

UNIVERSITAT
DE VALÈNCIA [UVA]

FACULTAD DE MEDICINA Y ODONTOLOGÍA

DEPARTAMENTO DE PEDIATRÍA, OBSTETRICIA Y GINECOLOGÍA

PROGRAMA DE DOCTORADO: 290F. OBSTETRICIA Y GINECOLOGÍA



**“USO DE ANTAGONISTAS DE LA HORMONA LIBERADORA DE
GONADOTROFINAS (GnRH) EN LA PREPARACIÓN ENDOMETRIAL DE
LAS RECEPTORAS DE OVOCITOS”**

TESIS DOCTORAL presentada por:

Patricia Cañete San Pastor, Licenciada en Medicina

Valencia, 2015

VNIVERSITAT
ID VALÈNCIA (ò 人)

FACULTAD DE MEDICINA Y ODONTOLOGÍA
PROGRAMA DE DOCTORADO: 290F. OBSTETRICIA Y GINECOLOGÍA.



**“USO DE ANTAGONISTAS DE LA HORMONA LIBERADORA DE
GONADOTROFINAS (GnRH) EN LA PREPARACIÓN ENDOMETRIAL DE
LAS RECEPTORAS DE OVOCITOS”**

TESIS DOCTORAL presentada por:

Patricia Cañete San Pastor, Licenciada en Medicina

Director de tesis:

Prof. Antonio Pellicer Martínez

Co-Directores:

Dra. M^a del Carmen Vidal Martínez

Dra. M^a Pilar Alamá Faubel

Valencia, 2015

Antonio Pellicer Martínez, Catedrático del Departamento de Pediatría, Obstetricia y Ginecología de la Facultad de Medicina de la Universidad de Valencia.

CERTIFICA:

Que el trabajo titulado: "*Uso de antagonistas de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) en la preparación endometrial de receptoras de ovocitos.*" ha sido realizado íntegramente por Dña. Patricia Cañete San Pastor bajo mi supervisión. Dicho trabajo está concluido y reúne todos los requisitos para su presentación y defensa como TESIS DOCTORAL ante un tribunal.

Y para que conste así a los efectos oportunos, firmamos la presenta certificación en Valencia a 11 de mayo de 2015.


Fdo. Antonio Pellicer Martínez

M^a del Carmen Vidal Martínez, Doctora en Medicina, ginecóloga del Instituto Valenciano de Infertilidad de Valencia (IVI)

CERTIFICA:

Que el trabajo titulado: "*Uso de antagonistas de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) en la preparación endometrial de receptoras de ovocitos.*" ha sido realizado íntegramente por Dña. Patricia Cañete San Pastor bajo mi supervisión. Dicho trabajo está concluido y reúne todos los requisitos para su presentación y defensa como TESIS DOCTORAL ante un tribunal.

Y para que conste así a los efectos oportunos, firmamos la presenta certificación en Valencia a 11 de mayo de 2015.

A handwritten signature in blue ink, appearing to be 'Carmen Vidal Martínez', written in a cursive style.

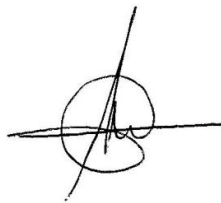
Fdo. M^a del Carmen Vidal Martínez

M^a Pilar Alamá Faubel, Doctora en Medicina, ginecóloga del Instituto Valenciano de Infertilidad de Valencia (IVI)

CERTIFICA:

Que el trabajo titulado: "*Uso de antagonistas de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) en la preparación endometrial de receptoras de ovocitos.*" ha sido realizado íntegramente por Dña. Patricia Cañete San Pastor bajo mi supervisión. Dicho trabajo está concluido y reúne todos los requisitos para su presentación y defensa como TESIS DOCTORAL ante un tribunal.

Y para que conste así a los efectos oportunos, firmamos la presenta certificación en Valencia a 11 de mayo de 2015.



Fdo. M^a Pilar Alamá Faubel

A mi madre.

"Siempre parece imposible hasta que se hace."

Nelson Mandela

AGRADECIMIENTOS.

A Antonio Pellicer, un referente a seguir y la figura clave en mis inicios en la ginecología. Gracias por tus consejos, por tu saber infinito, y por transmitirme esa ilusión por la labor investigadora.

A Carmina Vidal, que ha hecho posible esta tesis y a quién debo mi más sincero agradecimiento por su apoyo, tiempo y paciencia.

A Pilar Alamá, que me ha demostrado una vez más que puedo contar con ella siempre que quiera, y que es garantía de éxito y eficiencia.

A Ester Ortiz, compañera de batalla y amiga incondicional. Sobran las palabras entre nosotras.

A todos mis compañeros del hospital Peset, que más que compañeros son una familia, y hacen que trabajar sea un placer. Gracias por todo lo que me enseñáis cada día acerca de la vida y de la ciencia.

A Víctor, que me ha animado a concluir la tesis y a cerrar este capítulo de mi vida, por su interés y sus muestras de apoyo.

A todas las pacientes que han formado parte del estudio de manera desinteresada, permitiéndonos que a través de ellas, podamos aprender un poco más.

A mis hermanos, que son lo mejor que me han dado mis padres y a los que admiro enormemente. Estoy muy orgullosa de todos vosotros. Sois los mejores amigos que tengo.

A mis padres, apoyo incondicional y pilar fundamental en mi vida, a ellos les debo quién soy y donde estoy. Nunca os estaré lo suficientemente agradecida.

A mis hijas, Carlota y Elena, que me hacen sonreír cada mañana y que han hecho que cambien mis prioridades en la vida. Ellas me han enseñado lo poco

que hace falta para SER FELIZ. Mis disculpas por restaros tiempo a costa de pasar horas cara al ordenador para poder hacer realidad este proyecto. Gracias por permitirme hacerlo. Os quiero mucho.

A Sergio, mi marido, fundamental en toda esta aventura de la tesis e imprescindible en mi día a día. Gracias por creer en mí más que yo misma. Compañero de viaje con el que comparto risas y llantos, y sin el que mi vida no tendría sentido.

Y por fin llegó el momento, la tesis está finalizada. Con las hormonas revolucionadas y horas de sueño de menos, y entre embarazos y pañales, hemos conseguido hacer realidad este proyecto. Mi más sincero agradecimiento a todos los que durante estos años me han apoyado y ayudado en este sueño que hoy por fin he logrado.

ÍNDICE

| | |
|--|-----------|
| I. INTRODUCCIÓN..... | 31 |
| 1. INTRODUCCIÓN..... | 33 |
| 2. TÉCNICAS DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA..... | 35 |
| a) DONACIÓN DE OVOCITOS..... | 36 |
| 1. ANTECEDENTES Y DEFINICIÓN..... | 36 |
| 2. INDICACIONES DE LA DONACIÓN DE OVOCITOS..... | 37 |
| 3. PROGRAMA DE DONACIÓN OVOCITARIA..... | 40 |
| i. DONANTES DE OVOCITOS..... | 40 |
| ii. LEGISLACIÓN VIGENTE EN LA ACTUALIDAD..... | 40 |
| iii. CONTRATO DE DONACIÓN..... | 40 |
| iv. SELECCIÓN DE LA DONANTE..... | 42 |
| v. PREPARACIÓN ENDOMETRIAL EN RECEPTORAS.... | 42 |
| 3. PROTOCOLOS DE PREPARACIÓN ENDOMETRIAL..... | 43 |
| a) TIPOS DE PROTOCOLO..... | 43 |
| 1. Ciclo natural..... | 43 |
| 2. Ciclo estimulado..... | 44 |
| 3. Ciclo sustituido o ciclo artificial..... | 44 |
| b) USO DE ANÁLOGOS GnRH EN LA SUPRESIÓN HIPOFISARIA..... | 46 |
| 1. Evidencias actuales..... | 46 |
| 2. Opciones terapéuticas para supresión de la función ovárica mediante supresión hipofisaria..... | 48 |
| c) TRATAMIENTO SUSTITUTIVO O DE REEMPLAZO HORMONAL (TRH)..... | 51 |
| 1. Estrogenoterapia..... | 51 |
| i. Tipos, pautas y vías de administración..... | 51 |
| ii. Duración de la fase estrogénica..... | 53 |

Indice

| | |
|---|----|
| 2. Soporte de fase lútea con progesterona..... | 54 |
| 3. preparación endometrial..... | 55 |
| i. Controles durante la fase estrogénica..... | 55 |
| ii. Sangrado durante la fase estrogénica..... | 56 |
| 4. SINCRONIZACIÓN DONANTE-RECEPTORA..... | 58 |
| a) COORDINACIÓN DEL CICLO..... | 60 |
| 1. Donante..... | 60 |
| 2. Receptora..... | 61 |
| 5. CONOCIMIENTOS EXTRAÍDOS DE LA DONACIÓN DE OVOCITOS..... | 62 |
| a) PROCESO DE IMPLANTACIÓN..... | 62 |
| Factores que influyen sobre la implantación: | |
| 1. EDAD DE LA RECEPTORA..... | 63 |
| 2. ÍNDICE DE MASA CORPORAL (IMC)..... | 64 |
| 3. TABAQUISMO..... | 65 |
| 4. HIDROSÁLPINX..... | 67 |
| 5. ENDOMETRIOSIS..... | 69 |
| 6. ADENOMIOSIS..... | 70 |
| 7. PARÁMETROS SOBRE LA PREPARACIÓN ENDOMETRIAL.. | 71 |
| i. Grosor endometrial..... | 72 |
| ii. Patrón endometrial mediante técnicas de imagen... | 73 |
| iii. Niveles séricos de estradiol durante la preparación endometrial..... | 74 |
| iv. Duración de la preparación endometrial con estrógenos exógenos..... | 75 |
| v. Protocolo de preparación endometrial..... | 76 |
| vi. Supresión hipofisaria para la preparación endometrial..... | 78 |
| b) CONSIDERACIONES PSICOSOCIALES..... | 84 |
| 6. ANÁLOGOS DE LA HORMONA LIBERADORA DE GONADOTROFINAS..... | 85 |
| a) HORMONA LIBERADORA DE GONADOTROFINAS O GnRH..... | 85 |

| | |
|--|-----|
| b) SECRECIÓN DE LA GnRH..... | 88 |
| c) RECEPTORES DE LA GnRH..... | 90 |
| d) ANÁLOGOS DE LA GnRH..... | 92 |
| 1. Agonistas de la GnRH..... | 92 |
| 2. Antagonistas de la GnRH..... | 92 |
| e) INDICACIONES EN TRATAMIENTOS DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA..... | 97 |
| 1. ESTIMULACIÓN OVÁRICA CONTROLADA (EOC)..... | 97 |
| i. Uso de a-GnRH en EOC para inseminación artificial (IA)..... | 97 |
| ii. Uso de a-GnRH en EOC para fecundación in vitro-inyección intracitoplasmática (FIV-ICSI)..... | 98 |
| i) Uso de agonistas GnRH en EOC para FIV-ICSI..... | 98 |
| ii) Uso de antagonistas GnRH (ant-GnRH) en EOC para FIV-ICSI..... | 99 |
| iii. Evidencias actuales..... | 99 |
| i) Eficacia de los ciclos de FIV con ag-GnRH frente a ciclos sin ag-GnRH..... | 99 |
| ii) Protocolo largo con ag-GnRH frente a corto y ultracorto..... | 100 |
| iii) Protocolos con a-GnRH: preparados de depósito frente a preparados de uso diario..... | 100 |
| iv) Uso de ant-GnRH..... | 100 |
| v) Administración de dosis única de ant-GnRH frente a dosis múltiple..... | 100 |
| vi) Pauta de inicio fija o flexible..... | 101 |
| 2. PREPARACIÓN ENDOMETRIAL EN RECEPTORAS DE OVOCITOS..... | 101 |
| i. Evidencias sobre ag-GnRH en donación ovocitaria.. | 102 |

| | |
|---|------------|
| ii. Evidencias sobre ant-GnRH en donación ovocitaria..... | 103 |
| 3. OTRAS INDICACIONES DE LOS ANÁLOGOS DE LA GnRH..... | 105 |
| II. HIPÓTESIS..... | 107 |
| III. OBJETIVOS..... | 111 |
| 1. OBJETIVO PRINCIPAL..... | 113 |
| 2. OBJETIVOS SECUNDARIOS..... | 113 |
| IV. MATERIAL Y MÉTODOS..... | 115 |
| 1. DISEÑO DEL ESTUDIO | 117 |
| 2. SUJETOS..... | 117 |
| 3. CRITERIOS DE INCLUSIÓN..... | 118 |
| 4. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN..... | 118 |
| 5. MUESTRA..... | 119 |
| 6. ESTIMULACIÓN DE DONANTES DE OVOCITOS..... | 120 |
| a) EXPLORACIÓN DE LAS DONANTES..... | 120 |
| b) ORGANIGRAMA DE TRABAJO..... | 121 |
| 7. TRATAMIENTO EN LAS RECEPTORAS DE OVOCITOS..... | 124 |
| a) Preparación endometrial con antagonistas de la GnRH..... | 124 |
| b) Preparación endometrial con agonistas de la GnRH..... | 126 |
| c) Seguimiento..... | 127 |
| d) Donación de ovocitos..... | 128 |
| 8. MEDICACIÓN EMPLEADA EN EL ESTUDIO..... | 128 |
| 9. EFECTOS ADVERSOS..... | 129 |
| 10. CUMPLIMIENTO Y ABANDONO..... | 129 |
| 11. METODOLOGÍA ESTADÍSTICA..... | 129 |
| 12. COMITÉ ÉTICO Y LEY DE PROTECCIÓN DE DATOS..... | 130 |
| 13. RECOGIDA DE DATOS Y FORMATO UTILIZADO..... | 131 |
| V. RESULTADOS..... | 133 |
| 1. CARACTERÍSTICAS DE LAS PACIENTES Y DE LOS GRUPOS DE TRATAMIENTO..... | 135 |

| | | |
|--------------|--|------------|
| 2. | CANCELACIÓN DE CICLOS..... | 138 |
| | a) Grupo ant-GnRH..... | 139 |
| | b) Grupo ag-GnRH..... | 139 |
| 3. | CARACTERÍSTICAS DE LOS CICLOS Y RESULTADOS CLÍNICOS..... | 140 |
| 4. | REACCIONES ADVERSAS..... | 152 |
| VI. | DISCUSIÓN..... | 153 |
| VII. | CONCLUSIONES..... | 167 |
| VIII. | BIBLIOGRAFÍA..... | 171 |

ÍNDICE DE FIGURAS

- FIGURA 1: Esquema representando el proceso de donación ovocitaria.
- FIGURA 2: Gráfico que muestra los porcentajes de las causas actuales de donación de ovocitos.
- FIGURA 3: Esquema terapia de reemplazo hormonal (pauta variable valerianato de estradiol) con ag-GnRH previos.
- FIGURA 4: Esquema terapia de reemplazo hormonal (pauta fija VE) sin ag-GnRH previos.
- FIGURA 5: Esquema terapia de reemplazo hormonal (pauta fija VE) sin ag-GnRH previos, con ant-GnRH.
- FIGURA 6: Relación entre el uso de ag-GnRH previos a la preparación endometrial, la edad, el grosor endometrial y los niveles de estradiol sérico con la tasa de cancelación por sangrado.
- FIGURA 7: Representación de la OR e IC para lograr embarazo con el uso de análogos de la GnRH frente a la no utilización en diferentes estudios analizados.
- FIGURA 8: Representación del eje hipotálamo hipofisario.
- FIGURA 9: Representación del mecanismo de acción de los ag-GnRH vs los ant-GnRH.
- FIGURA 10: Representación del protocolo de preparación endometrial con ant-GnRH.
- FIGURA 11: Representación del protocolo de preparación endometrial con ag-GnRH.
- FIGURA 12: Diagrama de flujo de las pacientes incluidas en el estudio.

ÍNDICE DE TABLAS

- TABLA 1: Resultados del programa de ovocitos durante el año 2014 en el grupo IVI.
- TABLA 2: Tabla que representa como influyen diferentes factores clínicos en la receptividad endometrial en la donación de ovocitos.
- TABLA 3: Tabla que representa como afecta a la tasa de embarazos diferentes parámetros relacionados con la preparación endometrial.
- TABLA 4: Secuencia de aminoácido de los dos subtipos de GnRH naturales.
- TABLA 5: Agonistas de la GnRH de uso clínico, con los cambios en los aminoácidos pertinentes respecto a la estructura original de la GnRH.
- TABLA 6: Tabla resumen de las características principales de los ant-GnRH y los ag-GnRH.
- TABLA 7: Edad e IMC de las mujeres receptoras y donantes de ovocitos en ambos grupos de tratamiento.
- TABLA 8: Indicaciones por las que las pacientes del estudio fueron sometidas a donación de ovocitos.
- TABLA 9: Características de los ciclos (grosor y patrón endometrial, niveles de estradiol y días hasta la transferencia embrionaria) en los dos grupos de tratamiento.
- TABLA 10: Características de los ciclos y resultados clínicos en las pacientes receptoras de donación de ovocitos aleatorizadas a ambos grupos.

Indice

- TABLA 11: Resultados en cuanto a embriones y transferencias embrionarias en función del estadio embrionario en el que se realizó la transferencia embrionaria en cada uno de los grupos de tratamiento.
- TABLA 12: Resultados obtenidos por paciente aleatorizado en cada uno de los grupos.
- TABLA 13: Resultados obtenidos por tratamiento recibido en cada uno de los grupos.
- TABLA 14: Resultados obtenidos por transferencia embrionaria en cada uno de los grupos.
- TABLA 15: Estadística de resultados reproductivos estratificada por estadio celular en el momento de la transferencia embrionaria.

LISTA DE SÍMBOLOS, ABREVIATURAS Y SIGLAS

a: años.

a-GnRH: análogos de la hormona liberadora de gonadotrofinas.

ag-GnRH: agonistas de la hormona liberadora de gonadotrofinas.

ant-GnRH: antagonistas de la hormona liberadora de gonadotrofinas.

β -hCG: β -gonadotrofina coriónica humana.

cm: centímetros.

depot: liberación en depósito.

DPI: diagnóstico preimplantacional.

E₁: estrona.

E₂: estradiol.

E₃: estriol.

EGF: factor de crecimiento epidérmico.

EOC: estimulación ovárica controlada.

FIV: fecundación in vitro.

FISH: hibridación in situ con fluorescencia.

FOP: fallo ovárico precoz.

FSH: hormona folículo estimulante.

GnRH: hormona liberadora de gonadotrofinas.

HOC: hiperestimulación ovárica controlada.

Índice

IA: inseminación artificial.

IC: intervalo de confianza.

ICSI: inyección intracitoplasmática de espermatozoides.

im: intramuscular.

in: intranasal.

iTRAQ: análisis por marcaje isobárico diferencial.

IVI: instituto valenciano de infertilidad.

LH: hormona luteinizante.

mm: milímetros.

µg: microgramos.

OR: odds ratio.

ODaj: odds ratio ajustada.

RMN: resonancia magnética nuclear.

sc: subcutáneo.

SHO: síndrome de hiperestimulación ovárica.

Tasa de RNV: tasa de recién nacidos vivos.

TGE: tasa de gestación evolutiva.

THS: terapia hormonal sustitutiva.

TRA: tratamientos de reproducción asistida.

TRH: terapia de reemplazo hormonal.

US: ultrasonografía.

VE: valerianato de estradiol.

VHB: virus hepatitis B.

VHC: virus hepatitis C.

VIH: virus inmunodeficiencia humana.

2D: bidimensional.

3D: tridimensional.

I. INTRODUCCIÓN.

1. INTRODUCCIÓN.

La **ESTERILIDAD** es la incapacidad de una pareja de concebir, tras un año de intentos, con un adecuado número de relaciones sexuales (2-3/semana), sin anticoncepción. Se acepta esta definición para mujeres menores de 30 años, ya que no está indicado empezar a hacer pruebas y estudios hasta que no se haya cumplido el año de búsqueda de embarazo.

En general, la especie humana posee una baja tasa de fecundidad, no superior al 30% mensual en una pareja menor de 30 años. Se asume que del total de población en edad fértil, un 80% logrará la gestación en el plazo de los primeros 12 meses y cerca de un 85% en 18 meses. Por ello, mientras la American Society for Reproductive Medicine (ASRM), la Sociedad Española de Fertilidad (SEF) y la Sociedad española de Obstetricia y Ginecología (SEGO) consideran estéril a aquella pareja que no consigue un embarazo después de un año de coitos normales sin protección anticonceptiva, otras sociedades científicas como la Federación Internacional de Ginecología y Obstetricia (FIGO), la Sociedad Europea de Embriología y Reproducción Humana (ESHRE) o la Organización Mundial de la Salud (OMS), consideran que tienen que haber transcurrido al menos 24 meses de relaciones sexuales regulares con finalidad procreadora (Bruna et al, 2009).

En general se puede afirmar que la imposibilidad de concebir tras un año de relaciones sexuales sin protección debe ser motivo para iniciar un estudio.

Dado que la edad de la mujer es un determinante de su capacidad genésica, en mujeres mayores de 35 años el estudio estará indicado si no han logrado la gestación al cabo de seis meses (Bruna et al, 2009). Otras circunstancias individuales pueden hacernos adelantar el estudio; tal sería el caso de mujeres con ciclos menstruales irregulares y/o periodos de amenorreas secundaria, antecedentes de cirugía pélvica previa (sospecha fundada de patología uterina,

patología tubárica o endometriosis) o de varones con riesgo de subfertilidad (González et al, 2008).

Dentro de la esterilidad se diferencia entre:

- a) Esterilidad primaria, cuando la mujer nunca ha quedado gestante previamente.
- b) Esterilidad secundaria, cuando la mujer no consigue quedar gestante tras haber tenido alguna gestación previa independientemente que haya finalizado o no con éxito.

Distinguimos esterilidad del término **infertilidad**, que hace referencia a la incapacidad de una pareja de tener recién nacidos a término tras conseguir quedar gestante. La mujer en este caso puede sufrir abortos, partos prematuros, embarazos ectópicos...

También se diferencia entre:

- a) Infertilidad primaria, cuando la mujer embaraza de forma espontánea en dos o más ocasiones, pero existe una imposibilidad de llevar este embarazo a término y conseguir un recién nacido normal.
- b) Infertilidad secundaria, cuando la mujer ha tenido algún hijo sano y posteriormente 2 o más abortos, sin conseguir un recién nacido vivo.

Aunque los estudios epidemiológicos sobre la esterilidad son difíciles de llevar a cabo, la prevalencia de la esterilidad se sitúa alrededor del 14%. Esta cifra supone que alrededor de una de cada siete parejas en edad reproductiva presentará dificultades para tener descendencia. Pero estos dos términos de esterilidad e infertilidad no son conceptos estáticos, sino dinámicos, ya que existen subinfertilidades o subesterilidades, y muchas parejas pueden presentar problemas ocasionales de esterilidad.

2. TÉCNICAS DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA.

Las técnicas de reproducción asistida (TRA) abarcan todas las técnicas que implican la manipulación directa de los gametos fuera del cuerpo. La primera forma de TRA, y todavía la más frecuente es la fecundación in vitro (FIV) (Steptoe y Edwards, 1978), pero existen otras muchas técnicas relacionadas (Speroff y Fritz, 2006). Las distintas TRA que, en el curso del tiempo, han ido surgiendo en torno a la misma representan en la actualidad, el arsenal terapéutico más importante en el manejo clínico del deseo reproductivo naturalmente no realizable.

El primer nacimiento como consecuencia de una gestación ocurrida tras la transferencia de un embrión obtenido mediante FIV tuvo lugar en 1978, hace menos de 40 años (Steptoe y Edwards, 1978). Actualmente, los nacidos mediante la aplicación de estas técnicas representan en España aproximadamente un 3%, un porcentaje en absoluto despreciable (EFE, 2012). Ello es debido no sólo a los avances científicos que se han ido produciendo, sino también a determinados cambios sociales. Entre ellos se encuentran:

- El cambio del papel de la mujer en la sociedad y de sus aspiraciones: postergación del matrimonio, retraso en la búsqueda del primer hijo y mayor edad en el primer embarazo, mayor uso de la anticoncepción, legalización del aborto con mayor cantidad de problemas para quedar gestantes en muchas de las mujeres que abortan.
- El medio ambiente que nos rodea actualmente, y la presencia de tóxicos como tabaco, alcohol, etc., que pueden ser causa de la disminución de la fertilidad.
- Una situación económica desfavorable.
- La reproducción de personas previamente esterilizadas, la relacionada con mujeres sin pareja reproductora y la de parejas homosexuales (Romeu et al, 2009).

a) DONACIÓN DE OVOCITOS.

1. ANTECEDENTES Y DEFINICIÓN.

La donación de ovocitos es aquella técnica de reproducción asistida en la cual el gameto femenino es aportado por una mujer distinta de la que recibirá éste o el embrión resultante (Remohí et al, 1997)(Soares et al, 2007).

En 1984, se comunicó el primer embarazo con éxito obtenido mediante donación de ovocitos y FIV en una mujer con fallo ovárico (Lutjen et al, 1984). La donación de ovocitos está actualmente bien establecida como método de reproducción asistida y ofrece la oportunidad única de tratar a pacientes con diferentes entidades clínicas, tanto con función ovárica como sin ella.

Las tasas de gestación conseguidas mediante esta técnica son las más elevadas si se comparan con las de cualquier otro tipo de procedimiento (Budak et al, 2007). Su difusión ha crecido paulatinamente debido a sus excelentes resultados, así como al amplio abanico de indicaciones que incluye. En la tabla 1 se presentan los resultados obtenidos a partir de donación de ovocitos durante el año 2014 por el grupo IVI (Instituto Valenciano de Infertilidad).

TABLA 1: Resultados del programa de ovocitos durante el año 2014 en el grupo IVI.

| RESULTADOS DEL PROGRAMA DE DONACIÓN DE OVOCITOS DURANTE EL AÑO 2014 DEL GRUPO IVI | |
|---|------|
| Ciclos totales iniciados (n) | 6057 |
| Ciclos con transferencia (n) | 5394 |
| Nº embarazos (n) | 3716 |
| Tasa de embarazo por transferencia (%) | 68.9 |
| Tasa implantación por embrión transferido (%) | 49.1 |
| Tasa de gestaciones gemelares (%) | 33.9 |

2. INDICACIONES DE LA DONACIÓN DE OVOCITOS.

Las indicaciones generales de la donación de ovocitos incluyen a dos tipos de pacientes distintas, que son mujeres sin función ovárica y mujeres con ella (Soares, 2007) (Trouson A, 1983) (Devroey P, 1988) (Rosenwaks, 1987):

1) Mujeres sin función ovárica:

- i) Fallo ovárico primario: disgenesias gonadales puras, síndrome de Turner, síndrome de Swyer, síndrome de Savage.
- ii) Fallo ovárico precoz (FOP): yatrogénico, autoinmune, metabólico, infeccioso.
- iii) Menopausia.

2) Mujeres con función ovárica:

- i) Alteraciones genéticas o cromosómicas.
- ii) Fallos repetidos en fecundación in vitro/microinyección espermática (FIV/ICSI): baja respuesta a la hiperestimulación

Introducción

ovárica controlada (HOC), mala calidad ovocitaria, fallo de fecundación, fallo de implantación.

- iii) Mujeres mayores de 40 años con ciclo menstrual conservado.
- iv) Aborto de repetición.
- v) Ovarios inaccesibles para la captación ovocitaria en FIV.

La donación de ovocitos se logra actualmente de forma habitual mediante FIV utilizando ovocitos de donantes jóvenes y sanas que se someten a una estimulación ovárica controlada (EOC) para obtener ovocitos. Éstos se unen a los espermatozoides de la pareja masculina de la receptora. Los embriones resultantes se transfieren al útero de la receptora (Speroff y Fritz, 2006).

En el Instituto Valenciano de Infertilidad (IVI), la indicación más frecuente de donación de ovocitos es la edad de la paciente, seguida del antecedente de baja respuesta a los tratamientos de reproducción y del fallo ovárico prematuro (FOP). La distribución total de las indicaciones se representa a continuación (Soares et al, 2007).

FIGURA 1: Esquema representando el proceso de donación ovocitaria.

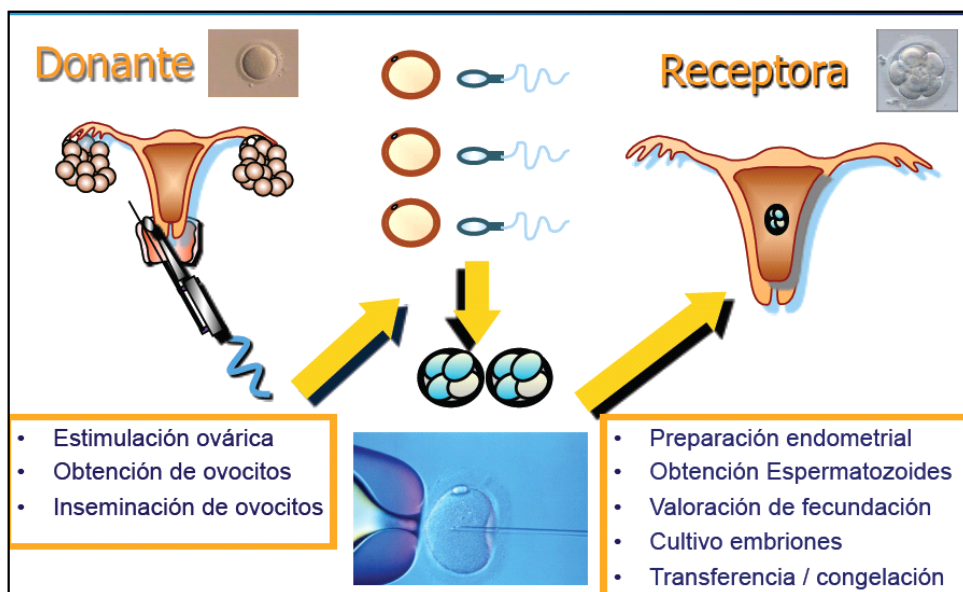
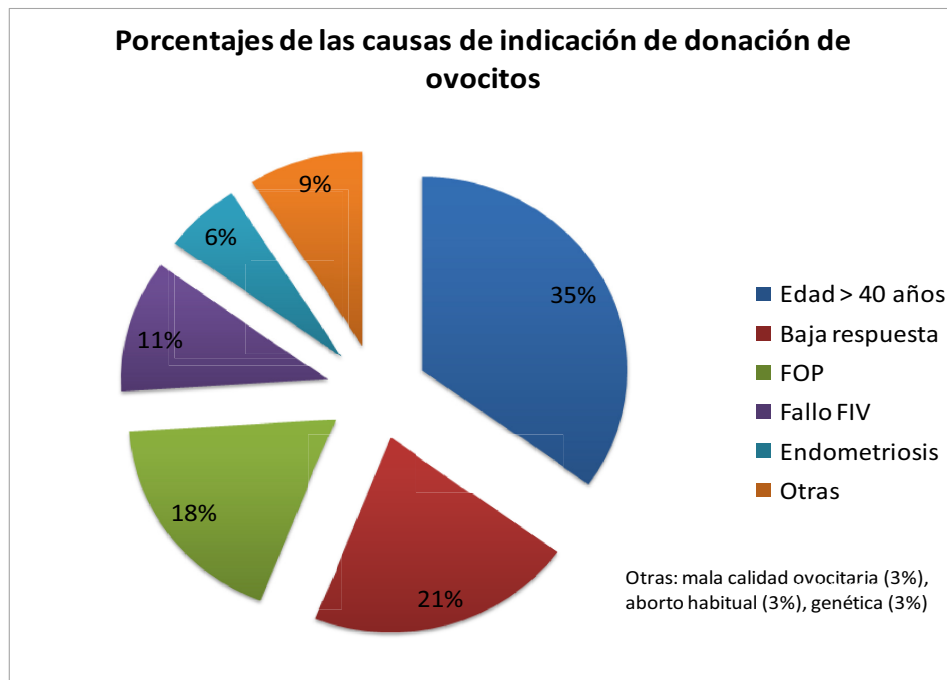


FIGURA 2: Gráfico que muestra los porcentajes de las causas actuales de donación de ovocitos (Soares et al, 2007).



