaria y la inducción de la ovulación, en los protocolos de FIV con antagonistas de la GnRH en programas de ovodonación, es una buena alternativa al uso de hCG, ya que además de no afectar a la cantidad y calidad de los ovocitos.
- 2) Las tasas de fertilización, y la capacidad de los embriones para evolucionar, así como las tasas de implantación, gestación y abortos, tampoco se ven alteradas por el uso de los agonistas de la GnRH.
- 3) Los casos de Síndrome de Hiperestimulación Ovárica en donantes son inexistentes cuando se usa el bolo de agonistas de la GnRH para desencadenar la maduración final ovocitaria y la inducción de la ovulación en los protocolos de FIV con antagonistas de la GnRH.

Bibliografía

Anderesen, C. Yding, P. Humaidan, H. Bredkjaer Ejdrup, y et al. «Hormonal characteristics of follicular fluid from women receiving either GnRH agonist or hCG for ovulation induction.» *Human Reproduction*, 2006: 21(8):2126-2130.

Beckers, Nicole G.M., Nicholas S. Macklon, Marinus J. Eijkemans, y et al. «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 IVF...» *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 2003: 88(9):4186-4192.

Buffet, NC, y P Bouchard. «The neuroendocrine regulation of the human ovarian cycle.» *Chronobiol Int*, 2001: 18(6):893-919.

Chillik, Claudio. «Agonistas y antagonistas de GnRH en reproducción asistida.» *Revista de Endocrinología Ginecología y Reproductiva*, 2002: 22-32.

Erb, Teresa M., Wendy Vitek, y and Anthony N.G. Wakim. «Gonadotropin-releasing hormone agonist or human chorionic gonadotropin for final oocyte maturation in an oocyte donor program.» *Fertility and Sterility*, 2010: 93(2):374-378.

Fauser, B.C., D. de Jong, F. Olivennes, y et al. «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.» *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 2002: 87(2):709-715.

Galindo, Anna, Daniel Bodri, Juan José Guillén, y et al. «Triggering with HCG or GnRH agonist in GnRH antagonist protocol treated oocyte donation cycles: a randomised clinical trial.» *Gynecological Endocrinology*, 2009: 5(1):60-66.

Griesinger, G., K. Diedrich, y P. Devroey and E.M. Kolibianakis. «GnRH agonist for triggering final oocyte maturation in the GnRH antagonist ovarian hyperstimulation protocol: a systematic review and meta-analysis.» *Human Reproduction*, 2006: 12(2):159-168.

Griesinger, G., S. von Otte, A. Schroer, y et al. «Elective cryopreservation of all pronuclear oocytes after GnRH agonist triggering of final oocyte maturation in patients at risk of developing OHSS: a prospective, observational proof-of-concept study.» *Human Reproduction*, 2007: 22(5):1348-1352.

Hayden, Catherine. «GnRH analogues: applications in assisted reproductive techniques.» *European Journal of Endocrinology* 159 (2008): 17-25.

Efecto del bolo de aGnRH en protocolos de FIV con antGnRH

Humaidan, P., H. Ejdrup Bredkjaer, L. Bungum, y et al. «GnRH agonist (busereli) or hCG for ovulation induction in GnRH antagonist IVF/ICSI cycles: a prospective randomized study.» *Human Reproduction*, 2005: 20(5):1213-1220.

J.Itszkovitz-Eldor, S.Kol and B.Mannaerts. «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...» *Human Reproduction*, 2000: 15:1965-1968.

Kolibianakis, E.M., A. Schultze-Mosgau, A. Schroer, y et al. «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*, 2005: 20(10):2887-2892.

Millar, Robert P., Zhi-liang Lu, y Adam J. Pawson et al. «Gonadotropin-Releasing Hormone Receptors.» *Endocrine Reviews*, 2004: 25(2):235-275.

R.Ron-El, A.Raziel, M.Schachter, D.Strassburger, E.Kasterstein, y S.Friedler. «Induction of ovulation after GnRH antagonists.» *Human Reproduction*, 2000: 6:318-321.

Sismanoglu, A., H.I. Tekin, H.F. Erden, y et al. «Ovulation triggering with GnRH agonist vs. hCG in the same egg donor population undergoing donor oocyte cycles with gnRH antagonist: a prospective randomized cross-over trial.» *Assisted Reproduction*, 2009: 26:251-256.

Tarlatzis, B.C., B.C. Fauser, E.M. Kolibianakis, y et al. «GnRH antagonists in ovarian stimulation for IVF.» *Human Reproduction*, 2006: 12(4):333-340.

Tulppala, Maija, Milla Aho, Timo Tuuri, Sirpa Vilska, y Tuija Foudila et al. «Comparison of two recombinant follicle-stimulating hormone preparations in vitro fertilization: a randomized clinical study.» *Human Reproduction*, 1999: 14:2709-2715.

Wiesak, Teresa. «Role of LH in controlled ovarian stimulation.» *Reproductive Biology*, 2003: 2:215-227.