3. PROGRAMA DE DONACIÓN OVOCITARIA.

Para asegurar el éxito del programa de donación hay que considerar todos los componentes que intervienen:

- Las donantes de óvulos, que se someten a una estimulación ovárica controlada (EOC) para obtener los ovocitos.
- La donación, que consiste en inseminar los óvulos de las donantes mediante FIV/ICSI con el semen de su pareja (o de un donante de semen) para obtener los embriones.
- La transferencia embrionaria de los embriones resultantes en la mujer receptora.
- La preparación endometrial de la receptora: hasta que tiene lugar la transferencia embrionaria, la receptora realiza en la mayoría de los casos un tratamiento sustitutivo con estrogenoterapia para conseguir un endometrio adecuado (ver capítulo sobre preparación endometrial).

i. DONANTES DE OVOCITOS.

La donación de ovocitos ya la hemos definido previamente como aquella técnica de reproducción asistida en la cual el gameto femenino es aportado por una mujer distinta de la que recibirá éste o el embrión resultante (Alamá et al, 2012). En el proceso de donación de ovocitos se distinguen dos personajes fundamentales:

1. Donante: mujer a la que se realiza una EOC.

2. Receptora: mujer que recibirá o a la que le serán transferidos los embriones resultantes del FIV con los ovocitos de la donante y llevará a término la gestación.

ii. LEGISLACIÓN VIGENTE EN LA ACTUALIDAD.

Dentro del marco legal actual por el que se rigen actualmente en España las técnicas de reproducción asistida en general, y la donación de ovocitos en particular, deberemos mencionar el Real Decreto (RD) 412/1996 y el Real Decreto 1301/2006 (Real Decreto 1301/2006), así como la Ley 14/2006 sobre Técnicas de Reproducción Humana Asistida (LRHA) (Ley 14/2006, de 26 de Mayo, sobre Técnicas de Reproducción Humana Asistida, 2006).

Así, el Real decreto 1301 de 2006 (Real Decreto 1301/2006) establece las «normas de calidad y seguridad para la donación, la obtención, la evaluación, el procesamiento, la preservación, el almacenamiento y la distribución de células y tejidos humanos» y se aprueban las normas de coordinación y funcionamiento para su uso en humanos.

iii. CONTRATO DE DONACIÓN.

En el artículo 5 de la Ley 14/2006 sobre Técnicas de Reproducción Humana Asistida (LRHA), que es la que regula las técnicas de reproducción asistida, se habla acerca de las donantes y los contratos de donación ovocitaria. No hay una norma concreta al respecto de la donación de ovocitos, pero esta Ley es la

primera que ha regulado la crioconservación de ovocitos con fines reproductivos. Veamos los puntos cruciales de esta ley (Ley 14/2006, de 26 de Mayo, sobre Técnicas de Reproducción Humana Asistida, 2006):

- La donación debe ser **anónima** y deberá garantizarse la confidencialidad de los datos de identidad de las donantes por los bancos de gametos, así como, en su caso, por los registros de donantes y de actividad de los centros que se constituyan
- La donación **nunca tendrá carácter lucrativo o comercial**, ya que se considera un acto voluntario, altruista y desinteresado, sin que pueda existir retribución económica para la misma, ni posibilidad de exigir precio alguno por los ovocitos donados. Aun así, en el año 1998, la Comisión Nacional de Reproducción Humana Asistida consideró que la existencia de molestias en desplazamientos y pérdidas de tiempos justifican una compensación económica sin vulnerar el principio de gratuidad.
- Los hijos nacidos tienen derecho por sí o por sus representantes legales a obtener información general de los donantes que no incluya su identidad. Igual derecho corresponde a las receptoras de los gametos y de los preembriones.
- Sólo excepcionalmente, en circunstancias extraordinarias que comporten un peligro cierto para la vida o la salud del hijo o cuando proceda con arreglo a las Leyes procesales penales, podrá revelarse la identidad de los donantes, siempre que dicha revelación sea indispensable para evitar el peligro o para conseguir el fin legal propuesto. Dicha revelación tendrá carácter restringido y no implicará en ningún caso publicidad de la identidad de los donantes.

iv. SELECCIÓN DE LA DONANTE.

Las pruebas a realizar a las mujeres potencialmente donantes de ovocitos vienen reguladas básicamente por el Real Decreto (RD) 412/1996 y el Real Decreto 1301/2006.

- La edad de las donantes de ovocitos debe estar comprendida entre 18 y 35 años.
- Las donantes deben gozar de buen estado psicofísico y carecer de antecedentes personales o familiares de enfermedades de transmisión genética (vasculopatías, ceguera, artritis grave, diabetes juvenil), esquizofrenia, depresión, epilepsia, enfermedad de Alzheimer, alcoholismo, etc.
- Es también un criterio de inclusión el estudio negativo para enfermedades de transmisión sexual como el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), hepatitis B y C, y sífilis.
- Cariotipo sanguíneo genético.
- Asimismo, se deberá garantizar que la donante tenga la máxima similitud fenotípica e inmunológica (grupo sanguíneo y Rh) con la pareja receptora y su entorno familiar.

v. PREPARACIÓN ENDOMETRIAL EN RECEPTORAS.

El objetivo del tratamiento en la receptora de ovocitos es conseguir la maduración normal del endometrio para que sea posible la implantación del embrión y el mantenimiento de los estadios iniciales de la gestación. Donante y receptora de ovocitos deben sincronizarse, y el hacerlo en ciclo natural es complejo, por lo que se consigue mediante la preparación endometrial con estrogenoterapia (tratamiento sustitutivo o de reemplazo hormonal (TRH)). La preparación endometrial es imprescindible para conseguir el éxito de esta técnica, porque el endometrio de la receptora debe tener una receptividad óptima para llevar a cabo la implantación. Para ello es necesario administrar

estrógenos a fin de conseguir la proliferación endometrial, y a continuación añadir progesterona para producir la transformación secretora del endometrio (Navot et al, 1989) (Domingo et al, 2008).

Podemos distinguir dos tipos de receptoras dependiendo de su función ovárica:

- La mayoría de las **receptoras de ovocitos no tienen función ovárica**, por lo que deben someterse a un tratamiento de preparación endometrial (tratamiento sustitutivo o de reemplazo hormonal (TRH)) para lograr un endometrio adecuado en el que se pueda dar la implantación del embrión.
- En las **receptoras de ovocitos con función ovárica**, la transferencia embrionaria puede realizarse en un ciclo natural sin reemplazo hormonal, aunque de esta forma es más difícil lograr la sincronía con la donante. Además de la sincronización de ambas en ciclo natural, en las receptoras con función ovárica conservada también es posible lograr la sincronización mediante preparación endometrial con estrogoterapia (tratamiento sustitutivo o de reemplazo hormonal (TRH)), tras conseguir una supresión ovárica previa con análogos de la GnRH (a-GnRH) o anticoncepción hormonal.

3. PROTOCOLOS DE PREPARACIÓN ENDOMETRIAL.

a) TIPOS DE PROTOCOLOS (Vidal y Giles, 2012):

1. Ciclo natural.

El ciclo natural es aquel ciclo en que se aprovecha el ciclo ovárico de la mujer. El control del ciclo se realiza mediante foliculometría transvaginal. Cuando el folículo dominante alcanza los 17-22 mm de diámetro medio, se desencadena la ovulación con un bolo de gonadotropina coriónica humana (hCG). La suplementación de la fase lútea se realiza con progesterona desde el

día hCG +3. Asimismo, se puede realizar un control del pico de LH endógeno en orina, considerándose entonces el día teórico de la punción el día LH +2, y en función de ello programar la transferencia en día LH +5 si son embriones en estadio de células (día 3 de desarrollo) y en LH +7 si son blastocistos de día 5. Tiene el inconveniente de que puede haber un ciclo anovulatorio, con disfunción ovulatoria o con elevación prematura de la progesterona con ovulaciones prematuras lo cual puede llevar a cancelar el ciclo, y requiere controles ecográficos seriados (Busso et al, 2008).

La literatura actual acerca del ciclo natural se centra en ciclos FIV, existiendo pocas publicaciones sobre su aplicación en la donación de ovocitos. Pelinck y colaboradores publicaron una revisión de 20 estudios en ciclos FIV, con unas tasas de transferencia embrionaria del 45.5%, y de embarazos viables del 7.2% por ciclo iniciado, y 15.28% por transferencia embrionaria. En este estudio la tasa media de cancelación por ciclo iniciado fue del 28.9% (Pelinck et al, 2002), una tasa elevada. La misma autora, más recientemente publica unas tasas de embarazo por ciclo iniciado del 8.3%, y una tasa de embarazo acumulado del 20.8% después de hasta tres ciclos (Pelinck et al, 2006).

2. Ciclo estimulado.

El ciclo estimulado consiste en la administración de gonadotrofinas para conseguir desarrollo monofolicular y crecimiento del endometrio. La ovulación se induce posteriormente con hCG (Imthurn et al, 1996). Es útil en las pacientes anovuladoras y en pacientes con disfunción ovulatoria. La tasa de cancelación descrita es del 23 % (Wright et al, 2006).

3. Ciclo sustituido o ciclo artificial.

El ciclo artificial o de sustitución hormonal está indicado en pacientes sin función ovulatoria, en mujeres anovuladoras, pero también en pacientes con función ovárica. El ciclo sustituido se utiliza tanto para la preparación endometrial previa a la realización de una transferencia de embriones

congelados, como para la donación de ovocitos. Se realiza la administración de terapia estrogénica para la proliferación endometrial y tras alcanzar un endometrio adecuado para la transferencia, se inicia la suplementación con progesterona (Paulson, 2011). Se realizan controles ecográficos del endometrio y séricos de estradiol y, en ocasiones de progesterona. La duración de la fase proliferativa depende de si se trata de preparación endometrial para transferencia de embriones congelados o para la donación de ovocitos. La presencia de sangrado durante la fase de preparación depende, entre otras cosas, de la duración de la terapia estrogénica. En el caso de que se produzca un sangrado, se cancela el ciclo deprivando a la paciente durante cinco días y reiniciando la preparación endometrial. La tasa de cancelación descrita es del 23 % (Wright et al, 2006). Para evitar las cancelaciones por ovulación espontánea, que abrirían la ventana de implantación de manera prematura, se puede realizar una supresión hipofisaria con análogos de la GnRH (a-GnRH).

Los esquemas de dosificación de estrógenos pueden ser de dosis crecientes o de dosis mantenidas desde el inicio de la preparación endometrial como veremos más adelante, sin que existan diferencias en cuanto a tasas de gestación entre ambos protocolos. Aunque no se ha estudiado el efecto directo de los estrógenos sobre las capacidades morfológicas y funcionales del endometrio, parece que éste tolera la exposición a diferentes dosis de estradiol, y que los niveles fijos o variables de estrógenos, incluso en rangos suprafisiológicos, no influyen de forma negativa sobre la preparación endometrial (Younis et al, 1996).

La transferencia de embriones (tanto de embriones descongelados, como de embriones en fresco) se realiza o en estadio de células (tercer día de desarrollo embrionario), o bien en estadio de blastocisto. En caso de que se produzca el embarazo, según que grupos la progesterona se suspende al confirmar el embarazo con un test positivo de β -hCG, al confirmar el latido cardíaco fetal, o bien se mantiene el tratamiento con progesterona con las mismas dosis hasta la semana 12 de gestación, momento en el que se suspenderán la progesterona

y los estrógenos (Hill et al, 2013). Si bien, en estudios recientes parece innecesaria la continuación del tratamiento con progesterona más allá de la consecución de un test de β -hCG positivo (Liu et al, 2012). Es necesaria la realización de algún ensayo controlado aleatorizado que investigue la duración óptima de la administración de progesterona durante las primeras fases del embarazo en mujeres sometidas a FIV/ICSI.

b) USO DE ANÁLOGOS GnRH EN LA SUPRESIÓN HIPOFISARIA.

1. Evidencias actuales.

La supresión hipofisaria con ag-GnRH de depósito, es el método más utilizado en la actualidad para provocar una desensibilización hipofisaria o menopausia reversible (Devroey et al, 1998) debido a su simplicidad y fácil cumplimentación. Sin embargo, la persistencia innecesaria y la acción potencialmente desfavorable de los a-GnRH durante la fase lútea y gestación temprana, han cuestionado su uso (Dal Prato et al, 2004). Dos estudios han investigado la duración de la supresión hipofisaria de la triptorelina de depósito de administración intramuscular (im) (3,75 mg) versus (vs) triptorelina subcutánea (sc) (100 μ g) diaria (Porcu et al, 1994), y leuprorelina de depósito (im) (3,75 mg) vs busserelina sc (0,3 mg) dos veces al día (Porcu et al, 1995), respectivamente. El tiempo necesario para alcanzar la desensibilización fue el mismo en los casos de administración de depósito o im, que en los de administración diaria; pero por el contrario, la recuperación de la función hipofisaria comenzó 8 semanas después tras la inyección de las formas de depósito (tanto triptorelina como leuprorelina), mientras que con la administración diaria del ag-GnRH se observó una respuesta casi normal al test de GnRH a la semana de la finalización del ag-GnRH diario.

Algunos autores describen una tasa de implantación y gestación disminuida con el empleo de formas de liberación prolongada en los ciclos de estimulación ovárica para FIV, así como una tasa de aborto incrementada al compararla con

preparados de acción corta o diarios, probablemente debido a un endometrio inadecuado (Gonen et al, 1991) (Devreker et al, 1996). Los gametos y embriones preimplantacionales expresan GnRH y receptores de GnRH, RNA mensajero y proteínas, por lo que un déficit de su producción podría dificultar la implantación (Seshagiri et al, 1994) (Casañ et al, 2000).

En un estudio prospectivo publicado en 1998, se comparó la desensibilización, en la receptora de ovocitos en un programa de donación ovocitaria, con un preparado de liberación corta y dos de liberación prolongada, y se observó que se lograban resultados similares en tasas de gestación e implantación (Neuspiller et al, 1998). A partir de este estudio, algunos grupos infirieron que el uso de ag-GnRH de liberación prolongada podría no afectar al endometrio, y que el efecto deletéreo que se observaba en algunos estudios estaría directamente relacionado con su acción a nivel del ovario como otros autores habían sugerido (Gonen et al, 1991) (Devreker et al, 1996).

En el año 2001, se realizó una revisión retrospectiva en el IVI de los ciclos de donación ovocitaria desde Enero 1999 a Diciembre 2000, incluyendo mujeres con función ovárica tratadas con ag-GnRH de liberación prolongada. El tiempo transcurrido entre la inyección del a-GnRH y la transferencia embrionaria (mayor o menor de 40 días, considerando este periodo suficiente para la eliminación o "wash-out" del a-GnRH) se comparó con el resultado obtenido de la donación ovocitaria. Las pacientes se dividieron en dos grupos: grupo A (n=368) mujeres en las que la transferencia embrionaria se realizó antes de 40 días tras la inyección del a-GnRH de liberación prolongada, y grupo B (n=337) en las que la transferencia embrionaria se realizó pasados los 40 días tras la administración del a-GnRH de liberación prolongada. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la tasa de aborto, siendo mayor en el grupo bajo efecto del a-GnRH, es decir en el grupo A, transferido en menos de 40 días, vs las pacientes transferidas a partir de 40 días tras administración del a-GnRH (28% vs 15.7%, p=0,005). Estos datos sugirieron que mientras el a-GnRH ejercía su efecto, existía una mayor tasa de aborto (Vargas et al,

2001). Un comunicación a congreso en 2007, comparaba en ciclos de donación ovocitaria, la supresión hipofisaria con ag-GnRH depot vs diario, publicando mejores tasas de gestación e implantación en el grupo del ag-GnRH diario (65% vs 50% y 48.8% vs 36.1%) sin ser estadísticamente significativo. Asimismo obtuvieron unas tasas de aborto mucho mayores en el grupo del ag-GnRH depot (6.7% vs 40%) (Tocino et al, 2007).

Otros autores obtuvieron resultados discordantes al comparar ciclos de donación de ovocitos con ag-GnRH de liberación corta vs prolongada, obteniéndose mejores tasas de gestación e implantación con el uso de los de larga duración (30.6 y 17.7% en larga duración vs 10.4 y 5.6% en corta duración respectivamente) (Borini et al, 1995).

Existe un estudio prospectivo aleatorizado que comparó ciclos sustituidos (con estradiol por vía transdérmica en un protocolo de dosis creciente) para transferencia de embriones criopreservados, con y sin desensibilización hipofisaria (3.75 mg triptorelina im en fase lútea media previa). No se encontraron diferencias entre uno y otro protocolo, si bien la tasa de gestación, implantación y aborto resultó favorable en el grupo que no estaba bajo el efecto del ag-GnRH (Dal Prato et al, 2002). En una revisión Cochrane del 2010 se concluyó que no hay pruebas claras acerca de cuál es el mejor protocolo de preparación endometrial que optimice la receptividad del mismo. No se hallaron beneficios en cuanto a tasa de gestación con la asociación de un ag-GnRH vs ausencia del mismo, ni tampoco mejores resultados con la utilización de un ag-GnRH respecto a otro (Glujovsky et al, 2010).

2. Opciones terapéuticas para supresión de la función ovárica mediante supresión hipofisaria.

Para lograr una correcta sincronización de la receptora con función ovárica con la donante, se necesitan protocolos que neutralicen la producción endógena de gonadotrofinas, y así evitar su interferencia en los ciclos de transferencia en la

donación de ovocitos (Meldrum et al, 1989), ya que de esta forma se evita el pico ovulatorio que provocaría una apertura prematura de la ventana de implantación en asincronía con la donante o una ovulación con sangrado prematuro. Existen publicaciones en las que se ha comprobado que la utilización de a-GnRH en las receptoras no influye en la tasa de implantación (Remohí et al, 1994).

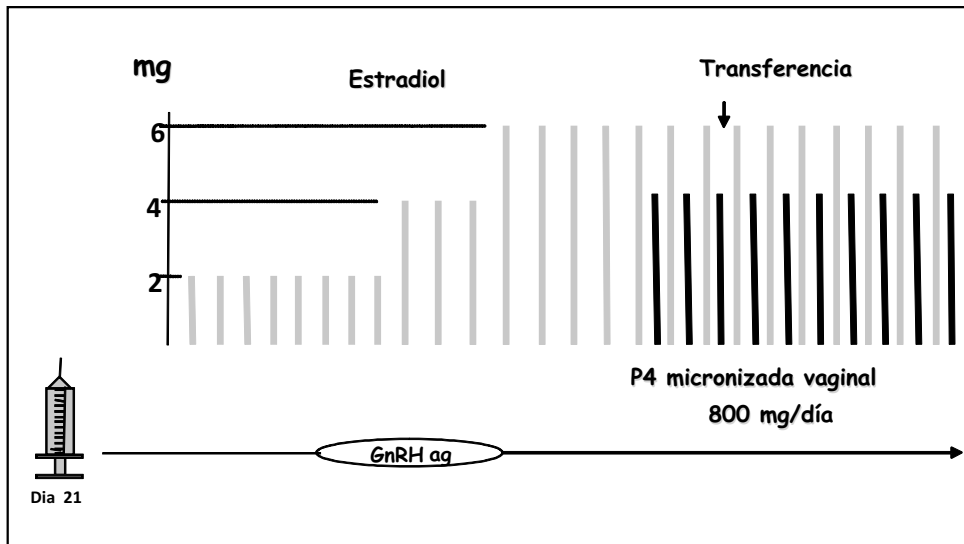
Existen diversas opciones de tratamiento, ya que todavía no se ha establecido la mejor pauta para las **mujeres con función ovárica**.

- El protocolo habitual utilizado es el del **empleo de un ag-GnRH de depósito o diario**, en la mitad de la fase lútea del ciclo precedente una vez comprobada la presencia del cuerpo lúteo. No es necesario administrar una segunda dosis en el caso del ag-GnRH de depósito, ya que en el ciclo de preparación endometrial se consigue la inhibición hipofisaria con las dosis posteriores de estradiol (Figura 3).

Tras la menstruación, y una vez confirmada la ausencia de función ovárica mediante ecografía vaginal, se inicia la administración de valerianato de estradiol (VE). El protocolo de sustitución hormonal es igual al que se emplea en las pacientes sin función ovárica, que explicaremos a continuación.

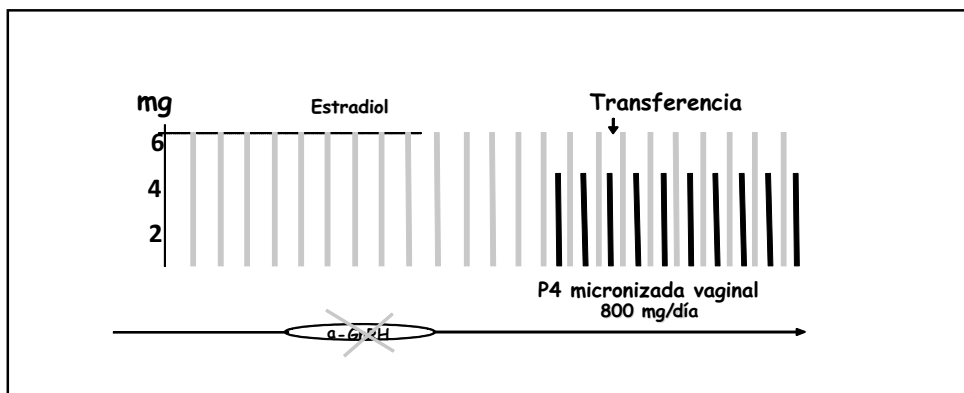
Introducción

FIGURA 3: Esquema terapia de reemplazo hormonal (pauta variable valerianato de estradiol) con ag-GnRH previos.



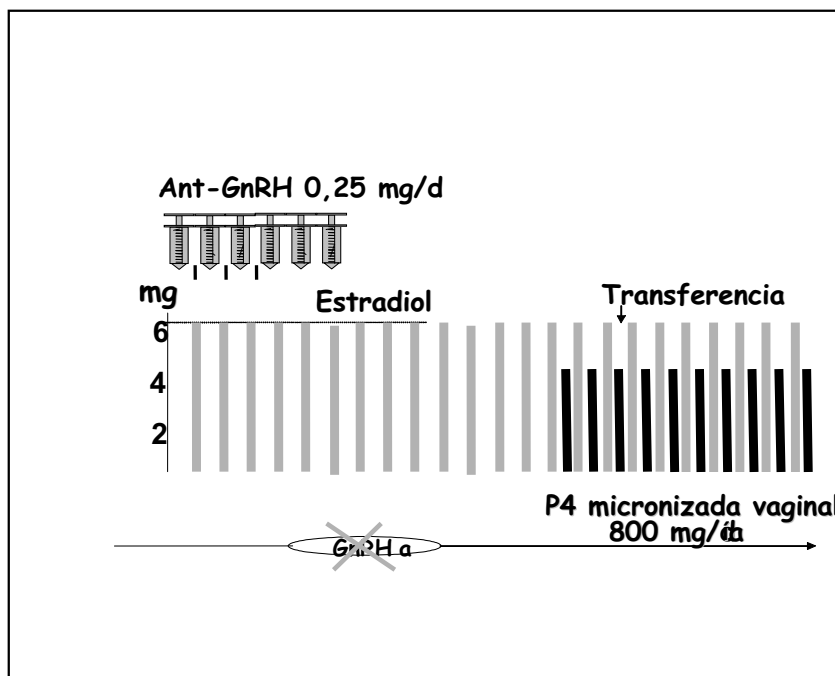
- También es posible utilizar una **pauta sin ag-GnRH previos**, en la que es fundamental iniciar el primer día del ciclo con dosis orales de 6 mg de VE (pauta fija de estrogenoterapia). Logrando así la inhibición hipofisaria con las dosis posteriores de estradiol (figura 4). Esta pauta puede mejorarse con un ciclo previo con anovulatorios.

FIGURA 4: Esquema terapia de reemplazo hormonal (pauta fija VE) sin ag-GnRH previos.



- Una tercera posible opción pasa por el uso de **antagonistas de la GnRH (ant-GnRH)**, que se administran durante los 5-7 primeros días del ciclo (0,25 mg/día) para inhibir el reclutamiento y crecimiento de los folículos pequeños, junto con dosis orales de 6 mg de VE o parches de estradiol (figura 5). De esta manera, la inhibición hipofisaria obtenida con los ant-GnRH se prolonga con las dosis posteriores de estradiol.

FIGURA 5: Esquema terapia de reemplazo hormonal (pauta fija VE) sin ag-GnRH previos, con ant-GnRH



c) TRATAMIENTO SUSTITUTIVO O DE REEMPLAZO HORMONAL (TRH).

1. Estrogenoterapia.

- i. Tipos, pautas y vías de administración.

Los protocolos de **administración de estrógenos** son variados, existiendo distintos tipos y vías de administración:

- Administración **oral** de valerianato de estradiol (VE) o estradiol (E₂) micronizado. Se administra E₂ oral diariamente en dosis que oscilan entre los 2 y los 8 mg, bien aumentando progresivamente (**pauta creciente o variable**) la dosis hasta alcanzar la dosis máxima, o bien administrando una dosis fija (**pauta fija**) desde el comienzo (Leeton et al, 1989).
- Uso de sistemas de liberación de estradiol **transdérmicos** (parches) (Younis et al, 1996) (Devroey et al, 1998) (Droesch et al, 1988). Los parches transdérmicos también se usan de manera **variable** a dosis creciente o con dosis **fija**, normalmente dosis de 75 a 300 µg, y se sustituyen cada 2 o 3 días.
- Vía **vaginal**, como estradiol micronizado. Con esta vía se alcanzan niveles séricos de estradiol más elevados y un mayor grosor endometrial que mediante la vía oral (Tourgeman et al, 1999) (Tourgeman et al, 2001).
- Mucho menos frecuente, es la administración **subcutánea** (sc) o **intramuscular** (im), aunque también es posible (Devroey et al, 1998) (Younis et al, 1996) (Feinman et al, 1993).

Se ha comparado los niveles séricos y endometriales de estradiol en pacientes que reciben estrógenos durante el periodo de terapia hormonal sustitutiva (THS). Se realizaron dos grupos de mujeres, ambas iniciaron el tratamiento con la misma dosis de estrógenos administrados de manera oral durante 2 semanas en fase folicular. En el momento de iniciar la administración de progesterona, un grupo de pacientes pasó a estrógenos vía vaginal mientras que el otro continuó con los estrógenos vía oral. Se tomaron muestras de sangre y biopsias endometriales a los 7 días de la administración de los estrógenos y la progesterona. En los casos de los estrógenos vía vaginal micronizada, los niveles endometriales y séricos fueron significativamente mayores que en aquellos casos en los que los estrógenos fueron administrados vía oral (Tourgeman et al, 1999).

También se ha estudiado comparativamente la eficacia de la administración de 4 y 6 mg de estradiol oral micronizado, para la preparación endometrial (Lewin et al, 2002). Se aleatorizaron 29 pacientes en dos grupos, ambos recibieron estradiol oral desde el inicio de la menstruación, un grupo 4 mg diarios y el otro 6 mg diarios. El soporte lúteo se alcanzó con 100 mg de progesterona vaginal a partir del día 11 de administración de los estrógenos. Se midieron los niveles de estradiol en suero que fueron significativamente mayores en el grupo de mayor dosis de estradiol, aunque no se observó diferencias en el grosor endometrial en ningún estadio del ciclo ni en la evaluación histológica llevada a cabo el día 21 del ciclo.

La efectividad del implante de estradiol subcutáneo en ciclos de donación de ovocitos para preparación endometrial fue probado en 13 mujeres con fallo ovárico precoz (FOP) y con grosores endometriales máximos < 10 mm conseguidos con preparación endometrial. La comparación del grosor endometrial, el número de días necesario para lograr el máximo grosor endometrial, la tasa de gestación, la tasa de implantación y la tasa de recién nacido vivo, fue favorable al grupo experimental respecto a los controles históricos con otros regímenes estrogénicos (Dmowski et al, 1997).

El significado clínico exacto de las conclusiones obtenidas a partir de todos los estudios previos que comparan varios protocolos de preparación endometrial debe ser adecuadamente determinado por estudios aleatorizados correctamente diseñados. También, los resultados en términos de grosor endometrial deberían ser interpretados a la luz de la importancia de esta variable en los resultados de los ciclos de donación de ovocitos.

ii. Duración de la fase estrogénica.

La fase de preparación endometrial con estrógenos debe durar al menos 10 días, y puede prolongarse más allá de los 12-14 días que suele tener la fase folicular del ciclo natural. Sin embargo, existe menor acuerdo sobre el número

de días que se puede mantener la administración exclusiva de estrógenos sin que repercuta negativamente en las tasas de gestación. Más adelante analizaremos con más detalle este aspecto.

2. Soporte de fase lútea con progesterona.

Existen varias vías y pautas de administración:

- Progesterona micronizada por vía oral o intravaginal (800 mg/día) (Devroey et al, 1989), (Tavaniotou et al, 2000).
- Progesterona oleosa por vía intramuscular (im) (50-100 mg/día) (Tavaniotou et al, 2000) (Remohí et al, 1993).
- En supositorios vaginales o pesarios (25-100 mg/día) (Tourgeman et al, 2001).
- Progesterona subcutánea (Prolutex®, 25 mg/día) (de Ziegler et al, 2013).

La vía oral tiene una pobre absorción y efectos erráticos, y no es la indicada para lograr un soporte lúteo adecuado (Devroey et al, 1989). La dosis vaginal e im utilizada en los diferentes protocolos normalmente varía desde los 200-800 mg y los 25-100 mg diarios, respetivamente (Tavaniotou et al, 2000). Las comparaciones entre ambas vías de administración han mostrado que, aunque la vía im genera niveles séricos más altos que dosis similares administradas vaginalmente, los cambios en el patrón endometrial convirtiéndolo en secretor, son mejores en la vía vaginal (Tavaniotou et al, 2000). Esto podría ser debido a la alta biodisponibilidad que alcanza en el útero mediante la vía vaginal (Miles et al, 1994). Por lo que respecta a resultados clínicos de ambas vías, éstos son controvertidos.

Una revisión Cochrane muestra que en los ciclos FIV en los que se usa progesterona im como soporte de la fase lútea, se obtiene una tasa de recién nacido vivo significativamente mayor (Daya, 2008), aunque algunos investigadores publican mejores resultados de ICSI con el uso de progesterona vaginal (Manno et al, 2005). Esta revisión concluye que la vía de administración ideal para la progesterona está todavía por determinar, coincidiendo con otra

revisión Cochrane posterior de 2010 (Glujovsky et al, 2010). Similares resultados han sido publicados en ciclos de transferencia de embriones congelados (Lightman et al, 1999) y en ciclos de donación de ovocitos (Gibbons et al, 1998) acerca de la vía vaginal o im de administración de la progesterona. La tolerancia y conveniencia se plantean como ventajas para el uso vía vaginal.

El inicio de la progesterona debe estar condicionada por el día de la donación ovocitaria, pudiendo ser:

- Día 0 : el mismo día de la donación
- Día +1: al día siguiente de la donación ovocitaria. Las ventajas de administrarla en día +1 son:

- Se consiguen los mismos resultados clínicos.

- Tiene la ventaja de que en el caso de encontrar un fallo de fecundación podemos repetir la donación y seguir teniendo preparado el endometrio.

Existe evidencia de una tasa de embarazo más baja y una mayor tasa de interrupción del ciclo cuando se inició la administración de progesterona antes de la extracción de ovocitos en los ciclos de donación de ovocitos (Glujovsky et al, 2010).

3. Factores que influyen en la donación durante el protocolo de preparación endometrial.

i. Controles durante la fase estrogénica

El grosor y el patrón endometrial, así como el nivel de estradiol sérico son los parámetros que habitualmente se utilizan para valorar la preparación endometrial. El primer control se suele realizar cuando las pacientes ya han iniciado el tratamiento con estrógenos, entre los días 12 y 14 iniciado el TRH, en la pauta creciente o variable, o a los 7-10 días en la pauta fija de

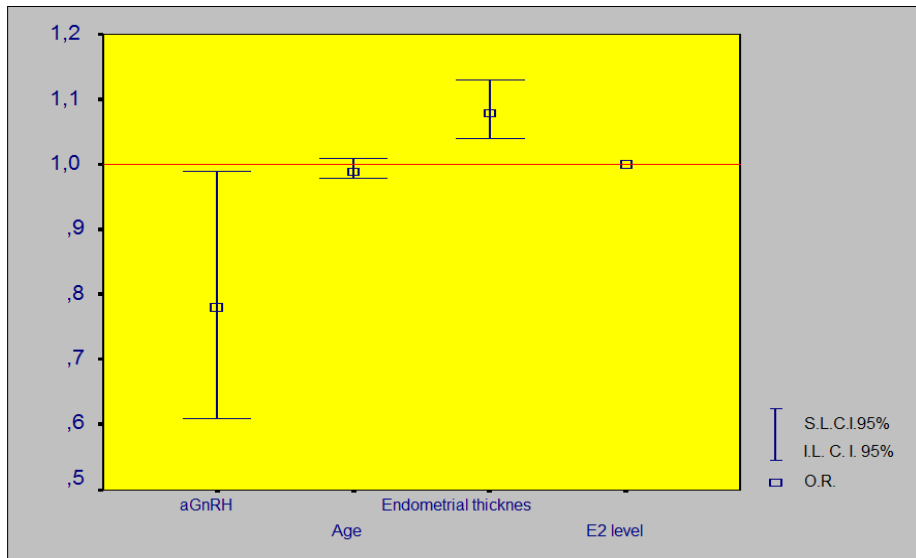
estrógenos, y luego semanalmente hasta que se produce la transferencia embrionaria. En párrafos posteriores analizaremos como influyen cada uno de estos factores por separado en el éxito de la donación ovocitaria (conocimientos extraídos de la donación de ovocitos).

ii. Sangrado durante la fase estrogénica

Se admite que el sangrado antes de la transferencia embrionaria, se asocia a una disminución de las posibilidades de implantación y, por tanto, de las posibilidades de éxito. Existe un porcentaje de ciclos que se cancelan por sangrado durante la fase estrogénica (18% en las clínicas IVI) (Budak et al, 2007).

Según un estudio retrospectivo realizado por Bosch y colaboradores (Bosch et al, 2001), en el que trataban de identificar y evaluar diferentes factores y su relación con el sangrado durante la preparación endometrial con estrógenos en ciclos de donación de ovocitos, se consideró que el uso de ag-GnRH previos al inicio de la preparación endometrial fue un factor protector para la aparición de sangrado; mientras que el grosor endometrial alcanzado con el tratamiento estrogénico (a mayor grosor mayor riesgo de sangrado) y la endometriosis, como causa de esterilidad femenina, se asociaron a una mayor tasa de cancelación debida a la aparición de sangrado. La duración de la fase estrogénica también fue significativamente mayor en los ciclos cancelados por sangrado que en los que no fueron cancelados (39'5 días vs 36'7 días, $p=0'008$). Ni la edad ni los niveles de estradiol sérico alcanzados, mostraron relación significativa con la tasa de cancelación por aparición de sangrado (figura 6).

FIGURA 6: Relación entre el uso de ag-GnRH previos a la preparación endometrial, la edad, el grosor endometrial y los niveles de estradiol sérico con la tasa de cancelación por sangrado (Bosch et al, 2001).



En los casos en los que existe un sangrado previo a la transferencia, se procede a inducir la menstruación por privación hormonal y de esta manera se consigue enlazar con un nuevo ciclo.

-Mujeres con función ovárica: es recomendable repetir la dosis del a-GnRH en el momento de la hemorragia, y agregar después progesterona micronizada por vía vaginal (800 mg/día) durante 5 días, manteniendo el valerianato de estradiol. Al completar los 5 días de administración de ambos, se suspendería la medicación hormonal y se esperaría a la menstruación. De esta manera, se consigue el inicio de un nuevo ciclo con la paciente frenada, disminuyendo el tiempo de espera para repetir la preparación endometrial.

-Mujeres sin función ovárica: en estos casos la pauta adecuada consiste en la administración de progesterona durante 5 días.

4. SINCRONIZACIÓN DONANTE-RECEPTORA.

Para aumentar al máximo la probabilidad de éxito del tratamiento, la transferencia de embriones debe programarse cuidadosamente. Para lograr la misma coordinación del desarrollo del embrión y del endometrio que se produce de forma natural en los ciclos de concepción espontánea, el tratamiento con progesterona en la receptora suele comenzar el día siguiente en el que la donante se somete a la captación ovocitaria (Navot et al, 1986) (Glujovsky et al, 2010). Aunque el "margen de transferencia" eficaz es más amplio que un solo día, la transferencia sincrónica proporciona un margen de seguridad que compensa cualquier variación leve en la velocidad de maduración del endometrio.

Algunos profesionales prefieren comenzar el tratamiento con progesterona en el día previo a la recuperación de los ovocitos de la donante. La flexibilidad de la duración del tratamiento preliminar con estrógenos en la receptora facilita programar el proceso de forma conveniente. En general, el tratamiento con estrógenos comienza en el momento o cerca del momento en el que se inicia la estimulación en la donante, lo que da tiempo suficiente para alcanzar el grado deseado de proliferación endometrial antes de la recuperación de los ovocitos de la donante (Speroff y Fritz, 2006).

La sincronización entre la donante y la receptora (Privitera et al, 2012), puede gestionarse de dos maneras en función de diferentes parámetros, como la disponibilidad de donantes, la posibilidad de vitrificar, etc.

- **Coordinación en series:** Tanto las donantes como las receptoras inician sus respectivos tratamientos de manera independiente (las donantes inician la estimulación y las receptoras la THS) según su ciclo menstrual, de manera que cuando una donante se programa para la punción folicular, se busca entre las receptoras que estén en espera de

una donación, aquélla que sea compatible por grupo sanguíneo y características fenotípicas.

- **Coordinación en paralelo:** Se programa para que el inicio de ciclo, tanto de la donante como de la receptora, sea en paralelo. Se identifica por lo tanto un par donante-receptora en base a la compatibilidad en:
 - grupo sanguíneo y Rh,
 - características físicas,
 - tratamientos de reproducción previos de la donante y de la receptora,
 - antecedentes de recién nacido vivo en una donación anterior con la misma donante,
 - Otras características: parejas que requieren donante con cribado de fibrosis quística, talasemia...

Tanto la coordinación en series como la coordinación en paralelo tienen sus limitaciones. Así pues, en la coordinación en series, la espera por parte de la receptora a la donante más adecuada, puede condicionar un aumento de los días en tratamiento con estrógenos, pudiendo iniciar sangrado o desestructuración del endometrio, circunstancias que condicionarían una cancelación del tratamiento. Además no permite la programación, por parte de la receptora, de la fecha en la que tendrá lugar la donación.

En la coordinación en paralelo, la donación está condicionada a la evolución de la estimulación de la donante.

Un aspecto fundamental para poder optimizar el programa de donación ha sido la creación de un banco de ovocitos de donantes. Esto ha sido posible gracias a la incorporación en las técnicas del laboratorio de la vitrificación de ovocitos (Cobo et al, 2007). Estudios recientes han demostrado que los resultados obtenidos con ovocitos vitrificados son comparables a los que se logran con ovocitos frescos, lo cual hacen de la vitrificación una técnica ideal en los programas de donación de ovocitos (Cobo et al, 2008c) (Cobo et al, 2010).

El banco de ovocitos permite:

- Crear un "stock" de aquellas características de las donantes más demandadas.
- Programación más precisa por parte de la receptora.
- Evitar la lista de espera para la donación de ovocitos de más de 40 días.
- Realizar coordinaciones en paralelo independientemente de la fase del ciclo en la que se encuentre la donante y la receptora (por características, por recién nacidos vivos).
- Repetir donaciones sin tener que cancelar o posponer la donación a la receptora.
- Permite realizar un nuevo test de cribado (de VIH y de VHC) a la donante, antes de usar sus ovocitos para ser donados a una receptora (analítica de la cuarentena).

a) COORDINACIÓN DEL CICLO.

1. Donante:

La primera ecografía para la planificación del ciclo se realiza en el día 21 del ciclo en aquellos casos en los que las donantes no tomen ningún tipo de anticonceptivo hormonal, o bien, en el día 14 ó 16 del anticonceptivo. Si la ecografía realizada es normal se programa el inicio de la estimulación.

Se determina el protocolo de estimulación que van a llevar en función de sus características (folículos antrales, experiencia en ciclos previos), y se les indica la pauta de a-GnRH que deben seguir.

Los controles de la estimulación se realizarán de manera periódica y se les realiza un control ecográfico y analítico:

- En el control ecográfico se determina el número de folículos, así como el tamaño folicular. Para calcular el tamaño, se realiza el promedio de las dos mediciones de mayor tamaño de cada uno de los folículos.

- En el control analítico, se determinan los niveles de estradiol en sangre a lo largo de la estimulación y en función de los niveles obtenidos, se modifica la dosis de gonadotrofinas administradas.

Se programa la punción folicular cuando más de 3 folículos tengan un tamaño >17 mm o al menos un folículo alcance el tamaño <20 mm y siempre y cuando el total de folículos >14 mm sea ≥ 8 folículos. La ovulación se desencadena con hCG en los ciclos con ag-GnRH, mientras que en los ciclos con ant-GnRH se suele desencadenar la ovulación con 0.2 mg de acetato de triptorelina (Melo et al, 2009).

La punción folicular se realiza a las 36 horas exactas de la administración del inductor de la ovulación (tanto hCG como ag-GnRH). Es un procedimiento quirúrgico que tiene lugar en el quirófano de FIV bajo sedación general.

2. Receptora:

En función del tipo de coordinación de ciclos que se vaya a realizar se programa el inicio del tratamiento correspondiente en la paciente receptora.

- Se le practicará una ecografía de control antes de iniciar la terapia hormonal de reemplazo o preparación endometrial, para comprobar la regularidad de la cavidad endometrial y la quiescencia ovárica.
- Se empezará la terapia hormonal de reemplazo con el inicio de la menstruación.
- Se realiza un primer control del grosor endometrial 8 ó 10 días después del inicio de la THR, ajustando la dosis de estrógenos según el resultado de la ecografía, del estradiol sérico, o de ambos.
- Se programan los siguientes controles a intervalos semanales, o el día de la donación (lo que ocurra primero).

5. CONOCIMIENTOS EXTRAÍDOS DE LA DONACIÓN DE OVOCITOS.

La relativa inaccesibilidad de los gametos femeninos, la dificultad en la sincronización entre el proceso ovulatorio de la donante y el desarrollo endometrial de la receptora, han determinado un retraso de casi un siglo en la consecución de una gestación con gametos femeninos donados si se compara con los resultados obtenidos con los masculinos. La amplia y rápida difusión de la donación de ovocitos ha contribuido a la progresión vertiginosa de esta técnica. Además de lograrse embarazo en parejas que no lo hubieran conseguido con otros procedimientos, ha permitido adquirir conocimientos para una mejor comprensión de la fisiología de procesos involucrados también en otras técnicas de reproducción asistida. La posibilidad de analizar por separado la función ovárica y la uterina ha permitido dilucidar la relación de una serie de variables con dichas funciones (Fernández-Sánchez et al, 2009).

a) PROCESO DE IMPLANTACIÓN.

El proceso de implantación del óvulo fecundado en el útero humano, aunque no está totalmente esclarecido, parece que está determinado por dos factores cruciales que son: la receptibilidad endometrial, y la sincronización entre el desarrollo embrionario y endometrial.

En los ciclos naturales, estos dos factores están directamente relacionados con la producción cíclica de hormonas por el ovario en el momento de la ovulación. Por el contrario, en los casos de donación de ovocitos, la estimulación ovárica de la donante y la preparación artificial del endometrio de la receptora, son dos hechos totalmente separados. Por ello, el tratamiento adecuado para conseguir el adecuado crecimiento endometrial mediante la administración de estrógenos y progesterona es crucial para conseguir una adecuada receptibilidad endometrial donde llevarse a cabo la implantación.

Factores que influyen sobre la implantación:

1. EDAD DE LA RECEPTORA:

El modelo de donación de ovocitos, ha permitido estudiar el efecto de la edad en la receptividad uterina, con resultados controvertidos (Yaron et al, 1998) (Moomjy et al, 1999) (Legro et al, 1995) (Paulson, 1997) (Noyes et al, 2001).

Algunos autores encuentran una influencia de la edad en el porcentaje de éxitos, mientras que otros no la refieren. No se ha logrado alcanzar un consenso en la literatura debido a que los estudios publicados muestran un tamaño muestral insuficiente para poder encontrar diferencias estadísticas. En 2002, un estudio retrospectivo realizado en EEUU con 17339 ciclos de donación ovocitaria mostró que las tasas de implantación y gestación se mantenían hasta los 40 años, momento a partir del cual, comenzaban a disminuir de manera significativa, sobre todo a partir de 50 años. En cuanto a la tasa de abortos también se observó un incremento cercano a la significación a partir de los 40 años (Toner et al, 2002). Pese al gran tamaño muestral de este estudio, el principal problema que presentó fue la ausencia de control sobre los protocolos de actuación y la documentación de la información utilizada, debido a que se trataba de un estudio multicéntrico en el que participaron un gran número de centros de reproducción asistida.

En el año 2005, se publicó un estudio unicéntrico en el que se valoró el impacto de la edad de la receptora con el éxito de la donación de ovocitos considerando las tasas de gestación, de implantación y de aborto. El estudio incluyó 3089 ciclos en los que se excluyeron los casos con factor masculino severo. En todos los casos se utilizó el mismo protocolo de preparación endometrial. Los resultados obtenidos fueron similares a los del estudio anteriormente mencionado, observando que la tasa de implantación, embarazo y aborto eran significativamente peores a partir de los 45 años. Asimismo se observó una mayor tasa de partos pretérminos y de recién nacidos pequeños para la edad gestacional, así como una mayor incidencia de hipertensión y proteinuria,

hemorragias del segundo y tercer trimestre, y rotura prematura de bolsa en las pacientes con una edad ≥ 45 años, en comparación con las $<$ de 45 años (Soares et al, 2005).

En conclusión, además del aumento de incidencia de complicaciones durante el segundo y tercer trimestre de embarazo que presentan las mujeres de edad avanzada, las mujeres de 45 años o más tienen una menor probabilidad de lograr un recién nacido vivo, a pesar de la donación de ovocitos.

2. ÍNDICE DE MASA CORPORAL (IMC):

Existen múltiples estudios en los que se estudia el efecto del IMC en los resultados de FIV (Fedorcsák et al, 2001) (Fedorcsák et al, 2004) (Nichols et al, 2003) (van Swieten et al, 2005). La mayoría de ellos coinciden en mostrar menores tasas de éxito en pacientes obesas.

Algunos autores han utilizado el modelo de la donación de ovocitos para poder estudiar la relación entre el IMC y el factor uterino, como responsable de los malos resultados obtenidos. Dos estudios no encontraron una asociación significativa entre estas dos variables. Ahora bien, en uno de ellos la muestra incluye únicamente 96 ciclos (Wattanakumtornkul et al, 2003), y en el otro (Styne-Gross et al, 2005) la tasa general de aborto presentada (23%) es sustancialmente mayor a lo publicado en la literatura.

En el 2007 Bellver y colaboradores (Bellver et al, 2007), publicaron una serie de 2597 primeros ciclos de donación de ovocitos en los que se relacionó el IMC con los resultados obtenidos. En este estudio se observó que en las pacientes con un $\text{IMC} \geq 30 \text{ Kg/m}^2$ existía una tendencia a tasas más bajas de gestación e implantación, y a una tasa más alta de abortos. Esto se tradujo en una tasa de gestación evolutiva por ciclo iniciado significativamente más baja en las pacientes con $\text{IMC} \geq 30 \text{ Kg/m}^2$. Estos datos sugieren que un elevado IMC determina una disminución clínicamente significativa en la receptividad uterina.

Existe literatura más reciente que apoya la influencia de la obesidad en los resultados reproductivos. Un primer estudio se realizó en madres de alquiler que recibieron óvulos donados con semen sin patología grave, y se observó que en las mujeres con IMC $> 35 \text{ Kg/m}^2$, la tasa de implantación, gestación clínica y recién nacido vivo (RNV) era significativamente inferior que en las mujeres con IMC menores (DeUgarte et al, 2010).

Otro estudio presentó los resultados de 450 ciclos de donación de ovocitos utilizando embriones congelados. En él se observó que en mujeres con IMC $> 30 \text{ Kg/m}^2$, las tasas de embarazo eran menores. Al hacer un análisis multivariante para ver el impacto independiente del IMC, se demostró que el IMC corporal constituía "per se" un factor de riesgo independiente (Dessolle et al, 2009).

Por lo tanto, se puede concluir que el IMC $> 30 \text{ Kg/m}^2$ se asocia a peores tasas de implantación, de gestación evolutiva y de RNV, debido probablemente a una disminución en la receptividad uterina.

3. TABAQUISMO:

Clásicamente se conoce el impacto negativo del tabaquismo en la fertilidad femenina, tanto en los ciclos naturales como en los ciclos de FIV (Augood et al, 1998) (Waylen et al, 2009).

El efecto del tabaco sobre los ovarios, se puso de manifiesto al observar que la edad media en la que aparecía la menopausia en mujeres fumadoras era menor que en la mujeres no fumadoras (Jick et al, 1977). En mujeres sometidas a tratamientos de reproducción asistida también se vio que la función ovárica en mujeres fumadoras estaba disminuida en comparación con aquellas mujeres que no fumaban (Crha et al, 2001) (Klonoff-Cohen et al, 2001). Niveles basales de hormona folículo estimulante (FSH) más elevados, mayor tasa de cancelación, menor número medio de ovocitos recuperados, y peores tasas de embarazo, se encontraron en las mujeres fumadoras.

Además de sobre la función ovárica, parece claro que el tabaco tiene un efecto sobre la receptividad endometrial. La hipótesis de un efecto endometrial concomitante se plantea a partir de estudios *in vitro* en los que se observó una pérdida de moléculas de adhesión celular y una disminución de la invasión de la membrana basal por células humanas de adenocarcinoma endometrial RL95-2, cuando éstas eran expuestas a constituyentes del tabaco (benzopireno). Esta línea celular sirve como un modelo *in vitro* para estudiar la receptividad endometrial debido a la similitud en cuanto adhesividad de las células trofoblásticas (Shiverick y Salafia, 1999).

Algunos autores han demostrado una menor tasa de gestación y de implantación en mujeres fumadoras frente a no fumadoras en ciclos FIV, a pesar de que en ambos casos los embriones transferidos fueron de calidad similar (Neal et al, 2005). Esto sugiere que la receptividad endometrial podría verse alterada en las mujeres fumadoras. Asimismo, se publicó una mayor tasa de aborto en ciclos FIV en mujeres fumadoras (Pattinson et al, 1991) (Klonoff-Cohen et al, 2005), así como alteraciones en las gestaciones iniciales de mujeres fumadoras. Las alteraciones descritas fueron en marcadores bioquímicos de función placentaria y hallazgos histológicos anómalos (como una mayor necrosis sincitial, un aumento del grosor de la membrana sincitio/citotrofoblástica, y una reducción en la formación de columnas trofoblásticas) (Shiverick et al, 1999).

Una vez más la donación de ovocitos es el modelo ideal para estudiar la influencia del tabaco sobre el factor uterino y su efecto en los resultados de los ciclos de reproducción asistida en mujeres fumadoras. En 2007 se publicó un estudio que analizó el impacto del tabaco sobre las posibilidades de conseguir gestación en mujeres receptoras de ovocitos (Soares et al, 2007). Se analizaron 785 ciclos de donación de ovocitos. Fueron controladas todas las variables que pudieran interferir en el resultado de los ciclos: el tabaquismo del marido y de la donante, el IMC de la receptora, la duración de la preparación endometrial, la

edad de la receptora, y el número y calidad de los embriones transferidos. Las receptoras que fumaban más de 10 cigarrillos al día tuvieron una tasa de gestación significativamente más baja (34.1% frente a 52.2%) y, curiosamente, una tasa de gestación gemelar significativamente más alta (60% frente a 31%). Esta sorprendente paradoja ha llevado a considerar la hipótesis de que el tabaquismo podría activar un perfil de expresión génica endometrial diferente en función de que las mujeres sean fumadoras o no. En la actualidad se están llevando a cabo estudios para confirmar esta hipótesis.

4. HIDROSÁLPINX:

Se ha visto que las tasas de gestación, implantación, RNV y abortos, se modifican de manera significativa en las mujeres sometidas a TRA con hidrosálpinx (Camus et al, 1999). El mecanismo relacionado con los malos resultados obtenidos es la presencia de fluido en las trompas de Falopio. Este fluido produciría:

- Un efecto tóxico que comprometería la maduración del folículo/ovocito;
- Un efecto embriotóxico directo que afectaría el desarrollo embrionario intrauterino o su potencial implantación;
- Un factor uterino, por el lavado endometrial intermitente que conlleva mecanismos de deterioro del potencial de implantación o a una reducción de la receptividad endometrial debido a alteraciones en el ambiente molecular endometrial.

Las evidencias actuales sugieren que el hidrosálpinx reduce los resultados de los ciclos de FIV debido básicamente a factores relacionados con la cavidad uterina:

- i. La cantidad de gonadotrofinas utilizadas durante la estimulación, la duración de la estimulación, el número de ovocitos recuperados y la tasa de desarrollo embrionario precoz fueron similares en pacientes con y sin hidrosálpinx (Andersen et al, 1994) (Strandell et al, 1999). En experimentos con embriones humanos no se han detectado

diferencias en el desarrollo de los mismos a blastocistos utilizando cultivos con un 50% de fluido procedente de hidrosálpinx al compararlo con controles en cultivos estándares. Sí se observó un deterioro significativo del desarrollo del blastocisto cuando los cultivos fueron con un 100% fluido de hidrosálpinx en comparación con los cultivos al 50% y los controles (Strandell et al, 1998). Además, la capacidad de implantación de estos embriones en cultivos in vitro de endometrio humano no parece estar comprometida. Estos autores concluyen que, en general, el fluido del hidrosálpinx no posee propiedades embriotóxicas sobre el desarrollo del embrión humano a blastocisto. El potencial efecto negativo del hidrosálpinx en los resultados de FIV podrían estar relacionados con factores endometriales tales como la receptividad endometrial, la fuga directa del fluido del hidrosálpinx a lo largo de la cavidad uterina (Strandell et al, 1998).

- ii. Las biopsias endometriales realizadas durante la ventana de implantación en mujeres infértiles con y sin hidrosálpinx demostraron una expresión significativamente menor de moléculas implicadas en la receptividad endometrial, tales como el factor inhibidor de leucemia (LIF) y $\alpha(v)\beta3$ integrina en los casos de hidrosálpinx (Meyer et al, 1997) (Bildirici et al, 2001) (Seli et al, 2005).

En resumen, podemos decir que se deben estudiar los anexos de las receptoras de ovocitos para descartar la presencia de hidrosálpinx de manera previa a la donación de ovocitos. En el caso de diagnosticarse, se deberá proceder a su extirpación mediante salpinguectomía, o a la oclusión tubárica proximal laparoscópica de las mismas (Johnson et al, 2010) (Kontoravdis et al, 2006). La efectividad de administrar únicamente tratamiento antibiótico está todavía por dilucidar, así como la efectividad de otros procedimientos endoscópicos (Darwish et al, 2007) (Hurst et al, 2001).

5. ENDOMETRIOSIS:

Los resultados de los ciclos de FIV realizados en pacientes con endometriosis son claramente peores que los obtenidos en pacientes sin esta enfermedad (Barnhart et al, 2002) (Kuivasaari et al, 2005). Todos los parámetros están afectados negativamente y el impacto de la endometriosis se muestra en la reserva ovárica y en la calidad ovocitaria. Sin embargo, la baja tasa de implantación hace que nos planteemos si esto es debido únicamente a la peor calidad y número de embriones obtenidos en estas pacientes, o también estaría reflejando un compromiso de la receptividad endometrial.

En teoría, la endometriosis podría afectar a la receptividad uterina al alterar el ambiente bioquímico local, mediante mecanismos paracrinos o endocrinos, o incluso como resultado de cambios en la respuesta inmunitaria. Varios estudios han podido demostrar que el fluido peritoneal y el suero de mujeres con endometriosis contiene niveles alterados de factores tales como el TIMP-1 (un regulador de la remodelación de matriz extracelular) (Sharpe-Timms et al, 1998), interleuquina-1 (Taketani et al, 1992) y otras citoquinas y factores de crecimiento (Ulukus y Arici, 2005). Por otra parte, en estas mujeres con endometriosis también se ha descrito una función alterada del cuerpo lúteo. Valores alterados de progesterona sérica se han descrito en las fases folicular (Ayers et al, 1987) y lútea (Cunha-Filho et al, 2003). Finalmente, se ha observado una frecuencia más alta de alteraciones en la inmunidad celular y humoral, comparadas con mujeres con infertilidad debida a otras etiologías (Ulukus y Arici, 2005).

A pesar de lo anteriormente expuesto, los ciclos de donación de ovocitos realizados en pacientes con endometriosis han mostrado resultados similares a los observados en pacientes con esterilidad debida a otras causas (Simón et al, 1994) (Sung et al, 1997) (Díaz et al, 2000). Tales resultados sólo se pueden explicar si:

- Ninguna de las alteraciones descritas en el párrafo previo son relevantes para la receptividad endometrial.
- Los protocolos de preparación endometrial con TRH utilizados en la donación de ovocitos restablecen un ambiente adecuado en la cavidad uterina.

En este sentido, es interesante reseñar que hay algunas evidencias "in vitro" (Imai et al, 2000) e "in vivo" (Surrey et al, 2002) (Sallam et al, 2006) de que los a-GnRH podrían tener un efecto positivo en la fisiología de las células endometriales de pacientes con endometriosis. Se ha demostrado in vitro como la presencia de a-GnRH en cultivos de endometrio eutópico y ectópico restablece la tasa de apoptosis normal, que normalmente está disminuida en las células endometriales eutópicas y ectópicas de las mujeres con endometriosis (Imai et al, 2000). La administración de a-GnRH durante los meses previos al ciclo de estimulación para FIV en pacientes con endometriosis consigue mejorar las tasas de embarazo, recién nacido vivo, e implantación (Surrey et al, 2002) (Sallam et al, 2006). Además, la THS con estrógenos y progesterona podría compensar la deficiencia de fase lútea descrita en estas pacientes.

A la vista de los resultados, parece que la presencia de endometriosis en receptoras de ovocitos no altere el pronóstico de los ciclos de donación de ovocitos cuando se realizan los protocolos actuales de preparación endometrial. Ahora bien, queda por dilucidar el aspecto de la receptividad endometrial con ciclos naturales en estas pacientes.

6. ADENOMIOSIS:

La adenomiosis se ha asociado con una serie de condiciones que hacen pensar que debería presentar peores tasas de implantación embrionaria, tales como la alteración en el peristaltismo uterino (Kunz y Leyendecker, 2002), el crecimiento vascular endometrial/miometrial (Hickey et al, 2003) (Ota y Tanaka, 2003), el aumento de ciclooxigenasa en el endometrio ectópico (Van

Voorhis et al, 1990), y la mayor expresión de citocromo aromatasa p450 en el endometrio eutópico (Kitawaki et al, 1997). En pacientes con este patrón en la expresión endometrial de la aromatasa se han publicado peores resultados en FIV (menor tasa de embarazo), con similar número de ovocitos recuperados y embriones transferidos que en pacientes con normal perfil de expresión de la misma (Brosens et al, 2004). Se ha demostrado la normalización de la citocromo aromatasa p450 en pacientes con endometriosis y adenomiosis que eran tratadas con una dosis diaria de a-GnRH durante un mes (Ishihara et al, 2003).

Existe un estudio realizado en pacientes sometidas a donación de ovocitos, que evalúa el efecto de la adenomiosis en la expresión génica endometrial y su correlación con los resultados clínicos. Concluye que la adenomiosis no altera ni clínica ni molecularmente el proceso de implantación, pero que sí que existe una mayor tasa de aborto y una menor tasa de embarazo a término, condicionando un efecto negativo final en los resultados de donación de ovocitos en las pacientes con adenomiosis (Martínez-Conejero et al, 2011).

7. PARÁMETROS SOBRE LA PREPARACIÓN ENDOMETRIAL:

Existe un estudio en el que se compararon los resultados obtenidos a partir de ciclos de donación de ovocitos en los cuales los ovocitos fueron compartidos por varias receptoras, obteniéndose resultados discordantes (embarazos y no embarazos) (García-Velasco et al, 2003). No se observaron diferencias en los niveles de estradiol (E_2) en suero ni en el grosor endometrial tras 15 días de terapia estrogénica entre las pacientes que quedaron gestantes y las que no. Esto hace que se cuestione el valor de los parámetros que habitualmente se usan para la valoración de la receptividad endometrial. En un análisis multivariante que incluyó 3089 transferencias de embriones en ciclos de donación de ovocitos, se estudió la importancia del grosor endometrial, los niveles de E_2 , y la duración de la preparación endometrial, y sólo se observaron

peores resultados cuando la terapia estrogénica se prolongaba más de 7 semanas (Soares et al, 2005).

Algunos autores han encontrado una relación entre el grosor endometrial y el éxito en las transferencias de embriones en los ciclos de donación de ovocitos (Abdalla et al, 1994) (Shapiro et al, 1993), pero sin embargo, otros autores no corroboran esta relación (Alam et al, 1993) (Coulam et al, 1994). Además, la correlación entre el grosor endometrial y los niveles séricos de estradiol es controvertida (Alam et al, 1993) (Remohí et al, 1997).

- i. **Grosor endometrial:** Medido mediante ultrasonografía (US) vaginal, ha sido considerado un factor pronóstico importante a la hora de llevar a cabo la transferencia embrionaria en los ciclos de donación de ovocitos, encontrándose relación entre el grosor endometrial y los resultados de los ciclos realizados (Noyes et al, 2001), (Shapiro et al, 1993) (Abdalla et al, 1994). Existen centros en los que la suplementación con progesterona no se iniciaba si el grosor endometrial de la receptora era menor de 9 mm, o si éste era mayor de 12 mm (Borini et al, 1996). Sin embargo, también existen publicaciones en las que el grosor endometrial parece no ser relevante para el éxito de la donación de ovocitos (Remohí et al, 1997) (Coulam et al, 1994). Así pues Remohí y colaboradores, no encontraron diferencias en cuanto a tasas de gestación, implantación o aborto, entre las pacientes con niveles séricos de estradiol < 100 pg/ml, grosor endometrial < 7 mm o un patrón endometrial no trilaminar, y aquéllas en las que dichos parámetros se situaban dentro de límites considerados idóneos (estradiol sérico > 100 pg/ml, grosor endometrial > 7 mm, patrón trilaminar) (Remohí et al, 1997). En este mismo estudio se nos muestra la ausencia de correlación entre los niveles séricos de estradiol y la implantación del embrión, así como una correlación significativa positiva, entre el grosor

endometrial y la tasa de implantación, y los niveles de estradiol sérico y el grosor endometrial, aunque ambas débiles. Ninguno de los dos parámetros nos va a servir para predecir el éxito de la transferencia embrionaria, aunque el grosor endometrial es más relevante que el estradiol sérico en la monitorización, y es el parámetro que nos va a permitir actualmente fijar la dosis de estradiol a emplear en cada caso para lograr el desarrollo endometrial deseado.

Por lo tanto, los datos actuales apuntan a que no existe un grosor endometrial específico que determine el pronóstico de los ciclos en términos de tasa de gestación, tasa de implantación o tasa de aborto, ya que incluso con endometrios finos (6 mm) se consiguen buenas tasas de gestación e implantación, sin aumentar la tasa de aborto (Soares et al, 2005). No obstante, en un porcentaje muy pequeño de pacientes, se observaron endometrios atróficos (≤ 5 mm), siendo estas conclusiones no aplicables a este subgrupo de pacientes.

ii. Patrón endometrial mediante técnicas de imagen: El patrón endometrial determinado mediante US bidimensional (2D) ha sido ampliamente estudiado con resultados diversos. Así Check y colaboradores (Check et al, 1993) no encontraron relación entre el patrón ecográfico endometrial y la tasa de embarazos en las receptoras de donación de ovocitos. Tampoco encuentran mejores tasas de embarazo con endometrios trilaminares respecto a isoecogénicos en la fase proliferativa tardía, en pacientes sometidas a FIV, transferencia de embriones congelados, o transferencia de embriones de ovocitos donados (Check et al, 2013).

Sin embargo, Bustillo y colaboradores, publicaron una mayor tasa de gestaciones cuando el patrón endometrial alcanzado previo a la transferencia embrionaria en ciclos de donación ovocitaria era trilaminar (Bustillo et al, 1995). También Coulam y colaboradores,

realizaron un estudio prospectivo de casos y controles, en el que sí que encontraron una relación significativa entre el patrón endometrial trilaminar y una mayor tasa de embarazos en mujeres sometidas a TRA (Coulam et al, 1994). En 1995, Turnbull (Turnbull et al, 1995) publica una revisión acerca de las distintas modalidades de técnicas de imagen para el estudio del patrón endometrial, y concluye que más allá del grosor endometrial, la textura del mismo podría tener un valor pronóstico en la implantación. Así, concluye que el patrón con el que más tasa de gestación se logra es el trilaminar, en comparación con el iso- o hiperecoico en comparación con el miometrio. También evalúan el papel de la RMN, concluyendo que podría ser de utilidad pero que faltan estudios concluyentes, ya que de momento los resultados son discordantes.

De esta forma, pese a lo controvertido del tema, se considera que el patrón ideal endometrial ecográfico es el trilaminar, considerando un patrón no trilaminar como un posible motivo de cancelación del ciclo.

iii. Niveles séricos de estradiol durante la preparación

endometrial: El objetivo del tratamiento con estrógenos en los ciclos de donación ovocitaria es conseguir unos niveles séricos de estradiol lo más similares posible a los que se encuentran en los ciclos naturales. Éste fue el objetivo en los primeros intentos de donación de ovocitos (Lutjen et al, 1984). Esta meta propuesta se tradujo en complicadas pautas de administración del E₂ diario.

Con el objetivo de simplificar los tratamientos, fueron propuestos nuevos protocolos como ya vimos en el apartado de estrogenoterapia:

- Pauta variable o creciente.
- Pauta fija.

Los niveles suprafisiológicos (>300 pg/mL) e infra fisiológicos (<100 pg/mL) de E₂ en suero parecen no tener impacto de manera significativa en la tasa de gestación, implantación o aborto en donación de ovocitos (Noyes et al, 2001) (Michalas et al, 1996). Por lo que los niveles de E₂ en suero no deberían ser considerados como un marcador de la eficacia de la preparación endometrial.

Existen publicaciones que nos muestran que la correlación entre el grosor endometrial y los niveles séricos de estradiol es controvertida (Alam et al, 1993) (Remohí et al, 1997).

iv. Duración de la preparación endometrial con estrógenos

exógenos: La necesidad de coordinar la preparación de las donantes y las receptoras ha condicionado el estudio de la repercusión de la duración de la terapia estrogénica en la tasa de éxito de los ciclos de donación de ovocitos. Parece que no existe unanimidad entre los resultados que evalúan este factor. Algunos autores reportan una disminución significativa de la tasa de gestación tras 35 días (Yaron et al, 1995), 19 (Younis et al, 1992) ó incluso tras 11 días (Michalas et al, 1996) de administración de E₂, mientras que otros investigadores no detectan ninguna asociación entre la duración de los estrógenos y las tasas de gestación e implantación (Remohí et al, 1995) (Borini et al, 2001). Parece prudente evitar pautas de administración de estrógenos menores a 10 días, por su asociación con un incremento en la tasa de abortos (Borini et al, 2001).

Navot y cols. (Navot et al, 1989) establecieron que se debe mantener como mínimo 5 días para lograr una adecuada preparación endometrial; así obtuvieron las mismas tasas de embarazo que con un protocolo con mayor duración (3-5 semanas) de la fase estrogénica, aunque con una mayor tasa de abortos. Estos mismos autores fijaron en 35 días la duración máxima de la fase estrogénica

para conseguir una gestación. Sin embargo, no existe unanimidad en los resultados que evalúan este parámetro.

Aunque se han obtenido gestaciones tras períodos superiores a 100 días (Bosch et al, 2001), parece prudente no prolongarlos más de 7 semanas debido a que la incidencia de sangrado por disrupciones es elevada, lo cual lleva a la cancelación del ciclo (Soares et al, 2005). En un estudio publicado en 2005, Soares y colaboradores encuentran relación estadísticamente significativa entre la duración de la terapia estrogénica y las tasas de gestación e implantación (Soares et al, 2005), determinando que a partir de la séptima semana de tratamiento con estrógenos las tasas de gestación e implantación comienzan a descender.

Naturalmente, periodos prolongados de terapia estrogénica están asociados con riesgos mayores de disrupción endometrial y sangrado, circunstancias que llevan a la cancelación del ciclo. Así, la evidencia científica actual nos permite afirmar que:

1. La tasa de gestación e implantación no disminuyen en las 6 primeras semanas de terapia estrogénica.
2. En ausencia de spotting, la administración de E₂ durante más de 7 semanas se asocia a una significativa disminución de la tasa de gestación y tasa de implantación.

v. Protocolo de preparación endometrial: Los ciclos con preparación endometrial artificial difieren de los ciclos naturales, porque la supresión hipofisaria se logra a través de la acción de los ag-GnRH, administrados desde la fase lútea media del ciclo previo si la paciente conserva función ovárica. Existen diferentes protocolos de preparación endometrial exógena, que pueden diferir en las dosis y rutas de administración de los a-GnRH y los esteroides sexuales. Pese a que el papel de las hormonas esteroideas en la maduración del endometrio es indiscutible, los resultados obtenidos de ciclos de

donación de ovocitos, de ciclos FIV y de transferencias de embriones congelados indican que el endometrio soporta condiciones extremas de preparación bastante bien (Andersen et al, 2005).

Administración de estrógenos y progesterona: Es difícil encontrar estudios aleatorizados que comparen la eficacia de las diferentes dosis y rutas de terapia estrogénica y progestagénica en ciclos de donación de ovocitos.

Los protocolos de **administración de estrógenos** son variados como hemos visto anteriormente, existiendo distintos tipos y vías de administración.

La cronología y el patrón de expresión de pinópodos –como marcadores de receptividad endometrial- ha sido descrita ampliamente (Nikas et al, 2002). También ha sido analizada la formación de pinópodos en mujeres con preparación endometrial artificial en ciclos de donación de ovocitos, y no se han observado diferencias entre estos ciclos y los ciclos naturales (Garcia-Velasco et al, 2001) (Oborná et al, 2004).

Algunas de las evidencias actuales son:

- El patrón histológico derivado de la preparación endometrial artificial es similar al observado en los ciclos naturales (Oborná et al, 2004).
- Existe mejor absorción de los estrógenos cuando éstos son administrados vía vaginal que cuando lo son vía oral (Tourgeman et al, 1999).
- La administración de una dosis diaria de 4 mg vía oral de estradiol micronizado produce un grosor y un patrón histológico endometrial que no difiere de manera significativa del alcanzado con dosis de 6 mg (Lewin et al, 2002).

La **administración de progesterona** puede hacerse vía oral, vaginal, subcutánea o intramuscular (im) como vimos en párrafos anteriores. Los niveles plasmáticos alcanzados por vía vaginal son similares a los que se alcanzan por vía parenteral, debido a la absorción linfática y al efecto del primer paso en el endometrio. Una revisión Cochrane concluye que la vía de administración ideal para la progesterona está todavía por determinar (Daya, 2008).

Una revisión en 2010, no encuentra de nuevo diferencias en la administración vaginal o intramuscular de la progesterona, pero sí que determina mejores tasas de embarazo en ciclos de donación de ovocitos cuando el inicio de la administración de la progesterona en la receptora de ovocitos coincide con el día de la recuperación ovocitaria o el día después de la misma, que cuando se comienza el día antes a la recuperación ovocitaria (Glujovsky et al, 2010).

Una interpretación lógica de los datos proporcionados por la literatura médica actual sería que, pese a que los pacientes generalmente responden bien a cualquiera de las vías de administración de los estrógenos y progesterona descritas, existen casos particulares donde la preparación endometrial es más compleja, y son estas mujeres en las que ciertos procedimientos logran conseguir mejores resultados.

vi. Supresión hipofisaria para la preparación endometrial: Las pacientes con función ovárica deben tener su función hipofisaria suprimida previamente a la preparación endometrial, para prevenir el crecimiento folicular y la ovulación, que provocaría una precoz e indeseada luteinización endometrial (Navot et al, 1989). Sin embargo, esta necesidad de supresión ha sido desafiada. Tres estudios aleatorizados han comparado la transferencia de embriones congelados con y sin desensibilización hipofisaria previa (Simon et al, 1998) (Dal Prato et al, 2002) (El-Toukhy et al, 2004). En los tres, en

el grupo en el que no se realizaba una supresión con ag-GnRH, la administración de estrógenos comenzaba el primer día del ciclo menstrual, y la duración media de la fase proliferativa varió desde 14 hasta 21 días. Se registraron signos de luteinización precoz en dos de los estudios (Simon et al, 1998) (Dal Prato et al, 2002), y la incidencia de ciclos cancelados por este motivo en los grupos no suprimidos fue de 1.9% y 4%, respectivamente. En los grupos que llevaron ag-GnRH previos a la administración de estrógenos, no hubo ciclos cancelados por este motivo. En uno de estos estudios (Dal Prato et al, 2002) un 5.3% de los ciclos del grupo no suprimido mostró crecimiento folicular, aunque sin ovulación.

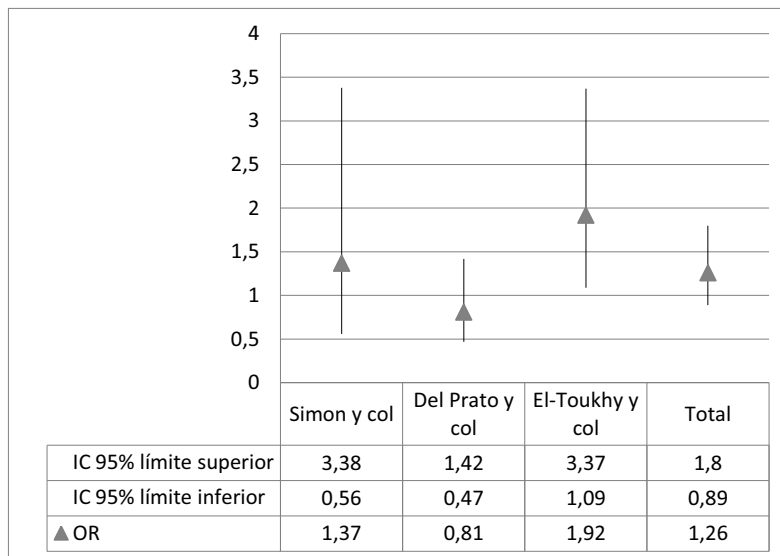
En dos de los estudios en los ciclos con transferencia embrionaria, los resultados en el grupo con desensibilización previa hipofisaria y sin ella no fueron significativamente diferentes. En el último de los estudios presentados (El-Toukhy et al, 2004) el único parámetro controlado durante la administración de estrógenos fue el grosor endometrial, no monitorizándose los posibles signos de luteinización, por lo que no hubo cancelación de ciclos. Los resultados expresados en el mismo como tasa de embarazo, tasa de embarazo clínico y tasa de RNV fueron peores en el grupo de no supresión, y esto pudo deberse a que aquellos casos en los que se dio una luteinización precoz, ésta no se identificó y el ciclo no fue cancelado.

La vía de administración del estrógeno fue distinta en los diferentes estudios: oral, transdérmica y, oral, respectivamente, hecho que dificulta la comparación de los resultados de los mismos. A pesar de que la vía de administración oral de estrógenos parece tener peores resultados, Simon y colaboradores (Simon et al, 1998) obtuvieron con la administración oral, resultados comparables a la vía de administración transdérmica. En todos los estudios, la progesterona se administró vía vaginal.

No hubo diferencias significativas en la tasa de gestación por ciclo iniciado en función del uso de ag-GnRH en el análisis global de los tres estudios (excluyendo los ciclos cancelados debido a razones distintas que la luteinización precoz) (27.5% vs 23.1%; $p=0.2$).

En una publicación de 2008, se analizaron por separado y de manera global los tres estudios previos (Soares et al, 2008), y se presentaron las odds ratio (OR) y el intervalo de confianza (IC) al 95% (figura 8) para alcanzar un embarazo en función del uso de ag-GnRH frente a su no utilización de cada uno de los estudios y de manera global (OR 1.26, 95% IC 0.89-1.80).

FIGURA 7: Representación de la OR e IC para lograr embarazo con el uso de análogos de la GnRH frente a la no utilización en diferentes estudios analizados (Soares et al, 2008).



Pese a que la tasa de gestación no muestra diferencias significativas entre las usuarias de ag-GnRH y las que no lo son, estos estudios confirman que la desensibilización total de la hipófisis no siempre se alcanza únicamente con terapia estrogénica. También, en programas de donación de ovocitos en los que la fase proliferativa dura más de 20 días, la incidencia de luteinización endometrial precoz es esperable que sea más alta que la descrita. Además, la cancelación del ciclo por luteinización es peor tolerada cuando la estimulación de la donante de ovocitos se ha iniciado de manera simultánea, que en los casos en los que los embriones están congelados esperando la preparación endometrial adecuada.

En la revisión publicada en 2008 se valoran los diferentes factores clínicos que puedan alterar la implantación endometrial en el modelo de la donación de óvulos (Soares et al, 2008). En la siguiente tabla (tabla 2) se muestran los distintos factores.

TABLA 2: Tabla que representa como influyen diferentes factores clínicos en la receptividad endometrial en la donación de ovocitos.

| | Punto de corte | Tasa de embarazo | Tasa de aborto | Tasa de emb múltiple | Referencias |
|-------------------------------|----------------|----------------------|----------------|----------------------|--|
| Edad receptora (a) | >45 | Disminuye | Aumenta | | Yaron et al, Moomjy et al, Legro et al, Paulson et al, Noyes et al, Cano et al, Toner et al, Soares et al. |
| IMC (Kg/m²) | >30 | Disminuye | Aumenta | | Wattanakumtornkul et al, Styne-Gross et al, Bellver et al, Bellver et al. |
| Fumadora | >10 cig/día | Disminuye | | Aumenta | Soares et al. |
| Hidrosálpinx | | Disminuye | | | Camus et al, Andersen et al, Strandell et al, Strandell et al, Meyer et al, Bildirici et al, Seli et al, Johnson et al, Stadtmauer et al, Hurst et al. |
| Endometriosis | | No efecto | | | Simón et al, Sung et al, Díaz et al. |
| Adenomiosis | | No datos disponibles | | | |

La edad avanzada de la receptora (>45 años), la presencia de hidrosálpinx, el hábito tabáquico y el IMC elevado son factores bien documentados, que tienen un efecto perjudicial para la receptividad endometrial. Esto se traduce en peores resultados en lo que refiere a tasas de gestación, gestación evolutiva, implantación y tasa de RNV en ciclos de donación de ovocitos.

La endometriosis puede tener relevancia en el contexto de ciclos naturales, pero su potencial efecto negativo parece desaparecer mediante los protocolos de preparación endometrial utilizados en los ciclos de donación de ovocitos. En cuanto a la adenomiosis sí que parece que exista evidencia de peores resultados en ciclos de donación de ovocitos en estas pacientes (Martínez-Conejero et al, 2011).

TABLA 3: Tabla que representa como afecta a la tasa de embarazos diferentes parámetros relacionados con la preparación endometrial.

| PREPARACIÓN ENDOMETRIAL | Tasa de embarazo | Referencias |
|---|-------------------------|--|
| Grosor endometrial | No efecto | Noyes et al, Soares et al, García-Velasco et al, Shapiro et al, Abdalla et al, Borini et al, Remohí et al, Coulam et al. |
| Niveles séricos de estradiol | No efecto | Noyes et al, Soares et al, García-Velasco et al, Michalas et al, Remohí et al. |
| Duración (> 7 sem) | Disminuye | Soares et al, Michalas et al, Yaron et al, Younis et al, Remohí et al, Borini et al. |
| Estrógenos orales vs transdérmicos | No datos disponibles | |
| Vía administración progesterona | No efecto | Daya et al, Manno et al, Lightman et al, Gibbons et al. |
| Supresión hipofisaria | No efecto | Simón et al, Dal Prato et al, El-Toukhy et al. |

En cuanto a los diferentes aspectos de la preparación endometrial (tabla 3) en la receptora de embriones procedentes de ovocitos donados, existen puntos controvertidos, pero los datos actuales apuntan a la no influencia del grosor endometrial, ni de los niveles séricos de estradiol, ni de la vía de administración de la progesterona, ni de la supresión hipofisaria o no previa a la preparación endometrial. En cuanto a la administración vía oral o transdérmica de los estrógenos no existen datos concluyentes suficientes. Sí que parece influir negativamente una duración mayor a 7 semanas de la terapia estrogénica durante la preparación endometrial (Soares et al, 2008).

b) CONSIDERACIONES PSICOSOCIALES.

La donación de ovocitos es, sin duda, de entre todos los tratamientos de reproducción asistida, el que presenta una mayor implicación de los aspectos de carácter psicosocial.

En un estudio sobre las donantes de ovocitos se afirma que si bien las donantes, en general no se arrepienten de su decisión de donar, no siempre se sienten plenamente satisfechas de su experiencia (Kalfoglou et al, 2000). En otra revisión más reciente acerca de la donación de ovocitos, en la que se investiga acerca de las actitudes, los motivos y las experiencias de las donantes se concluye que, en general, la actitud hacia la donación de ovocitos es positiva. El procedimiento de la donación es bien tolerado y la mayoría de las mujeres refieren alto grado de satisfacción (Purewal y van den Akker, 2009).

Es labor de los clínicos conseguir que dicho proceso resulte satisfactorio para la donante. La calidad del cuidado médico, y el nivel de implicación de la paciente en el proceso, son los factores que más influyen sobre el grado de satisfacción. Para aumentarlo, deberemos además, minimizar desplazamientos a la clínica, limitar el número de inyecciones, reducir el riesgo de hiperestimulación ovárica, proporcionar seguimiento médico en caso de ser necesario, y compensar adecuadamente la pérdida de horas de trabajo y desplazamientos. Todo ello debe ser acompañado de un trato respetuoso y afectuoso, que puede acompañarse incluso de información acerca de los resultados siempre que se mantenga escrupulosamente el principio de anonimato (Fernández-Sánchez et al, 2009) (Santalla et al, 2008).

El otro gran aspecto a considerar, lo constituye, sin duda, la actitud de la pacientes subsidiaria de una donación de ovocitos; cuando a una mujer se le indica como tratamiento de elección, son muchas las dudas que se le plantean. Son, en general, el origen de los ovocitos y las características físicas, psicológicas y sociales de las donantes, los aspectos que mayor preocupación causan en las pacientes. Una explicación detallada del proceso de selección de

las donantes ayudará a reducir la ansiedad que el proceso genera. En segundo lugar, suele ser necesaria una labor de mentalización sobre la paciente acerca del grado de maternidad del futuro hijo. La potenciación de las vertientes biológica y educacional de la maternidad sobre la genética, resulta fundamental a la hora de ayudar a la pareja a tomar una decisión. Los estudios más recientes, revelan un desarrollo social y emocional de los niños nacidos mediante esta técnica, absolutamente normal, con una relación afectuosa con sus familias. Parece lógico pensar que si el apoyo psicológico es fundamental en los centros de reproducción asistida en general, mucho más crucial lo será en aquellas pacientes con indicación de donación de gametos, para trabajar todos estos aspectos desde antes de tomar la decisión, durante el tratamiento y posteriormente, todo el tiempo que la paciente lo solicite. Esta atención debe ofrecerse sobre las dos partes implicadas en el proceso, es decir, sobre las receptoras y sobre las donantes. De la actitud de ellas sobre el tratamiento depende, en gran medida, el éxito de un programa de donación de ovocitos (Fernández-Sánchez et al, 2009) (Santalla et al, 2008).

6. ANÁLOGOS DE LA HORMONA LIBERADORA DE GONADOTROFINAS.

a) HORMONA LIBERADORA DE GONADOTROFINAS O GnRH.

El hallazgo y dilucidación de la estructura química primaria de la hormona hipotalámica liberadora de gonadotrofinas o GnRH fue un hito fundamental en la medicina reproductiva.

La GnRH es el mensajero encargado de activar, o en su defecto, intentar interrumpir la actividad del eje reproductivo. Se trata por lo tanto de una neurohormona: sustancia que se vierte a la sangre, sintetizada por neuronas de acuerdo con la información recibida a través de neurotransmisores. Las células secretoras de GnRH (alrededor de 2000 en total) se localizan en las zonas del núcleo arcuato y del área preóptica.

Introducción

El gen que codifica la proteína precursora de 92 aminoácidos para la GnRH está localizado en el brazo corto del cromosoma 8 (Hayflick et al, 1989). La proteína precursora para la GnRH contiene en el siguiente orden: una secuencia de señal de 23 aminoácidos, el decapeptido de GnRH, un lugar de procesamiento proteolítico de 3 aminoácidos y una secuencia de 56 aminoácidos denominada GAP (péptido asociado a la GnRH) (Nikolics et al, 1985). La GAP es un potente inhibidor de la secreción de prolactina y un estimulador de las gonadotropinas; sin embargo, no se ha establecido una función fisiológica para la GAP. Su función principal podría ser proporcionar un soporte de conformación apropiado a la GnRH.

Se sabe que la GnRH tiene funciones autocrinas-paracrinas en todo el organismo. Está presente en tejidos nerviosos y no nerviosos, y hay receptores en numerosos tejidos extrahipofisarios (por ej. el folículo ovárico y la placenta). Aunque la GnRH es idéntica en todos los mamíferos, hay otras formas de no mamífero, lo que indica que la molécula de GnRH existe desde al menos 500 millones de años (Sherwood et al, 1993) (King et al, 1995).

Estructuralmente es un decapeptido (piro) Glu - His - Trp - Ser - Tir - Gli - Leu - Arg - Pro - Gli - NH₂ que se fabrica en el citoplasma cercano al núcleo y migra a lo largo de los microtúbulos que se disponen en los axones hasta las terminaciones dendríticas que desembocan cerca de los capilares del sistema vascular hipotálamo hipofisario. La mayoría de terminaciones de las neuronas secretoras de GnRH acaban en un plexo capilar de la eminencia media donde liberan el decapeptido que es conducido hasta el lóbulo anterior de la hipófisis por los vasos de este sistema "portal" hipofisario ultracorto.

La GnRH tiene una vida media muy corta, de tan solo 2-4 minutos, ya que es muy sensible a los enzimas proteolíticos y este corto circuito vascular la protege de la degradación enzimática en el torrente circulatorio y permite la transmisión rápida de información entre hipotálamo e hipófisis. Esto permite que sus

efectos sean muy inmediatos y que mensajes ligados al ritmo de secreción como los pulsos puedan amplificarse (Calaf et al, 2009).

Se sabe que una segunda forma de GnRH, conocida como GnRH-II, existe en otras muchas especies. La GnRH-II consiste en la secuencia siguiente: (piro) Gln – His – Trp – Ser – His – Gli – Trp – Tir – Pro – Gli. Motivada por su existencia en otras especies, la búsqueda de su presencia en seres humanos ha acabado teniendo éxito. El gen que codifica la GnRH-II está localizado en el cromosoma humano 20p13 y es obviamente diferente del gen de la GnRH-I, en 8p11,2-p21 (White et al, 1998). Ambos genes producen un péptido con una secuencia de señal, un decapeptido de GnRH, un lugar proteolítico y un GAP. La expresión de GnRH-II es máxima fuera del encéfalo. El análisis de la evolución de la GnRH indica tres formas principales. La GnRH localizada en el hipotálamo (GnRH-I), las formas en los núcleos del mesencéfalo y fuera del encéfalo (GnRH-II) y las formas en varias especies de peces (GnRH-III), lo que denota la aparición de las diversas formas antes de la aparición de los vertebrados (White et al, 1998).

La secuencia central, Tir - Gli - Leu - Arg, es el segmento no conservado de la GnRH, el segmento con la mayor variabilidad en otras especies. Por tanto, las sustituciones en este segmento son bien toleradas. Estas modificaciones de algunos de los péptidos pueden potenciar su vida media y su afinidad al receptor y se usan en terapéutica como análogos agonistas y antagonistas (Calaf et al, 2000) (Calaf et al, 2009).

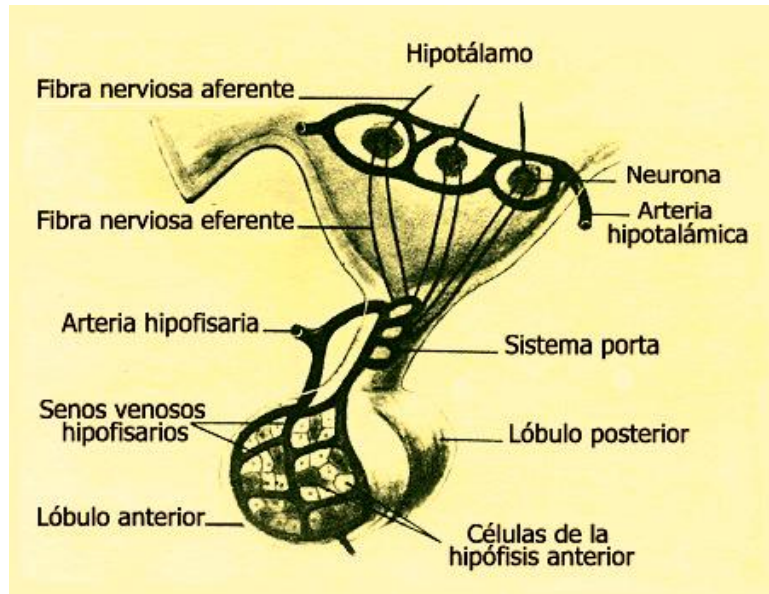
TABLA 4: Secuencia de aminoácido de los dos subtipos de GnRH naturales.

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
|--------------------|------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|---------------------|
| GnRH-I nat | pGlu | His | Trp | Ser | Tir | Gli | Leu | Arg | Pro | Gli-NH ₂ |
| GnRH-II nat | pGlu | His | Trp | Ser | His | Gli | Trp | Tir | Pro | Gli-NH ₂ |

b) SECRECIÓN DE LA GnRH.

La GnRH circula por los axones y es liberada en las terminaciones de las células neuroendocrinas de forma pulsátil a la circulación portal (Knobil, 1980). Esta actividad intermitente de las células del núcleo arcuato se mantiene en condiciones experimentales y no se conocen con exactitud sus mecanismos de control aunque se sabe que estados funcionales del SNC como el sueño y la vigilia intervienen en la regulación que también es modulada por los esteroides sexuales. De tal forma que podemos decir que el control del ciclo reproductor depende de la liberación de GnRH, que a su vez depende de relaciones complejas y coordinadas entre la GnRH, otras neurohormonas, las gonadotrofinas hipofisarias y los esteroides gonadales. La interacción entre estas sustancias está gobernada por efectos de retroalimentación, tanto estimuladores positivos como inhibidores negativos. El asa larga de retroalimentación se refiere a los efectos de retroalimentación de las concentraciones circulantes de las hormonas de las glándulas efectoras, algo que ocurre tanto en el hipotálamo como en la hipófisis. El asa corta de retroalimentación indica una retroalimentación negativa de las hormonas hipofisarias sobre su propia secreción, probablemente merced a efectos inhibitorios sobre las hormonas liberadores en el hipotálamo. La retroalimentación ultracorta se refiere a la inhibición por la hormona liberadora de su propia síntesis. Estas señales y las procedentes de centros superiores en el sistema nervioso central pueden modificar la secreción de GnRH mediante una serie de neurotransmisores, sobre todo dopamina, noradrenalina y endorfina, pero también serotonina y melatonina (Speroff y Fritz, 2006).

FIGURA 8: Representación del eje hipotálamo hipofisario.



La experiencia clínica ha puesto de manifiesto su importancia en la regulación de la respuesta hipofisaria. En el momento en el que se dispuso de GnRH sintética se pudo comprobar que su administración crónica tan solo producía una respuesta transitoria en la actividad de las células gonadotropas de la hipófisis. Knobil (Krey et al, 1975), en estudios ya clásicos en primates a los que se había destruido el núcleo arcuato, demostró que la pulsatilidad del mensaje hipotalámico era imprescindible para una función adecuada de la respuesta gonadotropa. Ello es la consecuencia de los mecanismos de regulación negativa y desensibilización. La fijación de la molécula de GnRH a su receptor da lugar a un proceso de agregación de los receptores que están ocupados y la creación de invaginaciones que finalmente se internalizan en el citoplasma de la célula gonadotropa. La ausencia temporal de los receptores de la superficie celular disminuye su capacidad para recibir el mensaje hormonal y "neutraliza" temporalmente la capacidad de secreción. Este proceso de regulación fisiológica ha sido aprovechado para bloquear terapéuticamente la función gonadotropa. Los análogos agonistas son sustancias que evitan la degradación enzimática y

aumentan la afinidad por el receptor al que permanecen fijados durante más tiempo. Con ello se induce una desensibilización de larga duración de las células hipofisarias mientras que los antagonistas ocupan el receptor con gran afinidad desplazando a la GnRH nativa y evitando que ejerza su función (Calaf et al, 2009).

c) RECEPTORES DE LA GnRH.

La primera acción de la GnRH para ejercer su efecto en el gonadotropo, es reconocer y unirse con gran afinidad y especificidad a un receptor de membrana, el GnRH-R. Éste es una estructura de 328 aminoácidos en el humano, con variantes según la especie, y siete dominios transmembrana acoplados a la proteína G. El primer receptor hallado, GnRH I-R, carece de una región C terminal intracitoplasmática como se encuentra en otros receptores ligados a proteína G. También el tercer loop intracelular es relativamente corto. Ambas características son importantes para la internalización y desensibilización de los receptores que utilizan la proteína G (Brothers et al, 2002). En cambio, un receptor descrito en peces, anfibios y también en primates (Neill, 2001), el GnRH II-R, tiene una pequeña cola carboxílica citoplasmática y luego de su unión al GnRH II, se fosforila, internaliza y desensibiliza. En resumen, el hallazgo de variantes moleculares del GnRH en las diversas especies más el distinto efecto del decapeptido según el tejido, llevó lógicamente a postular la posibilidad de más de un GnRH-R. Así se identificaron algunos de ellos en vertebrados, que difieren en el tercer loop extracelular y la cola intracelular, que podría distinguir entre las distintas variantes del péptido (Wang et al, 2001) (Neill, 2002). Se postula que un GnRH-R ancestral, dio origen a distintos receptores que evolucionaron en paralelo con sus ligandos.

El GnRH-R se identificó primero en los gonadotropos adenohipofisarios. Con el aislamiento del GnRH-R cDNA, la expresión de GnRH-R mRNA fue hallado en otras áreas como distintas regiones cerebrales y órganos tales como ovario, testículo y placenta (Neill, 2002). Experimentalmente se observó que en

muchos órganos el efecto del GnRH inhibe la diferenciación y crecimiento celular. Esto se debería a la existencia de distintos receptores o cascada de segundos mensajeros, diferentes a la que emplearía el decapeptido en el gonadotropo. Estas diferencias en el receptor GnRH y/o en el segundo mensajero según el órgano, tiene enorme importancia práctica pues abre la posibilidad de hallar análogos con efecto selectivo y exclusivo sobre un grupo celular. Nuevos estudios serán necesarios para precisar la importancia relativa de estos receptores en la fisiología reproductiva del humano, y los efectos farmacológicos de los a-GnRH.

En cuanto al modelo tridimensional molecular del receptor, incluye la disposición hacia el exterior de un "bolsillo" hidrofílico determinado por la disposición de los loops, con cuatro lugares de interacción con el agonista, y que resulta de importancia para la unión de los fármacos. El número de GnRH-R en la hipófisis es regulado por el estado endocrino. Aumentan justamente antes del pico preovulatorio de gonadotrofinas y luego decrece. Su cantidad aumenta por la gonadectomía y decrece por los andrógenos, la gestación y la lactancia. Muy importante es el efecto que ejerce el propio decapeptido sobre su receptor. La acción dependería de la concentración y frecuencia de los pulsos que llegan a los receptores. Así, se ha observado que la respuesta secretora es mayor ante un segundo pulso de GnRH que ante el primero, si los pulsos están separados por un tiempo definido. A este efecto se lo denomina de *self-priming* o autopotenciación. A cantidades fisiológicas del péptido, se observa inicialmente una caída en el número de receptores (down regulation), con menor respuesta del gonadotropo. Esta fase primera es seguida por una segunda de aumento en el número de receptores (up regulation), pero que no implica una mayor sensibilidad del gonadotropo. Esto se debería a que los gonadotropos responden cerca del máximo secretor, con sólo 20 % de los receptores ocupados. Concentraciones pequeñas, fisiológicas, del decapeptido estimulan la síntesis del receptor y lo mantiene a niveles fisiológicos, en cambio concentraciones altas y constantes provocan down regulation de los receptores

y desensibilización de los gonadotropos, por complejos mecanismos como la internalización del complejo receptor-GnRH y modificaciones en los segundos mensajeros. La importancia de estos eventos es que explicarían la base del uso farmacológico del GnRH y de sus agonistas, ya que su administración masiva y continua lleva, luego de una descarga inicial de FSH y LH, a la supresión de la secreción gonadotrófica (Libertun, 2004).

d) ANÁLOGOS DE LA GnRH.

Los análogos de la GnRH son péptidos sintéticos que han sufrido modificaciones en su estructura para alterar su afinidad con el receptor de la GnRH o para retrasar su aclaramiento metabólico, aumentando así su vida media y su potencia. La GnRH nativa se desdobra rápidamente en las posiciones Gli-Leu 7 y Pro-Gli 10, lo que conlleva una vida media de menos de 10 minutos.

Las sustituciones en los aminoácidos en las posiciones 6 ó 10 pueden causar un aumento de la afinidad de unión con el receptor de GnRH y una disminución de la degradación por las peptidasas hipofisarias. Agentes con estas características simulan una infusión constante de GnRH, lo que implica una internalización de los complejos agonista-receptor con una eventual regulación a la baja de los receptores. El efecto conseguido es la pérdida de la estimulación endógena de gonadotrofinas y un hipogonadismo reversible (Fernández et al, 2008).

En la actualidad se han desarrollado dos tipos de análogos de la GnRH:

1. Los **agonistas de la GnRH** tienen mayor afinidad sobre el receptor que la GnRH natural. Hay dos formulaciones diferentes de ag-GnRH:
 - i. Formulación corta, que requiere una administración diaria, vía inyectable subcutánea (sc) o intranasal (in);
 - ii. Formulación de liberación prolongada, usualmente administrada en una única inyección intramuscular (im).

La administración con a-GnRH de corta duración provocan una supresión de menor duración y permiten una rápida recuperación de la secreción de

gonadotrofinas después de su aclaramiento. Pero la administración diaria repetida durante muchos días la hacen menos confortable para las pacientes. Por ello, la administración de una única dosis de liberación prolongada la harían más conveniente, en términos de simplicidad y cumplimentación. Sin embargo, la persistencia innecesaria y la acción potencialmente desfavorable de los a-GnRH durante la fase lútea y gestación temprana, han cuestionado su uso (Dal Prato et al, 2004).

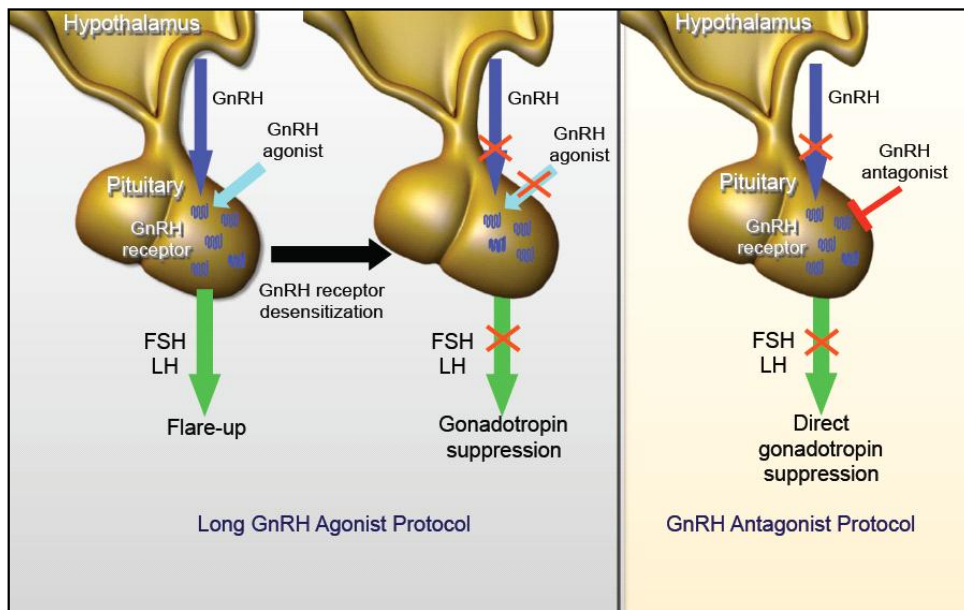
La acción agonista inicial (el denominado efecto de hiperproducción o flare up) se asocia a un incremento de las concentraciones circulantes de FSH y LH. Esta respuesta es máxima al principio de la fase folicular, cuando se han combinado la GnRH y el estradiol para crear una gran reserva de gonadotrofinas. Después de 1 a 3 semanas, la desensibilización y la regulación a la baja de la hipófisis originan un estado hipogonadal hipogonadotrópico. La respuesta inicial obedece a la desensibilización, mientras que la respuesta mantenida se debe a la pérdida de receptores y al desacoplamiento del receptor de su sistema efector. Además, mecanismos post receptor inducen la secreción de gonadotrofinas biológicamente inactivas que, sin embargo, se pueden seguir detectando mediante inmunoanálisis. (Speroff y Fritz, 2006).

TABLA 5: Agonistas de la GnRH de uso clínico, con los cambios en los aminoácidos pertinentes respecto a la estructura original de la GnRH.

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
|---------------------|---|---|---|---|---|--------------------|---|---|---|--------------|
| Leuprolida | | | | | | D-Leu | | | | NH-Etilaida |
| Buserelina | | | | | | D-Ser (tBU) | | | | NH-Etilamida |
| Nafarelina | | | | | | D-Naftilalanina(2) | | | | |
| Histrelina | | | | | | D-His (Bzl) | | | | NH-Etilamida |
| Goserelina | | | | | | D-Ser (tBU) | | | | AZA-Gli |
| Deslorelina | | | | | | D-Trp | | | | NH-Etilamida |
| Triptorelina | | | | | | D-Trp | | | | |

2. Los **antagonistas de la GnRH** actúan de forma competitiva. Se sintetizan con múltiples sustituciones de aminoácidos. Dichos antagonistas se unen al receptor de GnRH y producen una inhibición competitiva de la GnRH natural. Así pues, los ant-GnRH causan una disminución inmediata de las concentraciones de gonadotrofinas con un efecto terapéutico inmediato en 24-72 horas. Tras una única administración subcutánea de 0'25 mg, los niveles séricos del ant-GnRH aumentan rápidamente, alcanzando un máximo en el plazo de 1-2 horas, de tal manera que se observa una casi inmediata supresión de las gonadotrofinas y hormonas sexuales. La excreción tiene lugar por vía biliar y renal con una semivida de eliminación de aproximadamente 20-80 horas. Los primeros productos carecían de potencia o tenían efectos adversos a causa de la liberación de histamina. Actualmente se dispone de nuevos productos para el tratamiento de la endometriosis, el cáncer de próstata, la pubertad precoz y la esterilidad femenina.

FIGURA 9: Representación del mecanismo de acción de los ag-GnRH vs los ant-GnRH.



Con estos a-GnRH se busca alguna ventaja sobre el deca péptido original para su utilización médica; por ejemplo, aquéllos de larga duración pueden requerir sólo una aplicación mensual. En general, los a-GnRH tienen mayor afinidad por el receptor que la hormona endógena y permanecen unidos más tiempo.

No obstante, el uso de ag-GnRH tiene ciertos inconvenientes. En primer lugar, hay una estimulación inicial de la secreción gonadotrófica que puede durar días o semanas, y provocar efectos indeseables y contraproducentes al comienzo del tratamiento. Por otro lado, al ser sólo activo por vía inyectable o por vía nasal hace más difícil su dosificación, con posible aparición de efectos locales en la zona de inyección. En general son fármacos caros. Todas estas razones pueden afectar la aceptación por parte del paciente. Llevó años conseguir ant-GnRH que reunieran las condiciones para su uso ventajoso en clínica. Estos ant-GnRH se unen al GnRH-R y bloquean la llegada del deca péptido endógeno, lo que

Introducción

lleva directamente a la hiposecreción de FSH y LH, es decir sin la descarga inicial de las mismas como lo hacen los ag-GnRH. Actuarían por competencia del ant-GnRH con el péptido endógeno por unirse al receptor y el efecto es reversible.

Llamativamente si bien ambas gonadotropinas caen abruptamente por los ant-GNRH, el descenso es menos drástico para la FSH, sugiriendo la coexistencia de otro mecanismo regulador para esta hormona. Los nuevos ant-GNRH brindarían una mejor farmacodinamia, baja toxicidad y mayor tolerabilidad y permitirían una amplia aplicación clínica por lo que se emplearían en aquellas situaciones en las que se desee inhibir de manera reversible la secreción de gonadotropinas (Elter et al, 2001) (Broqua et al, 2002).

A modo de resumen, y de manera muy general, podemos ver las principales diferencias entre los ag-GnRH y ant-GnRH en la tabla 6.

TABLA 6: Tabla resumen de las características principales de los ant-GnRH y los ag-GnRH.

| | ANTAGONISTAS GnRH | AGONISTAS GnRH |
|----------------------------------|---|---|
| ACCIÓN SOBRE RECEPTORES | Unión competitiva a receptores | “Down regulation” de los receptores y desensibilización de las células gonadotróficas |
| FLARE UP | No “flare up” | Sí “flare up” |
| DEPENDENCIA DOSIS | Muy dosis dependiente | No dosis dependiente |
| SUPRESIÓN FSH Y LH | Casi inmediata supresión de FSH y LH | Necesitan 1-3 semanas |
| RECUPERACIÓN HORMONAL | Recuperación inmediata al suspender el tratamiento | Al menos 6 semanas |
| INTERFERENCIA POSRECEPTOR | No interfieren con los sucesos intracelulares después de la unión al receptor | Sí interfieren con sucesos intracelulares postreceptor |

e) INDICACIONES EN TRATAMIENTOS DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA.

1. ESTIMULACIÓN OVÁRICA CONTROLADA (EOC).

Las gonadotrofinas exógenas constituyen la base de la estimulación folicular en las Técnicas de Reproducción Asistida (TRA), en concreto la FSH. Existen varios preparados disponibles. Algunos contienen sólo FSH y otros asocian, hormona luteinizante (LH).

Los primeros a-GnRH que se utilizaron en las TRA fueron los ag-GnRH. En un principio, los ag-GnRH se contemplaron como adyuvantes en mujeres con antecedentes de resultados adversos en la FIV, tales como un pico de LH prematuro o una luteinización prematura, produciéndose ovocitos de baja calidad. Sin embargo, hoy en día su uso no sólo evita el pico prematuro de LH, sino que también produce un incremento de las probabilidades de embarazo, al aumentar el número de ovocitos aspirados y fecundados, y, por tanto, aumentando también el número de embriones disponibles para transferir (Liu et al, 1992) (Hughes et al, 1992).

i. **Uso de a-GnRH en EOC para inseminación artificial (IA).**

Se han empleado **ag-GnRH** en IA para prevenir los picos prematuros de LH por su efecto inhibitor de la secreción de gonadotrofinas endógenas. Sin embargo, la asociación de ag-GnRH no incrementa de manera significativa las tasas de embarazo y, además se asocia a un mayor riesgo de embarazo múltiple (OR: 2'86; IC 95%: 1'08-7'94) (Cantineau et al, 2008).

El uso de **ant-GnRH** en la IA se ha sugerido para la prevención de picos de LH y la luteinización prematura en los ciclos estimulados. También se ha comprobado que la asociación de ant-GnRH a las gonadotrofinas en IA consigue un incremento en la tasa de embarazos (OR: 1'56; IC 95%: 1'05-2'33). Este efecto beneficioso parece estar relacionado con la presencia de un mayor número de folículos dominantes el día de la administración de hCG, mediado por su efecto inhibitor de posibles picos endógenos de LH.

Además, el uso de ant-GnRH facilita la programación de la IA (Cantineau et al, 2008).

ii. Uso de a-GnRH en EOC para fecundación in vitro-inyección intracitoplasmática (FIV-ICSI).

Se ha visto que la asociación de a-GnRH a la estimulación con gonadotrofinas permite controlar la secreción endógena de LH. De esta manera se puede prevenir el pico prematuro de LH y la consiguiente luteinización de los folículos, lo que deriva en un mejor control del ciclo, permite una menor tasa de cancelaciones y aumenta el número de folículos reclutados y de ovocitos obtenidos.

i) Uso de agonistas GnRH en EOC para FIV-ICSI.

Existen tres protocolos fundamentales para la FIV en los que se utilizan ag-GnRH, basados en el momento del ciclo en que empiezan a utilizarse y en su duración:

- a) Protocolo largo: consiste en la administración de ag-GnRH hasta que es evidente la supresión de la actividad ovárica, en el transcurso de aproximadamente 14 días, momento en el cual se inicia la administración de gonadotrofinas. El ag-GnRH empieza a administrarse a mitad de la fase lútea del ciclo previo.
- b) Protocolo corto y ultracorto: el ag-GnRH se inicia al principio del ciclo de estimulación con gonadotrofinas, lo que permite conseguir un doble objetivo: en primer lugar, aprovechar el efecto inicial de los ag-GnRH, obteniendo una liberación endógena de gonadotrofinas (efecto flare-up), que contribuiría al reclutamiento folicular; y además, el efecto de bloquear el pico endógeno de LH. Los ag-GnRH se administran entre 10 y 14 días en los protocolos cortos y alrededor de tres días en los protocolos ultracortos.

ii) Uso de antagonistas GnRH para EOC para FIV-ICSI.

Se han desarrollado dos tipos de protocolo con ant-GnRH para la estimulación ovárica controlada:

- a) Protocolo de dosis múltiple: consiste en la administración diaria del ant-GnRH desde el sexto día de estimulación ovárica (pauta fija) con gonadotrofinas hasta el día de la administración del hCG, incluido. En un estudio realizado por Escudero y colaboradores en 2004 (Escudero et al, 2004), comparando la administración del ant-GnRH el sexto día de la estimulación vs su administración cuando el folículo mayor alcanzaba un diámetro de 14 mm (pauta fija vs flexible), no se registraron diferencias estadísticamente significativas en cuanto a resultados (días duración de la estimulación, curvas de estradiol sérico y LH, nº de ovocitos recuperados, tasa de implantación, tasa de gestación), pero sí una menor dosis de ant-GnRH empleados en los casos de pauta flexible. Los estudios sobre la obtención de una dosis mínima eficaz han establecido que la dosis de 0'25 mg/día es la más adecuada para este tipo de protocolo (Diedrich et al, 1994) (Albano et al, 1997).
- b) Protocolo de dosis única: consiste en la administración de una única dosis de ant-GnRH cuando el folículo mayor ha alcanzado 14 mm de diámetro. Si transcurridas 72 horas no se ha administrado la hCG, se administra una segunda inyección de ant-GnRH (Puregon, 1998). El estudio sobre la dosis definitiva estableció que la dosis mínima eficaz es de 3 mg de ant-GnRH en el protocolo de dosis única.

iii. Evidencias actuales (Maheshwari et al, 2011) (Tarlantzis et al, 2006).

- i) Eficacia de los **ciclos de FIV con ag-GnRH frente a ciclos sin ag-GnRH**: mayor tasa de embarazos y menor tasa de cancelación con ag-GnRH. No diferencias en cuanto a embarazo múltiple ni aborto espontáneo. No datos sobre tasa de recién nacidos vivos (Hughes et al, 1992).

- ii) **Protocolo largo con ag-GnRH frente a corto y ultracorto:** mayor tasa de embarazo clínico con protocolo largo (Daya, 2007) comparado con un protocolo corto o ultracorto (Maheshwari et al, 2011).
- iii) **Protocolos con a-GnRH: preparados de depósito frente a preparados de uso diario:** no diferencias en cuanto a tasa de embarazo clínico por mujer, tasa de embarazo en curso por ciclo, tasa de gestación, tasa de aborto, e incidencia de síndrome de hiperestimulación ovárica (SHO). Mayor número de ampollas de gonadotrofinas para lograr el mismo efecto y mayor duración de la estimulación ovárica con a-GnRH de depósito (Albuquerque et al, 2005) (Albuquerque et al, 2013).
- iv) **Uso de ant-GnRH:** en una revisión en 2006 se publicó una menor tasa significativa de embarazo clínico y embarazo evolutivo con la utilización de ant-GnRH frente a ag-GnRH en protocolo largo (Al-Inany et al, 2001) (Al-Inany et al, 2006), una menor incidencia de SHO grave estadísticamente significativa a favor de los ciclos con ant-GnRH y una mayor duración de la estimulación con ag-GnRH. No hubo diferencias en la tasa de aborto, ni en el número de ampollas de gonadotrofinas empleadas (Al-Inany et al, 2006). Un segundo meta-análisis publicado ese mismo año recogió datos de 22 estudios (Kolibianakis et al, 2006), y en este segundo estudio, se tomó como variable de resultado principal la tasa de "niño en casa". No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ag-GnRH y ant-GnRH (OR 0.86, IC 95%: 0.72 a 1.02) en el porcentaje de tasa de "niño en casa". Tampoco se encontraron diferencias significativas al realizar análisis por subgrupos. Por último, en un meta-análisis más reciente, en el que se revisan 45 ensayos, se concluye que el uso de ant-GnRH frente a los protocolos largos con ag-GnRH se asocia a una gran reducción en el SHO, sin encontrar diferencias en la tasa de recién nacidos vivos (Al-Inany et al, 2011).
- v) **Administración de dosis única de ant-GnRH frente a dosis múltiple:** no se encontraron diferencias en las tasas de embarazo ni de transferencia embrionaria (Olivennes et al, 2003) (Wilcox et al, 2005). El protocolo de

dosis única supuso menor número de inyecciones a la paciente (Wilcox et al, 2005).

- vi) **Pauta de inicio fija o flexible con ant-GnRH:** tasas de embarazo más bajas en el protocolo flexible frente al protocolo fijo (OR 0.70, IC 95%: 0.47 a 1.45) (Al-Inany et al, 2005), sin alcanzar la significación estadística.

2. PREPARACIÓN ENDOMETRIAL EN RECEPTORAS DE OVOCITOS.

Está demostrado que el uso de terapia de reemplazo hormonal para la sincronización de los ciclos entre la receptora de ovocitos y la donante, proporciona buenos resultados, similares a los obtenidos con el ciclo natural. En las pacientes con la función ovárica conservada, se emplean a-GnRH para provocar una supresión hipofisaria, pudiendo proporcionar una sincronización entre la donante y la receptora, evitando así picos ovulatorios espontáneos que abrirían la ventana de implantación de la receptora en asincronía con la donante.

En los ciclos naturales, la proliferación del endometrio y la maduración secretora están estrechamente coordinadas con el crecimiento folicular, la ovulación y la función luteínica; el desarrollo del endometrio y el embrión presenta una sincronía natural (Speroff y Fritz, 2006). En los ciclos de donación de óvulos debe organizarse la misma cuidadosa sincronización. El "margen de receptividad endometrial", el intervalo durante el cual se produce normalmente la implantación, es relativamente estrecho y tiene una duración aproximada de 3 días, tal vez un máximo de 5 días (Navot et al, 1991) (Navot et al, 1991). El comienzo y la duración del margen de implantación se controlan principalmente mediante la duración de la exposición a la progesterona. La duración de la fase proliferativa precedente es extremadamente flexible y puede variar ampliamente (Navot et al, 1991), como ocurre de forma natural en las mujeres con oligoovulación.

Para sincronizar el desarrollo endometrial con los embriones que se van a transferir, las receptoras con ovarios funcionantes se someten inicialmente a una regulación a la baja mediante un ag-GnRH, tratamiento que las mujeres con fallo ovárico no necesitan. En cualquier caso, tal y como explicamos anteriormente, se utiliza un régimen programado de sustitución secuencial con estrógenos para estimular el ciclo natural y promover el desarrollo y la maduración normales del endometrio. Se ha usado con éxito una amplia variedad de regímenes terapéuticos para lograr el desarrollo y la maduración controlados del endometrio, tal y como se ha expuesto. Actualmente no hay evidencia suficiente para poder establecer el protocolo de preparación endometrial más adecuado y con mejores resultados (Glujovsky et al, 2010).

i. Evidencias sobre los ag-GnRH en donación ovocitaria:

- La utilización de a-GnRH en mujeres receptoras de óvulos donados, no afectan a los resultados en cuanto a tasa de implantación (Remohí et al, 1994).
- Un estudio prospectivo (Neuspiller et al, 1998) en ciclos de donación de ovocitos comprobó, que al comparar la desensibilización hipofisaria en la receptora con un ag-GnRH de liberación corta (acetato leuprolide forma corta) vs dos de liberación prolongada (acetato leuprolide forma prolongada y triptorelina), se lograban resultados similares en la tasa de gestación e implantación.
- En el año 2001, Vargas y colaboradores (Vargas et al, 2001), tras realizar una revisión retrospectiva de ciclos de donación ovocitaria que incluyó a mujeres con función ovárica tratadas con ag-GnRH de liberación prolongada, concluyeron que las receptoras a las que la transferencia embrionaria se les realizaba cuando el ag-GnRH de depósito era todavía activo, tenían un aumento de riesgo de aborto mientras el a-GnRH ejercía su efecto.

- Otros autores encontraron mejores tasas de gestación e implantación con el uso de ag-GnRH de larga duración (30'6% y 17'7% respectivamente) que con los de corta duración (10'4% y 5'6% respectivamente) (Borini et al, 1995).
- Existe un estudio prospectivo aleatorizado (Dal Prato et al, 2002) en el que se compara la preparación endometrial por vía transdérmica en un protocolo de dosis creciente con y sin desensibilización hipofisaria. Pese a que este estudio está realizado en mujeres sometidas a transferencia de embriones criopreservados, los resultados no mostraron diferencias entre ambos protocolos, aunque se observaron mejores tasas de gestación, implantación y aborto en el grupo sin desensibilización hipofisaria.
- Una revisión de la Cochrane en 2010 (Glujovsky et al, 2010) no encuentra diferencias en la tasa de embarazo clínico entre la utilización de ag-GnRH o su no utilización en mujeres que se sometieron a una transferencia de embriones con ovocitos donados o a una transferencia de embriones descongelados.

ii. Evidencias sobre los ant-GnRH en donación ovocitaria:

- La inmensa mayoría de los estudios publicados con ant-GnRH se han llevado a cabo en ciclos de estimulación ovárica controlada por lo que el endometrio estaba expuesto a dosis estrogénicas suprafisiológicas.
- En 2009, Prapas y colaboradores (Prapas et al, 2009) publicaron un estudio prospectivo aleatorizado en mujeres menopáusicas receptoras de ovocitos en el que se evaluó la receptividad endometrial en ciclos sustituidos en función de la administración del ant-GnRH a la receptora de manera concomitante a la administración del ant-GnRH en la donante. Si bien el tamaño muestral del estudio fue reducido, sí que se sugirió que la administración del ant-GnRH en la fase proliferativa no afectaría al desarrollo endometrial de las receptoras de programas de donación de ovocitos ni a las tasas de gestación e implantación.

- El posible impacto de los ant-GnRH sobre la receptividad endometrial no se ha esclarecido todavía. Simón y colaboradores (Simón et al, 2005), estudiaron el desarrollo endometrial en las donantes de ovocitos tratadas con ant-GnRH a bajas o altas dosis comparándolo con los ciclos naturales y los ciclos con ag-GnRH de administración corta o diaria. En el día hCG + 7, tanto el dataje endometrial, como los receptores de esteroides y la presencia de pinópodos endometriales, resultaron comparables entre el grupo con ant-GnRH y el ciclo natural, observándose un retraso en la maduración endometrial en el grupo tratado con ag-GnRH. Con respecto a los genes implicados en la ventana de implantación, el patrón de expresión fue similar en el ciclo natural y con ant-GnRH y resultó diferente al del grupo de ag-GnRH. No existe actualmente ninguna publicación que compare la preparación de la receptora con ant-GnRH vs ag-GnRH de liberación prolongada.
- En 2006, una comunicación a un congreso comparaba la preparación con ant-GnRH vs ag-GnRH de administración diaria y se obtenía una mayor tasa de gestación (60% vs 36.6%), así como de implantación (38.3 vs 14.9%) en el grupo con ant-GnRH frente al de ag-GNRH, aunque sin hallarse diferencias estadísticamente significativas. La tasa de aborto fue similar en ambos grupos (Casañ et al, 2006).
- En 2009, se presentó un análisis intermedio de los resultados del presente estudio, con un total de 275 mujeres, y ya se mostraban mejores tasas de embarazo clínico e implantación con el uso de ant-GnRH para la preparación endometrial en receptoras de ovocitos (Vidal et al, 2009).
- Un estudio comparativo publicado en 2011, que compara los resultados reproductivos en receptoras de ovocitos realizando la sincronización con la donante asociando supresión hipofisaria con ag-GnRH depot (Ginecrin Depot® el día 20-22 del ciclo menstrual previo) vs ant-GnRH (Orgalutran® 0.25 mg diario desde folículo dominante >14 mm en donante hasta día antes de la inducción de la ovulación, tanto a donante como a receptora)

asociado a la TRH, no encuentra diferencias en cuanto a la tasa de embarazo clínico entre ambos grupos (56.1 vs 52.4%) (Martínez et al, 2011).

3. OTRAS INDICACIONES DE LOS ANÁLOGOS DE LA GnRH.

Existen múltiples indicaciones tanto de los agonistas como de los antagonistas de la GnRH (Speroff y Fritz, 2006). Entre las indicaciones de los ag-GnRH están:

- Preparación endometrial en pacientes para transferencia de embriones congelados.
- Desencadenar la ovulación en ciclos de estimulación ovárica controlada.
- Tratamiento de la endometriosis.
- Tratamiento de la miomatosis uterina.
- Tratamiento de la pubertad precoz.
- Prevención de la hemorragia menstrual en situaciones clínicas especiales (por ejemplo pacientes con trombocitopenia).
- Etcétera.

De forma similar los ant-GnRH también tienen actualmente un amplio abanico de indicaciones, entre las cuales se encuentran:

- Preparación endometrial en pacientes para transferencia de embriones congelados
- Tratamiento de la endometriosis.
- Tratamiento del cáncer de próstata.
- Tratamiento de la pubertad precoz.
- Prevención del desarrollo del síndrome de hiperestimulación ovárica.
- Etcétera.

II. HIPÓTESIS.

La donación de ovocitos está bien establecida como método de reproducción asistida y ofrece la oportunidad única de conseguir un embarazo a mujeres con diferentes entidades clínicas, tanto con función ovárica como sin ella. En este tipo de tratamientos suele ser necesario el uso de terapia de reemplazo hormonal para la sincronización de los ciclos entre la receptora de ovocitos y la donante, proporcionando buenos resultados, similares a los obtenidos con el ciclo natural. En las pacientes con la función ovárica conservada, se emplean análogos de la GnRH (a-GnRH) para provocar una supresión hipofisaria, para permitir una sincronización entre la donante y la receptora, evitando picos ovulatorios espontáneos que abrirían la ventana de implantación de la receptora en asincronía con la donante.

Hasta la actualidad el método de elección y mejor establecido para lograr una situación de menopausia reversible durante la sincronización de la donante con la receptora de ovocitos con función gonadal conservada era la administración de agonistas de la GnRH (ag-GnRH).

En los últimos años, los antagonistas de la GnRH (ant-GnRH) han sido introducidos en los tratamientos de reproducción asistida para reducir el número de picos ovulatorios espontáneos. Su acción a nivel del receptor de GnRH está desprovista del efecto inicial (efecto flare up) de los ag-GnR. Con los ant-GnRH se observa una casi inmediata supresión de los niveles séricos de gonadotrofinas y hormonas sexuales, a diferencia de la acción de los ag-GnRH, los cuales producen una estimulación inicial de la liberación de gonadotrofinas, produciéndose la supresión tras la desensibilización hipofisaria que se produce por la exposición continuada al ag-GnRH.

La acción potencialmente desfavorable de los ag-GnRH de liberación prolongada durante la fase lútea y gestación temprana, han cuestionado su uso durante los ciclos de estimulación ovárica (Dal Prato et al, 2004) (Gonen et al, 1991) (Devreker et al, 1996). Además las evidencias actuales apuntan hacia

Hipótesis

una mayor tasa de abortos en ciclos de donación de ovocitos cuando la acción del ag-GnRH está presente (Vargas et al, 2001).

En 2005, se publicó un estudio en el que se mostraba un desarrollo endometrial similar y comparable en ciclos de donación de ovocitos, tanto con la utilización de ant-GnRH, ag-GnRH o ciclo natural (Simon et al, 2005).

En 2006, Casañ y colaboradores presentaron en una comunicación a congreso mejores tasas de gestación (60% vs 36'6%), e implantación (38'3 vs 14'9%) en ciclos de donación de ovocitos, con el uso de ant-GnRH frente a la utilización del ag-GnRH diario, aunque sin significación estadística. La tasa de aborto fue similar en ambos grupos (Casañ et al, 2006).

No existe actualmente ningún estudio prospectivo aleatorizado en el que se compare la preparación endometrial de la receptora con ant-GnRH vs ag-GnRH de liberación prolongada. Así pues, nuestra hipótesis es que se puede utilizar un ant-GnRH en ciclos de donación de ovocitos con la misma eficacia y eficiencia clínica que el protocolo estándar con el empleo de un ag-GnRH.

III. OBJETIVOS

1. OBJETIVO PRINCIPAL:

Investigar si con el empleo de ant-GnRH utilizados durante la sincronización de la receptora con la donante de ovocitos para lograr la supresión hipofisaria en la receptora se consiguen unas **tasas de gestación evolutiva y de recién nacido vivo** mejores o equiparables a la obtenidas con la utilización de los ag-GnRH de liberación prolongada.

2. OBJETIVOS SECUNDARIOS:

Determinar si los ant-GnRH proporcionan unos resultados mejores o equiparables que los obtenidos con los ag-GnRH en términos de: .

1. Tasa de gestación bioquímica.
2. Tasa de implantación e implantación evolutiva.
3. Tasa de aborto.
4. Otros objetivos:
 - Describir las características del ciclo sustituido en función del tipo de a-GnRH utilizado (espesor endometrial, niveles de estradiol sérico, días de preparación endometrial hasta la transferencia embrionaria,...).
 - Determinar la tasa de cancelación del ciclo de preparación endometrial con ant-GnRH, y las causas que la motivan.
 - Identificar posibles reacciones adversas por la administración de la medicación.

IV. MATERIAL Y MÉTODOS

1. DISEÑO DEL ESTUDIO.

Ensayo prospectivo, simple ciego, unicéntrico y aleatorizado realizado en el Instituto Valenciano de Infertilidad de Valencia (IVI.) El estudio fue aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica (CEIC) del Instituto Universitario IVI y por la Agencia Española del Medicamento (EUDRA CT: 2007-000212-89). El estudio fue registrado en la web de Ensayos clínicos (www.clinicaltrials.gov, número de registro NCT00633347). No hubo financiación.

2. SUJETOS.

Las pacientes objeto del estudio fueron mujeres receptoras de ovocitos con función ovárica conservada (ciclos menstruales presentes) del programa de donación ovocitaria de IVI entre Enero 2007 y Septiembre 2009.

A todas las mujeres se les dio el consentimiento informado. Antes de iniciar el protocolo de preparación endometrial todas las pacientes fueron sometidas a una evaluación clínica, incluyendo historia clínica, examen psíquico y estudio ecográfico.

Las receptoras de ovocitos entraron a nuestro programa de ovodonación debido a uno de los siguientes diagnósticos:

- no lograr embarazo tras al menos 3 ciclos de TRA,
- alteraciones cromosómicas o genéticas,
- edad materna avanzada,
- baja respuesta a la hiperestimulación ovárica controlada.

Se establecieron dos grupos:

- A. **Grupo A:** receptoras de ovocitos que recibieron antagonistas de la GnRH (inyección múltiple diaria subcutánea de 0.25 mg de cetrotide) para conseguir la supresión hipofisaria durante el protocolo de preparación endometrial en la receptora de ovocitos.

- B. **Grupo B:** receptoras de ovocitos en las cuales la supresión hipofisaria se realizó mediante el uso de agonistas de la GnRH de liberación prolongada (inyección única intramuscular de 3.75 mg de acetato de triptorelina) durante el protocolo de preparación endometrial en la receptora de ovocitos.

La asignación al grupo de tratamiento se realizó, de manera prospectiva, según tabla de aleatorización obtenida por ordenador (www.randomizacion.com), para evitar asignaciones por parte del médico a un grupo de tratamiento u otro no aleatorias. En el caso de que la paciente cumpliera los requisitos requeridos la enfermera aleatorizaba a la paciente y explicaba el tipo de preparación que iba a seguir según el grupo en el que había sido incluida.

3. CRITERIOS DE INCLUSIÓN.

- Mujeres receptoras de ovocitos con función ovárica conservada, es decir, con ciclos menstruales.
- Edad comprendida entre los 18 y los 44 años.
- Primer o segundo ciclo de donación ovocitaria.
- IMC \leq 28 kg/m².
- Transferencia de uno o dos embriones de buena calidad: de 6 a 9 blastómeras y menos del 20 % de fragmentación en día tres de desarrollo o de blastocitos en día 5 o 6. Se excluyeron pacientes con multinucleación en día dos de más del 50 % de la cohorte embrionaria. En el caso de transferencias embrionarias en estadios de blastocisto, solo se consideró aquellos en los que la transferencia se realizó en día 5 de desarrollo, blastocisto temprano o expandido y/o en día 6, blastocisto expandido o iniciando hatching.

4. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN.

- Más de dos ciclos fallidos de donación de ovocitos.

- Factor masculino severo: < 5 millones de espermatozoides / ml en muestras en fresco.
- Aborto de repetición: entendiendo como tal la pérdida de dos o más gestaciones siendo éstas consecutivas o no lo sean antes de la semana 20, siendo el peso fetal en ese momento igual o inferior a 500 gramos.
- Pacientes con incremento en la tasa de espermatozoides aneuploides, constatado mediante técnicas de hibridación in situ con fluorescencia (FISH) de espermatozoides anormal: algunos pacientes con oligoastenozoospermia grave, a pesar de que los estudios genéticos en sangre periférica sean normales, pueden presentar anomalías cromosómicas limitadas a sus células germinales. Estas anomalías suelen ser consecuencia de alteraciones de la meiosis que condicionan, por una parte, un bloqueo completo o incompleto de la espermatogénesis, y por otra, un aumento de las anomalías cromosómicas en los espermatozoides que consiguen completar la espermatogénesis. La FISH permite estudiar anomalías cromosómicas numéricas en espermatozoides empleando sondas fluorescentes que se unen específicamente a determinados cromosomas.
- IMC > 28.
- Adenomiosis.
- Miomas > de 3 cms intramurales o subserosos. Cualquier mioma que deformara la cavidad endometrial.
- Malformaciones müllerianas.
- Otras causas de aborto de repetición: síndrome antifosfolípido, trombofilias, etc.

Cada paciente fue incluida en el estudio una única vez.

5. MUESTRA.

El cálculo del tamaño muestral se realizó con el objetivo de detectar un 12% de mejoría en la tasa de gestación evolutiva (de un 38 % a un 50 %) entre el

grupo experimental y el control, comparado con las tasas de parto estándares en donación de ovocitos.

Para obtener un potencia del 80% y un valor de p de 0.05, se calculó que serían necesarias 480 pacientes en total, 240 pacientes en cada uno de los grupos. Asumiendo unas pérdidas del 15%, se consideró aleatorizar a 36 pacientes más por grupo, siendo necesarias entonces un total de 276 pacientes por grupo.

6. ESTIMULACIÓN DE DONANTES DE OVOCITOS.

Los requisitos mínimos para entrar en el programa de donantes de ovocitos del IVI, que tuvieron que cumplir las mujeres para ser donantes, fueron los siguientes:

- Edad comprendida entre 18 y 35 años.
- No presentaron historia personal ni familiar de enfermedades de transmisión genética (vasculopatías, ceguera, artritis severa, diabetes juvenil), esquizofrenia, depresión, epilepsia, enfermedad de Alzheimer, alcoholismo, cáncer de mama.
- Sin antecedentes médicos ni quirúrgico de interés.
- Aceptaron y firmaron el consentimiento/contrato para la donación de ovocitos.

Todas ellas fueron valoradas desde un punto de vista tanto psicológico como ginecológico.

a) EXPLORACIÓN DE LAS DONANTES:

- Se calculó el IMC, y se aceptaron todas aquéllas con IMC comprendido entre 18-28 Kg/m².
- Se realizó una exploración ginecológica para comprobar la normalidad anatómica de los órganos pélvicos, así como para realizar el conteo del número de folículos antrales.

- Se tuvieron en cuenta las características fenotípicas de las donantes, que también fueron consideradas en la receptora de óvulos. Este aspecto fue fundamental para poder establecer una relación de similitud entre ambas.

Tras la exploración ginecológica, todas las donantes fueron valoradas desde un punto de vista psicológico mediante la realización de una entrevista diagnóstica semiestructurada validada por la Sociedad Española de Fertilidad en la que se valoraron las siguientes áreas:

- Antecedentes personales e historia familiar.
- Trastornos de adaptación.
- Trastornos del estado de ánimo.
- Trastornos psíquicos.
- Abuso de sustancias.
- Trastorno de conducta.
- Trastornos alimentarios.

Si tras la valoración ginecológica y la valoración psicológica, se consideró a la donante como APTA, se les solicitaron las siguientes pruebas complementarias:

- Analítica general con vigencia durante 6 meses.
- Grupo sanguíneo y Rh.
- Test serológicos para descartar contacto con VHB (se detecta tanto HBsAg como Ac VHB core T), VIH, VHC y sífilis con vigencia durante 6 meses.
- Cariotipo sanguíneo, donde sólo se incluyen aquellas mujeres con XX, femenino normal.
- En algunas ocasiones, se les solicitó de manera adicional las determinaciones de X frágil y la fibrosis quística.

b) ORGANIGRAMA DE TRABAJO:

- La primera ecografía para la planificación del ciclo se realizó en el día 21 del ciclo en aquellos casos en los que las donantes no tomaban ningún tipo de anticonceptivo hormonal, o bien, en el día 14 ó 16 del anticonceptivo. Si la ecografía realizada fue normal se programó el inicio de la estimulación.
 - El protocolo a utilizar dependió del número de folículos antrales y de si la donante había realizado un ciclo con anterioridad, de la experiencia adquirida tras las estimulaciones previas.
 - De manera general, si el número de antrales fue superior a 20, la dosis de inicio es de 150 UI de FSH, y si el número de antrales fue inferior, la dosis de inicio de estimulación es de 225 UI de FSH.
- Los controles de la estimulación se realizaron de manera periódica y se les realizó un control ecográfico y analítico.
 - En el control ecográfico se determinó el número de folículos, así como el tamaño folicular. Para calcular el tamaño, se realiza el promedio de las dos mediciones de mayor tamaño de cada uno de los folículos.
 - En el control analítico, se determinaron los niveles de estradiol en sangre a lo largo de la estimulación y en función de los niveles obtenidos, se modificaron la dosis de gonadotrofinas administradas.
- En los ciclos con antagonistas de la GnRH, el protocolo fue de dosis múltiple y el ant-GnRH se añadió a la estimulación cuando el tamaño del folículo de mayor tamaño alcanzó los 13-14 mm de diámetro medio (Figura 4).
- Se programó la punción folicular cuando > 3 folículos tuvieron un tamaño > de 17 mm o al menos un folículo alcanzó el tamaño de 20 mm, y siempre y cuando el total de folículos >14 mm fue \geq 8 folículos.

- En los ciclos con agonistas de la GnRH se administran 6500 UI de hCGr.
- En los ciclos con antagonistas de la GnRH se desencadenó la ovulación con 6500 UI de hCGr, si bien en la actualidad se desencadena la ovulación con 0.2 mg de acetato de triptorelina en este protocolo.
- En todos los casos, el día que se programa para punción se les solicita:
 - Analítica hormonal con estradiol y progesterona.
 - Ag-Ac VIH.
- La punción folicular se realiza a las 36 horas exactas de la administración del inductor de la ovulación. Es un procedimiento quirúrgico que tiene lugar en el quirófano de FIV bajo sedación general. La vía de abordaje es vaginal y se realiza bajo control ecográfico según la técnica habitual. Para la punción vaginal, se utiliza una aguja de aspiración de 19 Greys.
- Las donantes anónimas fueron pareadas con su receptoras de acuerdo a su fenotipo y grupos sanguíneos.
- La punción folicular será cancelada por los siguientes motivos:
 - Riesgo de desarrollar un síndrome de hiperestimulación ovárica:
 - Elevación de los niveles de estradiol sérico >6500 pg/ml. A partir de niveles de 3000 pg/ml se evalúa cada caso con más detalle dependiendo de si es la primera estimulación ovárica, de la experiencia previa, del peso de la paciente, de la existencia de ascitis, del estado general,... no exponiendo a la donante a un riesgo innecesario.
 - Respuesta insuficiente o baja respuesta:
 - En nuestro grupo se ha establecido que con la estimulación ovárica, deben de conseguir el desarrollo de al menos 8 folículos de tamaño >14 mm.

- Mala administración de la medicación.
- Caída de los niveles de estradiol antes de la administración de la hCG \geq al 30%.

Los ovocitos donados fueron utilizados en ciclos en fresco y también se utilizaron ovocitos provenientes de nuestro banco de ovocitos. El protocolo de vitrificación de ovocitos fue descrito previamente, con resultados comparables entre ambos tipos de ovocitos (frescos/vitrificados) tal y como fue publicado por Cobo y colaboradores (Cobo et al, 2008) (Cobo et al, 2010).

7. TRATAMIENTO EN LAS RECEPTORAS DE OVOCITOS.

Las receptoras del programa de donación de ovocitos se aleatorizaron en dos grupos (grupo A: ant-GnRH, grupo B: ag-GnRH) en función del protocolo utilizado para la desensibilización hipofisaria.

a) Preparación endometrial con antagonistas de la GnRh:

Cetrotide® (Cetrorelix 0.25 mg; Ipsen Pharma, Barcelona, Spain) subcutáneo (sc) diario desde el primer día de la regla y hasta un total de 7 días.

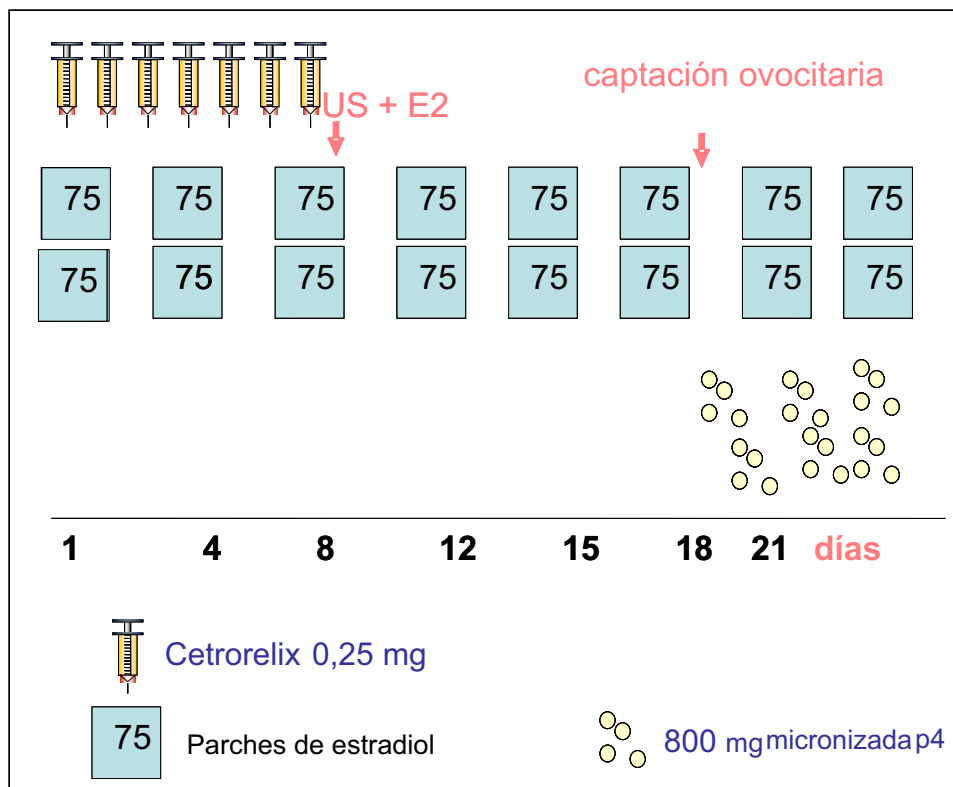
Se utilizó el ant-GnRH para inhibir el reclutamiento folicular temprano y el pico ovulatorio espontáneo de LH que desencadenaría la ovulación en la receptora y no permitiría la sincronización del ciclo de la receptora con la donante. Se realizó de la siguiente manera:

Se realizó una ecografía transvaginal uno o dos días previos a la menstruación prevista, y en el caso de existir quiescencia ovárica (no haber folículos de más de 10 mm), se autorizó el inicio del ant-GnRH el primer día de la regla durante 7 días por vía sc. En caso de existir folículos de mayor tamaño, se esperó a la menstruación para comprobar quiescencia ovárica mediante ecografía y en ese caso, se autorizó el inicio del ant-GnRH el primer día de la regla durante 7 días por vía sc. En los casos en los que en la ecografía realizada con la menstruación se observó persistencia del folículo mayor de 10 mm, se pautó un

anticonceptivo oral durante un mínimo de 15 días a la paciente. En los casos en los que la paciente tomaba la píldora anticonceptiva, se realizó una ecografía en las 10 últimas píldoras, pudiéndose obviar la ecografía con la regla en el caso de que la primera fuera normal.

Se inició la suplementación estrogénica transdérmica con estradiol hemihidrato en parches de 75 µg/24h (Evopad 75®, Janssen-Cilag, Madrid, España) con la aplicación de 2 parches de 75 µg/24h en la porción inferior del abdomen el día 1 del ciclo, con cambio de los mismos cada 3 días, hasta la realización de un test de embarazo posterior a la transferencia embrionaria o hasta que un sangrado vaginal (previo a la transferencia) se produjese, en cuyo caso se cancelaría el ciclo y no se incluiría en el análisis por transferencia embrionaria.

FIGURA 10: Representación del protocolo de preparación endometrial con ant-GnRH.



La figura 10 muestra el protocolo de preparación endometrial anteriormente descrito con ant-GnRH.

b) Preparación endometrial con protocolo con agonistas de la GnRh:

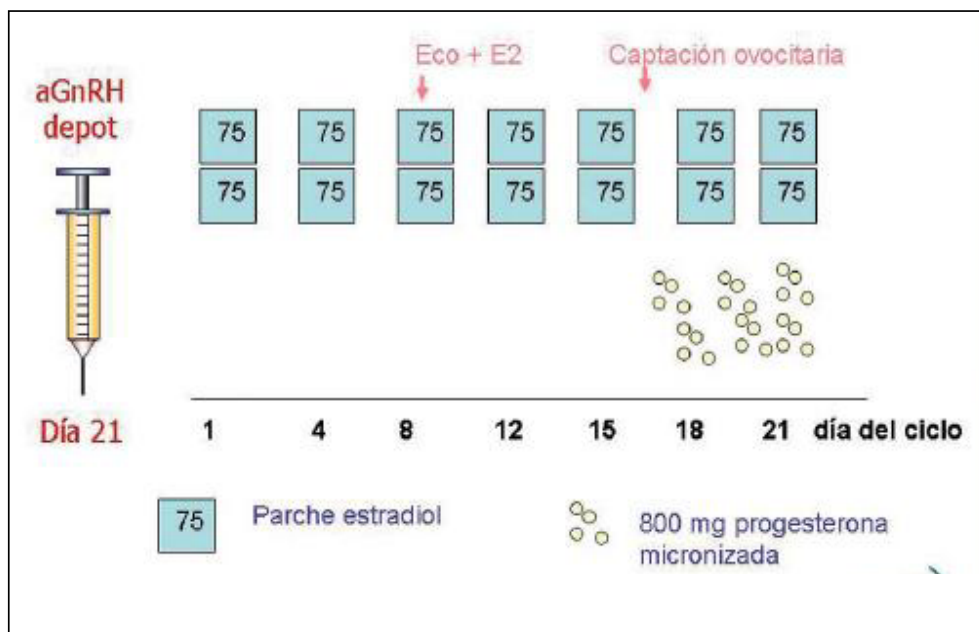
Decapeptyl® (acetato de triptorelina 3.75 mg; Ipsen Pharma, Barcelona, España) una única dosis intramuscular (im) en la fase lútea media del ciclo anterior.

Se utiliza para inhibir el pico ovulatorio espontáneo de LH que desencadenaría la ovulación en la receptora y no permitiría la sincronización del ciclo de la receptora con la donante. El protocolo utilizado fue el ya descrito previamente en numerosos artículos (Remohí J, 1997) (Remohí J, 1995) , que de manera resumida consiste en lograr la desensibilización hipofisaria en mujeres con función ovárica mediante la administración de ag-GnRH, administrados en la fase secretora del ciclo previo. Posteriormente se inicia la terapia de preparación endometrial con administración de estrógenos.

En nuestro estudio se produjo la desensibilización hipofisaria en fase lútea media del ciclo previo mediante la inyección de Decapeptyl® (Ipsen Pharm, Ferring) 3.75 mg depot im (acetato de triptorelina im). Se realizó una ecografía basal durante la regla y en caso de existir quiescencia ovárica (ausencia de folículos mayores de 10 mm) se inició el tratamiento estrogénico de la misma forma que en el grupo de los ant-GnRH, y que hemos explicado anteriormente.

La figura 11 muestra una representación del protocolo anteriormente descrito con ag-GnRH.

FIGURA 11: Representación del protocolo de preparación endometrial con ag-GnRH.



c) Seguimiento:

Se realizó monitorización de las pacientes a los 10-15 días con ecografía vaginal midiendo el espesor endometrial y el patrón del mismo, mediante una sonda de ultrasonidos vaginal en el plano longitudinal central a lo largo del eje del útero, también se realizó una determinación de estradiol, y progesterona sérica en algunos casos.

El patrón endometrial ideal en este momento de la preparación fue el trilaminar, pudiéndonos encontrar patrones menos favorables: no trilaminar, secretor o compacto, que en algunos casos nos llevaron a cancelar el ciclo. Si el desarrollo endometrial obtenido fue ≥ 7 mm y los niveles de estrógenos séricos > 99 pg/ml, se mantuvo la dosis de estradiol transdérmico; por el contrario si el grosor endometrial o los niveles de estradiol séricos fueron inferiores, se incrementaron las dosis de estrógenos en parche hasta lograr el desarrollo

endometrial deseado. En este momento se valoró la continuación del ciclo si todo estaba correctamente, o la cancelación del mismo por algún motivo objetivado.

d) Donación de ovocitos:

El mismo día de la punción de la donante para la donación de ovocitos, se realizó la fecundación de los mismos.

Desde el día posterior a la donación de ovocitos, se inició el soporte de la fase lútea en la receptora, con progesterona a dosis de 800 mg diarios de progesterona micronizada por vía vaginal (Progeffik®; Laboratorios Effik, Madrid, España). La transferencia embrionaria se realizó en día 3, 5 ó 6 de desarrollo embrionario, con un número máximo de embriones a transferir de dos.

En el momento de la transferencia embrionaria, también hubo cancelación de algunos ciclos (fallo de fecundación, detención desarrollo embrionario, embriones anormales,...).

Los niveles β -hCG en sangre de la receptora se midieron en día + 16 tras la punción de la donante, considerándose un resultado positivo cuando fue ≥ 10 UI/L. Cuando la β -hCG fue positiva, se realizó una ecografía vaginal una semana más tarde, junto con una nueva determinación sérica de β -hCG. Se realizaron ecografías semanalmente hasta detectar latido cardiaco embrionario, y mensualmente a posteriori. Se continuó administrando estrógenos y progesterona micronizada con la misma pauta hasta el día 100 de gestación.

8. MEDICACIÓN EMPLEADA EN EL ESTUDIO.

Tanto la administración de agonistas de la GnRH como el uso de antagonistas de la GnRH es práctica habitual en cualquier centro de reproducción asistida. Su indicación es siempre prevenir picos espontáneos de LH que inicien la ovulación

en un momento no oportuno para el tratamiento, como recoge la ficha técnica de dichos fármacos.

9. EFECTOS ADVERSOS.

Debido a su empleo rutinario en el manejo de las pacientes de reproducción asistida, cualquier evento fue recogido, y en caso de no estar reflejado en la ficha del producto técnico, se hubiera advertido mediante notificación a la agencia del medicamento como se realiza normalmente.

Un acontecimiento adverso es cualquier incidencia perjudicial para la salud en un sujeto de ensayo clínico tratado con un medicamento en investigación, aunque no tenga necesariamente relación causal con dicho tratamiento. Un acontecimiento adverso puede ser además, cualquier signo desfavorable o imprevisto (incluyendo un hallazgo anormal de laboratorio), síntoma o enfermedad asociado en tiempo con el uso del medicamento en investigación, tanto si está relacionado con él como si no.

Una reacción adversa es un acontecimiento adverso evaluado por el investigador con relación causal probable o posible al tratamiento con el medicamento en investigación.

No hubo efectos adversos en el transcurso del estudio.

10. CUMPLIMIENTO Y ABANDONO

Las pacientes que sangraron durante el periodo de espera para la donación, fueron canceladas, se retiraron de la lista de espera y se reinició el tratamiento de reemplazo de nuevo. Fueron recogidas las tasas de cancelación y los motivos de cancelación (infección, quistes, sangrado, motivos personales.....).

11. METODOLOGÍA ESTADÍSTICA.

Se empleó el programa Statistical Package for Social Science versión 19.0 (SPSS, Chicago, Illinois, USA) para el análisis estadístico. Las variables

cualitativas se expresaron como números y porcentajes, con sus correspondientes intervalos de confianza al 95% (IC 95%), los datos cuantitativos fueron expresados como medias e IC 95%. Se utilizaron los test estadísticos apropiados en cada momento: test t de student, chi-cuadrado, y test exacto de Fisher. Se calcularon los riesgos relativos, odds ratios y diferencia de riesgo. Se calculó un análisis de regresión logística para calcular las odds ratio ajustadas introduciendo en el modelo las variables que no se distribuyeron uniformemente entre los grupos (potenciales factores de confusión), y variables teóricamente relevantes. Asimismo se realizó un análisis de regresión lineal para el estudio de la tasa de implantación según el estadio embrionario en el que se realiza la transferencia embrionaria. Se asumió un significación estadística de valor $p < 0.05$.

El análisis posterior de los datos se realizó de tres formas:

- Por intención de tratar o paciente aleatorizada: incluye a todos los pacientes que han sido inicialmente asignados a cada grupo de tratamiento independientemente de que completaran o no el periodo de tratamiento y/o seguimiento.
- Por tratamiento recibido: incluye únicamente a los pacientes que recibieron el tratamiento y/o seguimiento al que fueron asignados inicialmente.
- Por transferencia embrionaria: analiza los datos en función de los ciclos en los que finalmente se completó la transferencia embrionaria, eliminando por tanto los ciclos cancelados, y permitiendo obtener los datos clínicos de los ciclos a estudio.

12. COMITÉ ÉTICO Y LEY DE PROTECCIÓN DE DATOS.

Todos los datos fueron manejados con total confidencialidad, según la ley de protección de datos.

Se entregó el consentimiento informado del programa de donación ovocitaria que debieron firmar ambos cónyuges.

El estudio fue aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica (CEIC) del Instituto Universitario IVI y por la Agencia Española del Medicamento.

13. RECOGIDA DE DATOS Y FORMATO UTILIZADO.

Se obtuvieron de File Maker o programa de almacenamiento de datos del Instituto Universitario IVI.

Se recogieron datos acerca de las características clínicas de las receptoras de ovocitos así como de los resultados de los ciclos.

- Tasa de cancelación: porcentaje de ciclos que se cancelan antes de la transferencia embrionaria, durante la fase de preparación endometrial o previamente a la transferencia embrionaria.
- Gestación: embarazo que es evidenciado por una β -hCG positiva tras la medición en sangre a los 16 días de la captación de ovocitos. Incluye a las gestaciones bioquímicas.
- Gestación clínica: embarazo que es evidenciado por la visualización mediante ecografía vaginal de un saco embrionario a partir de la semana 5 de embarazo. Incluye al embarazo ectópico. La presencia de múltiples sacos gestacionales en una misma paciente, se considera un solo embarazo clínico.
- Gestación múltiple: se consideró cuando más de un saco gestacional fue observado mediante ecografía.
- Tasa de gestación evolutiva (TGE): porcentaje de embarazos que superaron la semana 12 de gestación en función del número de embriones transferidos por paciente.
- Tasa de aborto: pérdida espontánea de un embarazo clínico antes de completar 13 semanas de edad gestacional.

Material y Métodos

- Tasa de implantación: es la probabilidad que tiene un embrión transferido de ocasionar una gestación. Se calcula teniendo en cuenta los embriones transferidos y el número de sacos que se confirman en la ecografía gestacional inicial.
- Tasa de parto o de niño en casa: es el número de niños nacidos vivos que ocasiona la transferencia de determinado número de embriones.

V. RESULTADOS

1. CARACTERÍSTICAS DE LAS PACIENTES Y DE LOS GRUPOS DE TRATAMIENTO.

Un total de 563 pacientes fueron aleatorizadas, de las cuáles un total de 473 tuvieron transferencia embrionaria. La figura 13 muestra un diagrama de flujo de la pacientes participantes en el ensayo.

- a) Grupo de ant-GnRH: inicialmente constituido por 287 mujeres, 9 de éstas no recibieron el tratamiento previsto porque no se presentaron a las visitas. En total fueron analizadas 278 pacientes, de las cuáles hubo transferencia en 232 casos ya que se cancelaron 46 ciclos. No hubo pérdidas durante el seguimiento.
- b) Grupo de ag-GnRH: fueron aleatorizadas 276 mujeres, 4 no se presentaron y no recibieron el tratamiento previsto, siendo analizadas un total de 272. De estas 272 se realizó transferencia embrionaria en 241 casos, tras 31 cancelaciones. No hubo pérdidas durante el seguimiento.

La edad y el IMC de las pacientes y de las donantes de ovocitos de ambos grupos se presentan en la tabla 7. No hubo diferencias significativas entre ambos grupos.

FIGURA 12: Diagrama de flujo de las pacientes incluidas en el estudio.

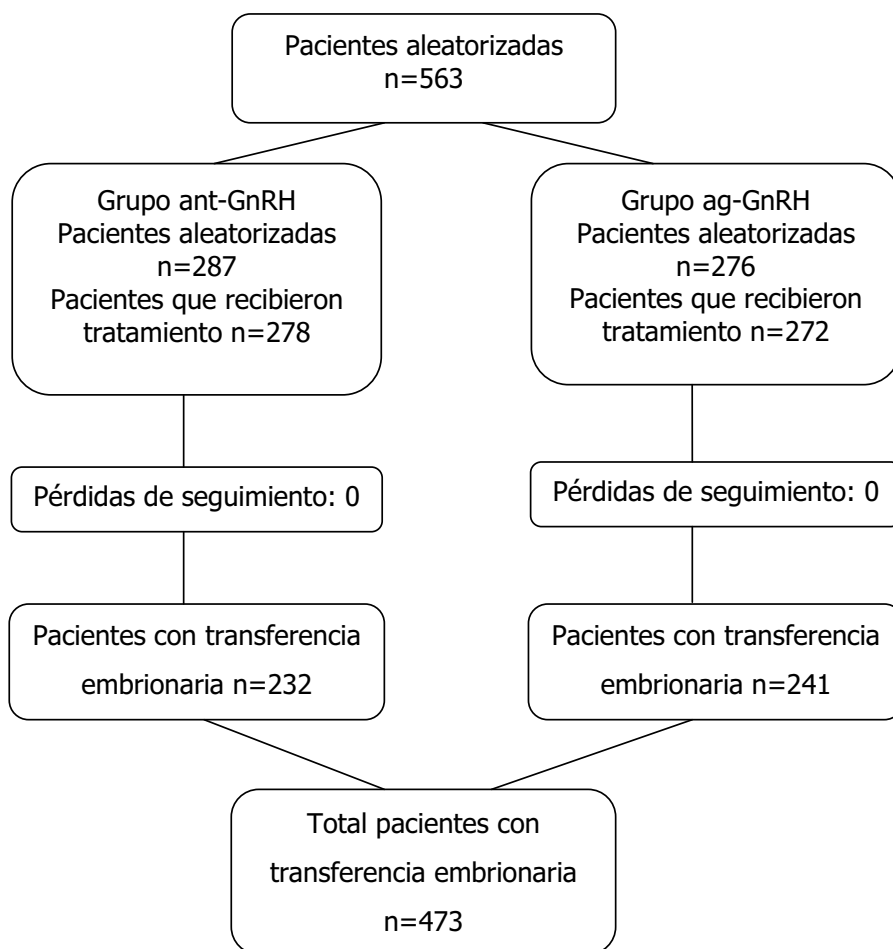


TABLA 7: Edad e IMC de las mujeres receptoras y donantes de ovocitos en ambos grupos de tratamiento.

| | Grupo ant-GnRH | Grupo ag-GnRH | Valor p |
|-----------------------|------------------|------------------|-----------|
| Edad paciente | 39.2 (38.8-39.7) | 39.1 (38.7-39.5) | ns |
| IMC paciente | 22.7 (22.4-23.0) | 22.6 (22.3-22.9) | ns |
| Edad donante ovocitos | 26.8 (26.3-27.3) | 26.3 (25.8-26.8) | ns |
| IMC donante ovocitos | 22.7 (22.3-23.1) | 22.5 (22.2-22.9) | ns |

ns: no significativo

En la tabla 8, podemos observar las indicaciones por las que las pacientes fueron sometidas a un tratamiento de donación de ovocitos. La causa más frecuente fue la edad en ambos grupos.

Resultados

TABLA 8: Indicaciones por las que las pacientes del estudio fueron sometidas a donación de ovocitos.

| | Grupo ant-GnRH, n= 287 | Grupo ag-GnRH, n= 276 | Valor p |
|---|------------------------|-----------------------|-----------|
| Edad | 110 | 119 | ns |
| Fallo ovárico oculto | 38 | 25 | ns |
| Fallo ovárico prematuro | 15 | 10 | |
| Fallo de gestación tras otras técnicas de reproducción asistida | 51 | 32 | ns |
| Baja respuesta ovárica | 27 | 36 | ns |
| Endometriosis | 24 | 27 | ns |
| Mala calidad ovocitaria | 9 | 9 | ns |
| Abortos de repetición* | 7 | 5 | ns |
| Genética | 6 | 6 | ns |
| Otros | 0 | 4 | ns |
| Desconocemos | 0 | 3 | ns |

ns: no significativo; *: abortos de repetición por causa genética, edad o baja respuesta.

2. CANCELACIÓN DE CICLOS.

No se realizó transferencia embrionaria en 55 ciclos en el grupo de los ant-GnRH, ni en 35 ciclos en el de los ag-GnRH. Las causas de cancelación se exponen a continuación:

a) Grupo ant-GnRH:

Hubo 9 autocancelaciones que corresponden a las mujeres que no acudieron a recibir el tratamiento pautado. Se cancelaron un total de 46 ciclos por causa médica. Podemos dividir los ciclos cancelados en anteriores o posteriores a la donación de ovocitos.

i. Previos a la donación de ovocitos:

- Autocancelaciones: 9
- Sangrado vaginal: 16
- Endometrio inadecuado o insuficiente: 8
- Aparición de quiste ovárico: 1
- Ovulación: 1
- Administración incorrecta de medicación: 2
- Patología médica: 1

ii. Posteriores a la donación de ovocitos, sin llegar a recibir transferencia embrionaria:

- Sangrado vaginal: 3
- Fallo de fecundación: 6
- Detención del desarrollo embrionario: 8

Respecto a las cancelaciones por sangrado vaginal, 16 de las 278 pacientes que recibieron el tratamiento establecido (5.7%) se cancelaron debido a sangrado irregular antes de que se llevara a cabo la donación de ovocitos y 3 (1.1%) tras la donación de ovocitos. La media de días que recibieron terapia hormonal con estradiol estas mujeres fue de 32 días en el grupo que se canceló antes de la donación y de 16.3 días en el de después de la donación (6.8% en total, 95% IC (3.9-9.8)) .

b) Grupo ag-GnRH:

Se cancelaron un total de 35 ciclos, con un total de 6 autocancelaciones (4 de ellas antes de recibir el tratamiento asignado). Las causas de las cancelaciones

Resultados

divididas en anteriores o posteriores a la donación de ovocitos fueron las siguientes.

- i. Previos a la donación de ovocitos:
 - Autocancelaciones: 4
 - Sangrado vaginal: 8
 - Endometrio inadecuado o insuficiente: 4
 - Patología médica: 1
- ii. Posteriores a la donación de ovocitos, sin llegar a recibir transferencia embrionaria:
 - Sangrado vaginal: 2
 - Fallo de fecundación: 3
 - Detención del desarrollo embrionario: 10
 - Autocancelación del ciclo: 2
 - Dificultad en la transferencia: 1

Hubo un total de 8 pacientes de las 272 (2.9%) que recibieron el tratamiento establecido que se cancelaron debido a sangrado irregular antes de que se llevara a cabo la donación de ovocitos y 2 (0.7%) tras la donación de ovocitos. La media de días de terapia hormonal con estradiol fue de 30 días en el grupo que se canceló antes de la donación y de 14.5 días en el de después de la donación (3.7% en total, 95% IC (1.4-5.9)).

La tasa de cancelación total fue significativamente mayor en el grupo de los ant-GnRH (19.2%) que en el de los ag-GnRH (12.7%) ($p=0.03$). La principal causa de cancelación fue el sangrado vaginal, donde no hubo diferencias estadísticamente significativas en la proporción de pacientes canceladas por este motivo entre los dos grupos ($p=0.12$).

3. CARACTERÍSTICAS DE LOS CICLOS Y RESULTADOS CLÍNICOS.

La tabla 9 muestra diferentes aspectos del ciclo de preparación endometrial por grupos de tratamiento. Cabe destacar unos niveles de estradiol en sangre

significativamente mayores en el grupo de los ant-GnRH respecto a los ag-GnRH. También una mayor tiempo de espera hasta la transferencia en el grupo de los ag-GnRH. Sin embargo, tanto el grosor endometrial como el patrón endometrial alcanzado fue comparable en ambos grupos.

TABLA 9: Características de los ciclos (grosor y patrón endometrial, niveles de estradiol y días hasta la transferencia embrionaria) en los dos grupos de tratamiento.

| | Grupo ant-GnRH | Grupo ag-GnRH | Valor p |
|-----------------------------|---------------------|---------------------|---------|
| Grosor endometrial | 9.5 (9.3-9.8) | 9.1 (8.9-9.4) | ns |
| Patrón trilaminar (%) | 77.4 (72.6-82.2) | 76.9 (71.6-82.2) | ns |
| Estradiol (pg/ml) | 253.2 (251.6-254.8) | 192.6 (191.5-193.7) | <0.001 |
| Días hasta la transferencia | 20 (18.9-21) | 23.5 (22.2-24.7) | <0.001 |

Como podemos apreciar en la tabla 10, en el grupo de los ant-GnRH se utilizó un mayor porcentaje estadísticamente significativo de ovocitos vitrificados y desvitrificados (25.3%) que en el grupo de los ag-GnRH (13.9%), así mismo el porcentaje de ovocitos frescos fue significativamente mayor en el grupo de los ag-GnRH (84.2%) respecto al de los ant-GnRH (72.3%). Cabe destacar también el hecho de que en el grupo de los ant-GnRH la transferencia de embriones se hizo en estadio de blastocisto en un 10% más de casos que en el grupo de los ag-GnRH (32.8% vs 22.8%), donde hubo un mayor porcentaje de transferencia en estadio de células. En ambos grupos el número de ovocitos metafase II, las

Resultados

tasas de fecundación, el número de embriones transferidos, el número de mujeres con transferencia y el número de embriones congelados sobrantes tras la transferencias no presentaron diferencias estadísticamente significativas.

Teniendo en cuenta únicamente el total de mujeres que tuvieron transferencia embrionaria (473) hubo un 14.8% más transferencias en estadio de blastocisto en el grupo ant-GnRH (40.5%) que en el de ag-GnRH (25.7%). De manera similar un 16.3% más de embriones en blastocisto se transfirieron en el grupo de los ant-GnRH que en el de los ag-GnRH (tabla 11).

El número de nacimientos fue mayor en el grupo de los ant-GnRH (116 (40.4%) vs 94 (34.1%)), aunque sin significación estadística. Se lograron 150 recién nacidos vivos con los ant-GnRH, mientras que en el grupo de los agonistas se lograron un total de 117 nacidos vivos.

TABLA 10: Características de los ciclos y resultados clínicos en las pacientes receptoras de donación de ovocitos aleatorizadas a ambos grupos.

| | Grupo ant-GnRH (n=287) | Grupo ag-GnRH (n=276) | DR* RR** | Valor p |
|---|---------------------------|--------------------------|-------------|------------|
| Metafase II/Ovocitos maduros, n (rango) | 11.9, (11.4-12.4) | 12.1, (11.7-12.5) | n/a | ns |
| Frescos, n (%) | 180 (72.3) | 218 (84.2) | n/a | <0.05 |
| Vitrificados, n (%) | 63 (25.3) | 36 (13.9) | n/a | <0.05 |
| Mixtos, n (%) | 6 (2.4) | 5 (1.9) | n/a | <0.05 |
| Tasa de fecundación/ovocitos inseminados, (%) | 69.6, (66.8-72.5) | 68.7, (65.7-71.7) | n/a | ns |
| Nº embriones transferidos | 1.6 (1.5-1.7) | 1.7 (1.6-1.8) | n/a | ns |
| Mujeres con transfer, n (%) | 232 (80.8) | 241 (87.7) | n/a | ns |
| Día 2-3, (%) | 48.1, (42.3-52.9) | 64.5, (58.9-70.2) | n/a | <0.05 |
| Día 5-6, (%) | 32.8, (27.4-38.2) | 22.8, (17.9-27.8) | | |
| No transfer, (%) | 19.2, (14.6-23.7) | 12.7, (8.8-16.6) | | |
| Nº embriones congelados | 1.8, (1.5-2.1) | 1.8, (1.5-2.1) | n/a | ns |

n/a: no aplicable.

ns: no diferencias significativas.

Los datos expresan número de casos y proporciones (n(%)), o medias o proporciones con sus correspondientes IC 95% entre paréntesis.

*DR: diferencia de riesgo

**RR: riesgo relativo

Resultados

TABLA 11: Resultados en cuanto a embriones y transferencias embrionarias en función del estadio embrionario en el que se realizó la transferencia embrionaria en cada uno de los grupos de tratamiento.

| | Grupo ant-GnRH n (%) | Grupo ag-GnRH n (%) | p |
|--|-------------------------|------------------------|---------|
| Tansferencias totales | 232 | 241 | ns |
| Embriones totales transferidos | 452 | 468 | ns |
| Nº embriones/transfer | 1.94 | 1.94 | ns |
| Transferencia día 2-3, n (%) | 138 (59.5%) | 179 (74.3%) | p<0.001 |
| Embriones totales transferidos día 2-3, n (%) | 272 (60.17%) | 358 (76.5%) | p<0.001 |
| Nº embriones/transfer día 2-3 | 1.97 | 2 | ns |
| Transferencia blasto, n (%) | 94 (40.5%) | 62 (25.7%) | p<0.001 |
| Embriones totales transferidos blasto, n (%) | 180 (39.8%) | 110 (23.5%) | p<0.001 |
| Nº embriones/transfer blasto | 1.91 | 1.77 | ns |

En las tablas 12, 13 y 14 se presentan las características de los ciclos y los resultados clínicos de las pacientes analizadas por intención de tratar, por tratamiento recibido y por paciente que completa el tratamiento recibiendo transferencia embrionaria.

Teniendo en cuenta los pacientes por intención de tratar, se observa una mayor tendencia en el número de embarazos bioquímicos, clínicos, múltiples y evolutivos en el grupo de los ant-GnRH, sin alcanzar la significación estadística. Asimismo, también se observa esta tendencia en el número total de nacimientos y de recién nacidos vivos. En cuanto a los abortos hay un mayor porcentaje en el grupo de los ag-GnRH no siendo tampoco significativa esta diferencia, así como de gestaciones ectópicas.

El porcentaje de embarazos evolutivos en el grupo de los ant-GnRH alcanza prácticamente el 7% más que en el grupo de los ag-GnRH al realizar un análisis por paciente con intención de tratar, siendo la diferencia de hasta casi un 8% al analizar los datos de las pacientes que recibieron la intervención (ag-GnRH o ant-GnRH).

Cuando estos mismos datos se analizan teniendo en cuenta únicamente a las mujeres que tuvieron transferencia embrionaria, se observa que la tasa de embarazo evolutivo es un 12.1% mayor en el grupo de los ant-GnRH, de manera estadísticamente significativa. De la misma forma, la tasa de implantación evolutiva por transferencia embrionaria muestra también una tendencia mayor en el grupo de los ant-GnRH, siendo aproximadamente un 8.2% mayor respecto al grupo de los ag-GnRH.

Resultados

TABLA 12: Resultados obtenidos por paciente aleatorizado en cada uno de los grupos.

| Por paciente aleatorizado, % y IC95% | Grupo ant-GnRH (n=287) | Grupo ag-GnRH (n=276) | DR* (IC95%) RR** (IC95%) | Valor p |
|--------------------------------------|------------------------|-----------------------|-----------------------------------|---------|
| Embarazos bioquímicos | 59.2 (53.4-64.8) | 55.8 (49.9-61.5) | 3.4 (-4.7-1.6) 1.1 (0.9 a 1.2) | ns |
| Embarazos clínicos | 55.1 (49.3-60.7) | 49.6 (43.8-55.5) | 5.4 (-2.8-3.7) 1.1 (0.9-1.9) | ns |
| Embarazos múltiples | 19.5 (15.3-24.5) | 14.9 (11.1-19.5) | 4.7 (-1.5-0.9) 1.3 (0.9-1.9) | ns |
| Abortos | 12.5 (9.1-16.8) | 16.3 (12.4-21.1) | -3.7 (-9.5-2.0) 0.8 (0.5-1.2) | ns |
| Embarazos ectópicos | 3 | 7 | n/a | n/a |
| Embarazos evolutivos | 46.7 (41.0-52.5) | 39.8 (34.3-45.7) | 6.8 (-1.3-5.0) 1.2 (1.0-1.4) | ns |
| Nacimientos | 40.4 (34.7-46.1) | 34.1 (28.5-39.7) | 6.3 (-1.6-14.3) 1.1 (1.0-1.5) | ns |
| Nº de recién nacidos (n) | 150 | 117 | n/a | n/a |

n/a: no aplicable
ns: no diferencias significativas

*DR: diferencia de riesgo
**RR: riesgo relativo

TABLA 13: Resultados obtenidos por tratamiento recibido en cada uno de los grupos.

| Por tratamiento recibido, % y IC95% | Grupo ant-GnRH (n=278) | Grupo ag-GnRH (n=272) | DR* (IC95%) RR** (IC95%) | Valor p |
|-------------------------------------|------------------------|-----------------------|----------------------------------|---------|
| Embarazos bioquímicos | 61.2 (55.3-66.7) | 56.6 (50.7-62.4) | 4.5 (-3.7-12.8) 1.1 (1.0-1.2) | ns |
| Embarazos clínicos | 56.8 (51.0-62.5) | 50.4 (44.5-56.3) | 6.4 (-1.8-14.8) 1.1 (1.0-1.3) | ns |
| Embarazos múltiples | 20.1 (15.9-25.3) | 15.1 (11.3-19.8) | 5.0 (-1.2-11.4) 1.3 (0.9-1.9) | ns |
| Abortos | 12.9 (9.5-17.4) | 16.5 (12.6-21.4) | -3.6 (-9.5-2.3) 0.8 (0.5-1.2) | ns |
| Embarazos evolutivos | 48.2 (42.4-54.1) | 40.4 (34.8-46.4) | 7.8 (-0.5-16.3) 1.2 (1.0-1.4) | ns |
| Nacimientos | 41.7 (35.9-47.5) | 34.5 (28.9-40.2) | 7.2 (-0.9-15.3) 1.2 (1.0-1.5) | ns |
| Nº de recién nacidos (n) | 150 | 117 | n/a | n/a |

n/a: no aplicable

ns: no diferencias significativas

*DR: diferencia de riesgo

**RR: riesgo relativo

Resultados

TABLA 14: Resultados obtenidos por transferencia embrionaria en cada uno de los grupos.

| Por transferencia embrionaria, % y IC95% | Grupo ant-GnRH (n=232) | Grupo ag-GnRH (n=241) | DR* (IC95%) RR** (IC95%) | Valor p |
|--|------------------------|-----------------------|----------------------------------|---------|
| Embarazos bioquímicos | 73.3 (67.2-78.6) | 63.9 (57.7-69.7) | 9.4 (1.1-17.7) 1.1 (1.0-2.3) | <0.05 |
| Embarazos clínicos | 68.1 (61.9-73.8) | 56.8 (50.5-62.9) | 11.3 (2.6-19.9) 1.2 (1.0-1.4) | <0.05 |
| Embarazos múltiples | 24.1 (19.1-30.0) | 17.0 (12.8-22.3) | 7.1 (-0.1-14.4) 1.4 (1.0-2.0) | ns |
| Abortos | 15.5 (11.4-20.7) | 18.7 (14.3-24.1) | -3.6 (-9.5-2.3) 0.8 (0.5-1.2) | ns |
| Embarazos evolutivos | 57.8 (51.4-61.2) | 45.6 (39.3-51.9) | 12.1 (3.2-21.1) 1.3 (1.1-1.5) | <0.01 |
| Nacimientos | 50.0 (43.6-56.4) | 39.0 (33.0-45.2) | 10.9 (2.1-19.9) 1.6 (1.1-2.3) | <0.05 |
| Nº recién nacidos | 150 | 117 | n/a | n/a |
| Nº inicial sacos | 207 | 167 | | |
| Tasa implantación evolutiva/transfer embrionaria | 33.2 (28.4-37.5) | 25 (21.1-28.9) | 8.2 (2.3-14.4) 1.22 (1.1-1.6) | <0.05 |

n/a: no aplicable
ns: no diferencias significativas

*DR: diferencia de riesgo
**RR: riesgo relativo

Dado que la muestra que finalmente realizó y completó la transferencia embrionaria, no resultó homogénea en diferentes factores estudiados, se realizó un análisis de regresión logística con la intención de evitar el efecto de posibles factores de confusión (días en lista de espera, utilización de ovocitos frescos o vitrificados), consiguiendo unas OR ajustadas para el análisis por intención de tratar y por tratamiento recibido. La OR ajustada en el análisis por intención de tratar, tomando como variable dependiente la tasa de embarazos evolutivos por ciclo aleatorizado se modificó desde 1.31 (IC95% 0.93-1.84) a OR ajustada 1.42 (0.97-2.09), quedándose cercana a la significación estadística ($p=0.070$).

Por tratamiento recibido, se modificó la OR de la siguiente manera, OR 1.35 (IC95% 1.95-1.90) a OR ajustada 1.43 (0.97-2.09), no alcanzando la significación ($p=0.069$).

Cuando estos resultados se estudiaron sobre las pacientes que sí recibieron transferencia embrionaria, la OR era de 1.56 (95% CI 1.09-2.25) mientras que la OR ajustada fue de 1.46 (0.99-2.13) siendo la $p= 0.042$ estadísticamente significativa. Lo cual indica que es posible confirmar teniendo en cuenta la no homogeneidad de la muestra, que el tratamiento con ant-GnRH aumenta la proporción de gestación evolutiva , multiplicando por 1.468 el odds ratio de gestación evolutiva.

En la tabla 15 se expresa con detalle la estratificación de los grupos en función del estadio embrionario en que se realiza la transferencia. Se observa una tendencia a mayores tasas de embarazo clínico y evolutivo en el grupo que recibe ant-GnRH frente al que recibe ag-GnRH cuando la transferencia se realiza en embriones en estadio de células (D2-3), así como a mayores tasas de embarazo evolutivo en el grupo de ant-GnRH cuando la transferencia se realiza en estadio de blastocisto. Cabe destacar también unas mayores tasas de implantación en el grupo de ant-GnRH tanto cuando la transferencia se llevó a cabo en estadio de células (41.17% vs 33.51%) como cuando ésta fue en

Resultados

blastocisto (52.7% vs 42.7%). Al realizar el estudio de la tasa de implantación en el grupo que realizó transferencia embrionaria y relacionándolo con el estadio embrionario en que se transfieren los embriones mediante una regresión lineal, se obtienen diferencias significativas ($p=0.038$), con un incremento del 7.38% la tasa de implantación bajo tratamiento con ant-GnRH. Asimismo, la tasa de implantación evolutiva se incrementaría en un 6.97 % en el grupo de ant-GnRH siendo la $p=0.055$.

TABLA 15: Estadística de resultados reproductivos estratificada por estadio celular en el momento de la transferencia embrionaria.

| | | Ant-GnRH | Ag-GnRH | Dif % | p |
|------------------------------|-------------------------|-----------------|-----------------|--------|--------|
| Transferencias totales | | 232 | 241 | | |
| Embriones totales | | 452 | 468 | | |
| Transferencia día 2-3 | Transferencias | 138 (59.5%) | 179 (74.3%) | -14.8% | 0.0009 |
| | Embriones | 272 (60.17%) | 358 (76.5%) | -16.3% | |
| | Embarazos clínicos | 95 (68.8%) | 106 (59.21%) | 9.6% | 0.09 |
| | Embarazos evolutivos | 72 (52.2%) | 78 (43.6%) | 8.6% | 0.14 |
| | Implantación | 112 (41.17%) | 120 (33.51%) | 7.66% | 0.055 |
| Transferencia blastocisto | Transferencias | 94 (40.5%) | 62 (25.7%) | 14.8% | 0.0009 |
| | Embriones | 180 (39.82%) | 110 (23.5%) | 16.3% | |
| | Embarazos clínicos | 75 (79.8%) | 49 (79.03) | 0.8% | 1.0 |
| | Embarazos evolutivos | 62 (65.95%) | 34 (54.8%) | 11.15% | 0.18 |
| | Implantación | 95 (52.7%) | 47 (42.7%) | 10% | 0.11 |

Resultados

4. REACCIONES ADVERSAS

No se observaron reacciones adversas en ninguno de los casos.

VI. DISCUSIÓN

Este estudio se planteó con el objetivo de intentar mejorar los resultados de los ciclos de donación de ovocitos, buscando la mejor estrategia terapéutica en cuanto a supresión hipofisaria durante la preparación endometrial con THS de la receptora. Se partió de la evidencia actual de la mayor similitud del patrón de receptividad endometrial con el ciclo natural en ciclos estimulados, cuando se utiliza un ant-GnRH que cuando se utiliza un ag-GnRH para la supresión hipofisaria (Simon et al, 2005), planteando por ello unos hipotéticos mejores resultados con la utilización de los ant-GnRH. La utilización de la THS en las receptoras de ovocitos nos permite conseguir un patrón endometrial lo más similar posible al del ciclo natural, y se utiliza tanto en ciclos de donación ovocitaria como en algunos protocolos de transferencia de embriones congelados. Así pues, planteamos nuestro estudio utilizando un modelo de donación de ovocitos donde se utiliza la THS para la preparación endometrial, y con el uso de ant-GnRH para la supresión hipofisaria, esperando con ello mejorar los resultados, ya que estamos utilizando estrategias para conseguir la mayor similitud endometrial con el patrón del ciclo natural.

En ciclos de donación de ovocitos, está más establecida la utilización de ag-GnRH de depósito para la desensibilización hipofisaria de la receptora, lo cual supone un tiempo adicional para lograr esa desensibilización, que con los ant-GnRH se lograría más rápidamente, con mejor tolerancia por parte de la paciente, y evitando el efecto flare-up y el potencial riesgo de formación de quistes ováricos. Los ant-GnRH administrados desde el primer día de la menstruación, tras descartar gestación, nos van a permitir además evitar el pequeño pero existente riesgo de gestación espontánea tras la administración de un ag-GnRH en fase lútea (0.4-1% en ciclos FIV) (Balasch et al, 1993) (Tan et al, 2006), con los potenciales riesgos para el embarazo que esto supone (alteraciones del neurodesarrollo a largo plazo) (Lahat et al, 1999). Todo ello, junto con una potencial mayor tasa de aborto con la utilización de los ag-GnRH respecto de los ant-GnRH (Tocino et al, 2007), es lo que nos llevó a plantear este estudio. No existe actualmente ninguna publicación en la que se compare

Discusión

y estudie de manera prospectiva y aleatorizada la utilización de ag-GnRH de liberación prolongada y los ant-GnRH en la fase folicular inicial en los ciclos de preparación endometrial en programas de donación de ovocitos.

Como ant-GnRH se decidió utilizar el Cetrotide 0.25 diario durante 7 días debido a que en un mismo envase se presentan viales para una semana que era el tratamiento previsto.

Como sabemos, la donación ovocitos provee un modelo único ya que elimina las variables de confusión que típicamente ocurren cuando comparamos los grupos de pacientes sometidas a FIV. Los ciclos de transferencia de embriones congelados serían el modelo más similar al de donación de ovocitos, ya que se evita la estimulación endometrial que se da en los ciclos estimulados para FIV/ICSI, con los niveles de E₂ sérico que esta estimulación provoca y las repercusiones que esto conlleva. La evidencia científica actual es muy florida en ciclos de FIV/ICSI, siendo mucho menor en ciclos de transferencia de embriones congelados y más escasa todavía en lo que respecta a ciclos de donación ovocitaria.

Éste es el primer gran estudio controlado aleatorizado unicéntrico en el que se pretende estudiar la receptividad endometrial dentro de un programa de donación de ovocitos en función del tipo de a-GnRH recibido durante la preparación endometrial. Hasta el momento no existe ningún estudio aleatorizado que compare el uso de ag-GnRH de liberación prolongada con los ant-GnRH en fase folicular precoz en la receptora en ciclos de donación de ovocitos. Los resultados obtenidos, y anteriormente expuestos, muestran que la administración del ant-GnRH durante la preparación endometrial mejora las tasas de embarazo evolutivo y las tasas de implantación en ciclos de donación de ovocitos en mujeres con transferencia embrionaria, logrando también una tendencia cercana a la significación estadística cuando se lleva a cabo un análisis de los resultados por intención de tratar. Mayores tasas de embarazos se lograron con la utilización de ant-GnRH, con menores tasas de abortos

bioquímicos y clínicos, así como menores tasas de ectópicos comparados con el grupo de ag-GnRH, lo cual fue particularmente evidente en el grupo de pacientes donde se completó la transferencia embrionaria. Se lograron un mayor número de nacidos vivos en el grupo de los ant-GnRH.

Cuando se analizaron los resultados ajustándolos por factores de confusión, se observó que las mejorías observadas en el grupo de los ant-GnRH en cuanto a embarazo evolutivo se mantenían, alcanzando la significación estadística en el grupo de mujeres con transferencia embrionaria.

Hubo una mayor transferencia de embriones en estadio de blastocisto en el grupo de los ant-GnRH, y dado que según las últimas publicaciones presentan unas mayores tasas de implantación, realizamos un análisis estratificado de los resultados en ambos grupos en función del estadio embrionario. Tanto cuando la transferencia se llevó a cabo en estadio de células, como cuando fue en blastocisto, hay una tendencia a mayores tasas de embarazo evolutivo y de implantación. Tras hacer una regresión lineal que incluyó el estadio embrionario en el momento de la transferencia, se obtuvo una mayor tasa de implantación estadísticamente significativa en el grupo de los ant-GnRH con transferencia embrionaria. Por tanto, podemos afirmar, unos mejores resultados reproductivos con la utilización de este protocolo con ant-GnRH en fase folicular precoz frente al de los ag-GnRH de depósito.

En 2010 Cobo y colaboradores demostraron que los resultados obtenidos en ciclos de donación de ovocitos son equiparables tanto se utilicen ovocitos frescos como ovocitos vitrificados (Cobo et al, 2008c) (Cobo et al, 2010). Esto es importante ya que en nuestro estudio el azar hizo que la transferencia de embriones procedentes de ovocitos vitrificados fuera mayor en el grupo de los ant-GnRH, lo cual a la vista de la evidencia científica actual no tiene mayor repercusión.

Discusión

Aunque no significativa, hay una evidente mayor tasa de abortos en el grupo de los ag-GnRH (12.5% vs 16.3%). Aunque la literatura actual es controvertida, es cierto que existen publicaciones en donación de ovocitos en las que existe una mayor tasa de aborto en ciclos con ag-GnRH depot al compararlos con el diario (40% vs 6.7%) (Tocino et al, 2007), así como también mayor tasa de abortos cuando la transferencia embrionaria se llevó a cabo antes de 40 días de la administración del ag-GnRH depot (28% vs 15.7%) vs después (Vargas et al, 2001).

Los ant-GnRH fueron introducidos en la práctica clínica hace ya casi una década, y presentan múltiples ventajas y aplicaciones conocidas sobre todo a partir de su utilización en los ciclos FIV-ICSI. En los ciclos de FIV-ICSI el endometrio está expuesto a dosis estrogénicas suprafisiológicas por la estimulación ovárica controlada que se lleva a cabo, lo que constituye una diferencia respecto a los ciclos de donación ovocitaria. La inhibición competitiva de los ant-GnRH junto con su corta vida media, determinan una ausencia de flare-up inicial, una caída rápida de los niveles de gonadotrofinas tras el inicio de su utilización, y una también rápida recuperación de los niveles de las mismas tras el cese de su uso. Todo esto hace que sean la opción terapéutica ideal en determinadas ocasiones, como pueden ser los casos de donación ovocitaria.

La utilización de los ant-GnRH para estimulación ovárica controlada, tanto en ciclos de IA como en FIV e ICSI, está mejor establecida que en los casos de donación de ovocitos y de transferencia de embriones congelados. Estudios correctamente diseñados avalan sus ventajas e inconvenientes y dirigen la práctica clínica actual. Entre las ventajas de los ant-GnRH en comparación con los ag-GnRH se encuentran el menor número de inyecciones, la menor duración de la estimulación ovárica, la ausencia de sofocos, la menor incidencia de síndrome de hiperestimulación ovárica al permitir utilizar los ag-GnRH para el triggering (Tarlantzis et al, 2006). No obstante, algunos estudios indicaron que

con la utilización de los ant-GnRH las tasas de gestación estaban reducidas respecto a los ag-GnRH en ciclos FIV (Al-Inany et al, 2001) generando un debate en cuanto a su utilización (Fauser et al, 2005). Posteriormente, un meta-análisis publicado en 2006, concluyó que la probabilidad de lograr un recién nacido vivo no difiere significativamente con el uso de ag-GnRH vs ant-GnRH en ciclos FIV (Kolibianakis et al, 2006). Otro meta-análisis realizado en ciclos FIV/ICSI en el que se demostró un aumento en la tasa de embarazo con la administración de un ag-GnRH durante la fase lútea, confirmó en un análisis por subgrupos que estos resultados reproductivos se mantenían a pesar del tipo de a-GnRH (ag-GnRH vs ant-GnRH) utilizado para la supresión endógena de LH (Kyrou et al, 2011).

Los ant-GnRH podrían afectar directamente a los ovocitos, al embrión o al endometrio. Así pues, un posible efecto deletéreo de los ant-GnRH sería sobre la cohorte ovocitaria, y en consecuencia sobre la calidad embrionaria. Este hecho no se ha demostrado a día de hoy por estudios correctamente diseñados (Ortmann et al, 2001) (Albano et al, 2000) (Raga et al, 1999). En 1998, un estudio en el que se realizaron transferencias de embriones congelados obtenidos tras ciclos FIV/ICSI en los que se había asociado un ant-GnRH (Ganirelix) a diferentes dosis para lograr la supresión hipofisaria, publicaba buenas tasas de embarazo evolutivo que no estaban en relación con la dosis recibida de ant-GnRH (Kol et al, 1999). Por tanto, sugirieron una ausencia de efecto negativo del ant-GnRH sobre la calidad del ovocito y el embrión y su potencial de conseguir una gestación, planteando que las bajas tasas de implantación y de embarazo en algunos ciclos con ant-GnRH se podrían deber a diferencias en la receptividad endometrial.

Otro aspecto estudiado de los ant-GnRH fue la alteración que éstos producían en los niveles de LH sérico, y que podrían ser responsables de un efecto adverso de los ant-GnRH sobre la implantación embrionaria. Existen estudios que no avalan este hecho (Tavaniotou et al, 2003) (Kolibianakis et al, 2004) (Bosch et al, 2003).

Un posible impacto de los ant-GnRH que tampoco ha sido totalmente dilucidado y continúa siendo controvertido, sería a nivel de la receptividad endometrial y la implantación embrionaria, ya que se han identificado receptores de GnRH en el endometrio humano (Dong et al, 1998) (Raga et al, 1998). La evidencia actual respecto a este tema deriva sobre todo de estudios en los que el endometrio había sido sometido a una estimulación con gonadotrofinas, y que por tanto, conlleva a unos resultados no totalmente extrapolables a las receptoras de ovocitos donde el escenario endometrial es distinto. En un estudio de 2005 realizado en ciclos FIV, se publicó que en los ciclos con ant-GnRH se producía una expresión endometrial de receptores de estrógenos y progesterona en la fase folicular tardía propia de los primeros días de la fase lútea en ciclos naturales, sin verse acompañado de una transformación endometrial a endometrio secretor (Papanikolaou et al, 2005). Mirkin et al. realizaron un estudio prospectivo y aleatorizado, para evaluar el perfil de expresión génica del endometrio humano durante la ventana de implantación de ciclos de donación de ovocitos comparando ciclos estimulados con ant-GnRH, con ag-GnRH y ciclos naturales. En los ciclos estimulados en comparación con los ciclos naturales describieron cambios estructurales y funcionales a nivel endometrial, que se correlacionaron con pequeñas diferencias en la expresión génica. También encontraron cambios significativos de la expresión génica comparando ciclos de ag-GnRH frente a ant-GnRH en ausencia de otros cambios estructurales o funcionales (Mirkin et al, 2004). Meng et al realizaron el análisis de 12 biopsias endometriales de mujeres sometidas a estimulación ovárica para ICSI con diferentes protocolos (ciclo natural, con ant-GnRH diario o con ag-GnRH de depósito) y estudiaron la expresión de proteínas mediante marcaje isobárico diferencial (iTRAQ). Encontraron que 24 proteínas presentaron una expresión diferente en el grupo de los ag-GnRH respecto del ciclo natural, y 39 en el grupo de los ant-GnRH respecto al ciclo natural. Además, plantearon que los ant-GnRH podrían bloquear la función del factor de crecimiento epidérmico (EGF), y con ello la función de proteínas como GNAS y ANPEP importantes para la función endometrial (Meng et al, 2014). En 2005, Simon et al publicaron un

estudio descriptivo que evaluaba el impacto de dosis estándar y altas de ant-GnRH y ag-GnRH, y ciclos naturales, sobre el desarrollo endometrial mediante biopsias endometriales en donantes de ovocitos. El desarrollo endometrial en la fase lútea precoz y media no reveló diferencias en mujeres que fueron sometidas a una estimulación ovárica controlada para donación de ovocitos utilizando tratamiento diario con dosis estándar (0'25 mg/día) o altas (2 mg/día) de ant-GnRH (Ganirelix). Además, el desarrollo endometrial presentó mayor similitud respecto al ciclo natural cuando se utilizaron ant-GnRH, que con el uso de ag-GnRH (Simón et al, 2005). Vidal et al (Vidal et al, 2013) comunicaron la comparación entre la expresión génica a nivel endometrial durante la ventana de implantación de los tres protocolos más utilizados en los ciclos de transferencia de embriones congelados y en los ciclos de donación de ovocitos (ciclo natural, con ant-GnRH diario o con ag-GnRH de depósito). Se objetivó un mayor número de genes desregulados respecto al ciclo natural en los endometrios preparados con ag-GnRH (662 genes) que en los que se utilizaron ant-GnRH (503 genes) ($p=0.01$). En términos de receptividad molecular, concluyen que los ciclos con ant-GnRH son más similares a los ciclos naturales que los de ag-GnRH. Vani et al realizaron biopsias endometriales durante la fase lútea media en mujeres tratadas con FSH recombinante y Cetorelix, y describieron que los cambios en la expresión de receptores de esteroides sexuales y enzimas metabolizantes observados, podían provocar alteraciones en la actividad y disponibilidad intracelular de estrógenos, andrógenos y progesterona, pudiendo esto afectar o no a la relación embrión-endometrio durante la implantación (Vani et al, 2007), lo cual podría ser debido a la propia estimulación ovárica y al hiperestrogenismo, cosa que no ocurre en los ciclos de ovodonación.

Actualmente existe poca literatura acerca de la receptividad endometrial y la implantación embrionaria en mujeres cuyo endometrio no ha estado sometido a condiciones de estimulación ovárica controlada para FIV/ICSI, como es el caso de las receptoras en los programas de donación de ovocitos. Éste es uno de los

motivos por el que se planteó el ensayo actual. Si poca es la literatura publicada sobre los ag-GnRH para supresión hipofisaria durante la preparación endometrial en ciclos de donación de ovocitos y de transferencia de embriones congelados, aún menor es la evidencia con los ant-GnRH, por lo que son necesarios estudios que abarquen este supuesto.

La evidencia científica actual pretende acabar con la controversia de que los ant-GnRH se asocien a peores resultados reproductivos. Esto es especialmente evidente en ciclos de FIV (Kolibianakis et al, 2006), siendo la evidencia menor en ciclos de donación de ovocitos por el menor número de publicaciones existentes. En un estudio aleatorizado se evaluó la influencia de la administración de ant-GnRH en receptoras de ovocitos menopáusicas durante la preparación endometrial (Orgalutran 0.25 mg/día desde que la donante de ovocitos tuvo un folículo de 15 mm), concomitantemente con la administración del ant-GnRH en la donante de ovocitos, manteniéndolos en donante y receptora hasta el día antes de la administración de la hCG para desencadenar la ovulación en la donante (Prapas et al, 2009), sin observar un efecto perjudicial en la receptividad endometrial de la receptora. En este estudio se muestran las mismas tasas de embarazo, implantación y grosor endometrial en el grupo de receptoras que recibieron ant-GnRH que en el grupo de receptoras placebo (sin ant-GnRH). Si bien el tamaño muestral del estudio es reducido, sí sugiere que la administración del ant-GnRH en la fase proliferativa no afectaría al desarrollo endometrial ni en las tasas de gestación e implantación. Otro estudio observacional prospectivo publicaba que las tasas de embarazo no se afectaban en función de que la supresión hipofisaria durante la preparación endometrial en mujeres premenopáusicas receptoras de ovocitos se realizara con ag-GnRH o ant-GnRH (Martínez et al, 2011). En este caso los ant-GNRH se administraban sólo desde que la donante tenía un folículo dominante de 14 mm hasta que recibía la dosis de hcg, es decir de manera coordinada con el ciclo de la donante.

Los ciclos de transferencia de embriones congelados son los que presentan mayor similitud en cuanto a preparación endometrial con los ciclos de donación ovocitaria. En estas transferencias de embriones congelados existen múltiples protocolos (ciclo natural, preparación endometrial con estrógenos y progesterona exógena, con o sin utilización de aGnRH,...) y algunos de ellos asocian la utilización de a-GnRH para conseguir una supresión hipofisaria y otros no. Existe una revisión Cochrane del 2008 donde se concluye que no existe evidencia científica suficiente para recomendar el ciclo natural o la THS asociando o no ag-GnRH en ciclos de transferencia de embriones congelados. Sin embargo, sí que afirma que en el caso de utilizar un protocolo de THS los resultados son mejores con la asociación de un ag-GnRH que sin él (Ghobara y Vandekerckhove, 2008). En ninguno de los artículos analizados en la revisión se contempla la utilización de un ant-GnRH para supresión hipofisaria. Otra revisión posterior de 2013, no encuentra ningún protocolo específico de preparación endometrial para transferencia de embriones congelados que nos proporcione unos mejores resultados en términos de tasa de embarazo o de nacidos vivos. En ninguno de los estudios que analiza se emplean los ant-GnRH para supresión hipofisaria (Groenewoud et al, 2013).

En cuanto a los resultados de nuestro estudio, llama la atención los niveles de E₂ sérico a los 15 días del inicio de la preparación endometrial en la receptora (253.2 vs 192.6 pg/ml), significativamente mayores en el grupo de los ant-GnRH.. Ahora bien, este dato no debería ser más relevante en el análisis de nuestros resultados a la luz de la evidencia científica actual, que nos dice que el hecho de obtener unos niveles suprafisiológicos (>300 pg/mL) o infra fisiológicos (<100 pg/mL) de E₂ en suero, no parece tener impacto de manera significativa en la tasa de gestación, implantación o aborto en donación de ovocitos (Noyes et al, 2001) (Michalas et al, 1996). Al igual que en nuestros resultados, en el estudio de Martínez et al (Martínez et al, 2011) anteriormente mencionado, los niveles de E₂ en suero en las receptoras de ovocitos medidos el día antes de la transferencia embrionaria fueron mayores en el grupo que

Discusión

recibió ant-GnRH (353.06 ± 337.1 pg/ml) que en el grupo de los ag-GnRH (306.0 ± 355.6 pg/ml) sin alcanzar la significación estadística. Existen publicaciones en las que se mide este mismo parámetro en las donantes de ovocitos sometidas a estimulación ovárica en programas de ovodonación (Prapas et al, 2005) y en ciclos estimulados para FIV/ICSI (Albano et al, 2000) (Minaretzis et al, 1995) en las que los niveles mayores de E₂ sérico se dan en el grupo de los ag-GnRH respecto a los ant-GnRH. Ahora bien no se trata del mismo tipo de paciente ni del mismo protocolo, lo que podría justificar estos resultados contrarios a los obtenidos en nuestro estudio. Asimismo, en otra publicación con donantes de ovocitos se comparó la estimulación con ag-GnRH y ant-GnRH (dosis estándar y dosis altas), y se observó un nivel de E₂ mayor con la utilización de ag-GnRH en comparación con los ant-GnRH desde el día 8 de la estimulación hasta el día hCG+2 (Simon et al, 2005), siendo el tipo de paciente y el protocolo de nuevo distinto al que reciben las receptoras de ovocitos.

No se encontraron diferencias en cuanto al patrón endometrial y el grosor del mismo alcanzado entre grupos en nuestro estudio. En cuanto a los días de espera hasta la transferencia se observó un mayor número de días con los ag-GnRH (20 vs 23.5).

En nuestro estudio observamos una mayor tasa de cancelación (19.2% vs 12.7%) significativa en el grupo de los ant-GnRH. Ahora bien, hay que resaltar que el estudio fue aleatorizado, y que algunas de las causas de cancelación son ajenas al equipo investigador (autocancelaciones) o independientes de la receptora de ovocitos (fallo de fecundación, detención del desarrollo embrionario) y del tratamiento recibido. La principal causa de cancelación del ciclo fue el sangrado vaginal (5.1%), que ocurrió en un 6.8% en el grupo de los ant-GnRH respecto a un 3.7% en el de ag-GnRH, siendo esta diferencia no estadísticamente significativa. Éste es uno de los problemas que podemos encontrarnos con la utilización de los ant-GnRH, y que en este estudio supone

que tengamos una mayor tasas de cancelación. Se deberían plantear medidas con el fin de intentar reducir esta tasa de sangrado. Disminuir los días en la lista de espera, mediante la utilización de ovocitos vitrificados podría hacer que disminuyéramos el sangrado.

Otro problema que encontramos al analizar el ensayo es que inesperadamente el porcentaje de blastocistos transferidos fue mayor en el grupo de los ant-GnRH. Esto no se tuvo en cuenta en el momento del diseño del estudio, de forma que no se supo hasta analizar los resultados. La causas de la mayor transferencia en estadio de blastocisto fueron: por indicación médica o a petición de los pacientes, por problemas logísticos, o por situaciones relacionadas con el desarrollo embrionario. En el grupo de los ag-GnRH existieron un 7% más de mujeres que alcanzaron transferencia embrionaria de manera estadísticamente significativa, debido a que la tasa de cancelación de transferencia en el grupo de ant-GnRH fue significativamente mayor (19.2% vs 12.7%), debido sobre todo a la ya comentada mayor tasa de sangrado vaginal.

Una revisión Cochrane del 2012 publica tasas de implantación muy variables, que oscilan entre el 3% y el 43.9% para embriones en día 2-3 de desarrollo, a tasas de entre el 4.2% y el 55.8% para embriones en estadio de blastocisto (Glujovsky et al, 2012), ahora bien los estudios más recientes presentan unas mayores tasas de implantación en el grupo de blastocistos. En nuestro estudio se transfirieron un 15% más de embriones en estadio de blastocisto en el grupo de los ant-GnRH, lo cual nos planteó la duda de si el 8% más de tasa de implantación obtenida en el grupo de los ant-GnRH por transferencia embrionaria, estadísticamente significativo, era debido a este hecho. Esto hizo que lleváramos a cabo un subanálisis de las tasas de embarazo, embarazo evolutivo y de implantación en función del momento de desarrollo embrionario en el que se llevó a cabo la transferencia embrionaria, mostrado en el apartado de resultados. Así, se obtuvieron mejores resultados en el grupo de los ant-GnRH en todos los supuestos. Al hacer la regresión lineal teniendo en cuenta el estadio embrionario en el momento de la transferencia, se observa una taa de

Discusión

implantación por embrión significativamente mayor en el grupo que recibió ant-GnRH. Por tanto, que independientemente del estadio en que se transfirió el embrión, hubo un 7% más de embriones que implantaron en el grupo de ant-GnRH.

La tasa de abortos, aunque no significativa, sí que es mayor en el grupo de los ag-GnRH sin poder saber si es debido a la tan debatida persistencia del efecto deletéreo de los ag-GnRH (Devreker et al, 1996), ni si esto podría también haber influido en el mayor número de embarazos ectópicos que se dieron en el grupo de los ag-GnRH, que llegaron a ser el doble.

Será necesario realizar estudios posteriores que puedan esclarecer el mecanismo por el cual los ant-GnRH mejoran la receptividad endometrial en las receptoras de ovocitos, tal y como queda argumentado en el presente estudio. Deben tenerse en consideración los ant-GnRH en la preparación endometrial de las pacientes receptoras de ovocitos durante la fase proliferativa inicial como alternativa a la supresión hipofisaria prolongada con ag-GnRH de depósito, dado que se obtienen mejores tasas de implantación y gestación clínica y se reducen la tasas de abortos bioquímicos.

VII. CONCLUSIONES

- Entre las mujeres receptoras de ovocitos del programa de donación de ovocitos que lograron transferencia embrionaria, el empleo de los ant-GnRH para lograr la supresión hipofisaria se asoció a unas mejores tasas de recién nacido vivo y de gestación tanto clínica como bioquímica y evolutiva, así como con una mayor tasa de implantación e implantación evolutiva, en relación con las receptoras en las que se emplearon ag-GnRH de depósito.
- Unas menores tasas de aborto se obtuvieron con los ant-GnRH pero sin lograr significación estadística.
- Igualmente, se produjeron menos casos de gestaciones ectópicas en el grupo de ant-GnRH.
- No presentaron diferencias ambos grupos a nivel endometrial (patrón endometrial y grosor endometrial) en función del tipo de a-GnRH utilizado en la supresión hipofisaria de la receptora de ovocitos.
- Los niveles de estradiol sérico alcanzados fueron mayores en el grupo de los ant-GnRH respecto al de los ag-GnRH.
- La tasa de cancelación fue mayor en el grupo de los ant-GnRH. La principal causa de cancelación fue el sangrado vaginal, el cual aunque superior en el grupo de los ant-GnRH no fue estadísticamente significativo.
- El empleo de ant-GnRH para la preparación de la receptora de ovocitos es por tanto una útil, efectiva y segura herramienta como alternativa a los clásicos ag-GnRH.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

1. Abdalla HI, Brooks AA, Johnson MR, Kirkland A, Thomas A, Studd JW. «Endometrial thickness: a predictor of implantation in ovum recipients?» *Hum Reprod* 9 (1994): 263-65.
2. Alam V, Bernardini L, Gonzales J, Asch RH, Balmaceda JP. «A prospective study of echographic endometrial characteristics and pregnancy rates during hormonal replacement cycles.» *J Assist Reprod Genet* 10 (1993): 215-19.
3. Alamá P, Labarta E, Privitera L, Gaikwad S A, Remohí J. «Donante de óvulos.» Cap. 31 de *Manual práctico de Esterilidad y Reproducción Humana*, de Bellver, Matorras, Ballesteros, Pellicer, 349-60. Editorial Médica panamericana, 2012.
4. Albano C, Felberbaum RE, Smitz J, Riethmüller-Winzen H, Engel J, Diedrich K, Devroey P. «Ovarian stimulation with HMG: results of a prospective randomized phase III European study comparing the luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH)-antagonist cetrotorelix and the LHRH-agonist buserelin. European Cetrotorelix Study Group.» *Hum Reprod* 15 (2000): 526-31.
5. Albano C, Smitz J, Camus M, Riethmüller-Winzen H, Van Steirteghem A, Devroey P. «Comparison of different doses of gonadotropin-releasing hormone antagonist Cetrotorelix during controlled ovarian hyperstimulation.» *Fertil Steril* 67 (1997): 917-22.
6. Albuquerque LE, Saconato H, Maciel MC. «Depot versus daily administration of gonadotrophin releasing hormone agonist protocols for pituitary desensitization in assisted reproduction cycles.» *Cochrane Database Syst Rev* 25 (2005): CD002808.
7. Albuquerque LE, Tso LO, Saconato H, Albuquerque MC, Macedo CR. «Depot versus daily administration of gonadotrophin-releasing hormone

Bibliografia

- agonist protocols for pituitary down regulation in assisted reproduction cycles.» *Cochrane Database Syst Rev* 31 (2013): CD002808.
8. Al-Inany H, Aboulghar M. «Gonadotrophin-releasing hormone antagonists for assisted conception.» *Cochrane Database Syst Rev* (2001): CD001750.
 9. Al-Inany H, Aboulghar MA, Mansour RT, Serour GI. «Optimizing GnRH antagonist administration: meta-analysis of fixed versus flexible protocol.» *Reprod Biomed Online* 10 (2005): 567-70.
 10. Al-Inany HG, Abou-Setta AM, Aboulghar M. «Gonadotrophin-releasing hormone antagonists for assisted conception.» *Cochrane Database Syst Rev* (2006): CD001750.
 11. Al-Inany HG, Youssef MA, Aboulghar M, Broekmans F, Sterrenburg M, Smit J, Abou-Setta AM. «Gonadotrophin-releasing hormone antagonists for assisted reproductive technology.» *Cochrane Database Syst Rev*. 11, n° 5 (2011): CD001750.
 12. Andersen AN, Gianaroli L, Felberbaum R, de Mouzon J, Nygren KG, European IVF-monitoring programme (EIM), European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE). «Assisted reproductive technology in Europe, 2001. Results generated from European registers by ESHRE.» *Hum Reprod* 20 (2005): 1158-76.
 13. Andersen AN, Yue Z, Meng FJ, Petersen K. «Low implantation rate after in-vitro fertilization in patients with hydrosalpinges diagnosed by ultrasonography.» *Hum Reprod* 9 (1994): 1935-38.
 14. Augood C, Duckitt K, Templeton AA. «Smoking and female infertility: a systematic review and meta-analysis.» *Hum Reprod* 13 (1998): 1532-39.

15. Ayers JW, Birenbaum DL, Menon KM. «Luteal phase dysfunction in endometriosis: elevated progesterone levels in peripheral and ovarian veins during the follicular phase.» *Fertil Steril* 47 (1987): 925-29.
16. Balasch JI, Martinez F, Jové I, Cabré L, Coroleu B, Barri PN, Vanrell JA. «Inadvertent gonadotrophin-releasing hormone agonist (GnRHa) administration in the luteal phase may improve fecundity in in-vitro fertilization patients.» *Hum Reprod* 8, nº 7 (1993): 1148-51.
17. Barnhart K, Dunsmoor-Su R, Coutifaris C. «Effect of endometriosis on in vitro fertilization.» *Fertil Steril* 77 (2002): 1148-55.
18. Bellver J, Melo M, Bosch E, Serra V, Remohí J, Pellicer A. «Obesity and poor reproductive outcome: the subtle role of the endometrium.» *Fertil Steril* 88 (2007): 446-51.
19. Bildirici I, Bukulmez O, Ensari A, Yarali H, Gurgan T. «A prospective evaluation of the effect of salpingectomy on endometrial receptivity in cases of women with communicating hydrosalpinges.» *Hum Reprod* 16 (2001): 2422-26.
20. Borini A, Bianchi L, Violini F, Maccolini A, Cattoli M, Flamigni C. «Oocyte donation program: pregnancy and implantation rates in women of different ages sharing oocytes from single donor.» *Fertil Steril* 65 (1996): 94-7.
21. Borini A, Violini F, Bianchi L, Bafaro MG, Trevisi MR, Flamigni C. «Improvement of pregnancy and implantation rates in cyclic women undergoing oocyte donation after long-term down-regulation.» *Hum Reprod* 10 (1995): 3018-21.
22. Borini A, Dal Prato L, Bianchi L, Violini F, Cattoli M, Flamigni C. «Effect of duration of estradiol replacement on the outcome of oocyte donation.» *J Assist Reprod Genet* 18 (2001): 185-90.

Bibliografía

23. Bosch E, Pinilla L, Vargas G, Simón C, Pellicer J. «Analysis of factors predicting bleeding during endometrial preparation with estrogens for oocyte donation.» *Fertil Steril* Suppl 1, nº P-343 (2001): 225.
24. Bosch E, Valencia I, Escudero E, Crespo J, Simón C, Remohí J, Pellicer A. «Premature luteinization during gonadotropin-releasing hormone antagonist cycles and its relationship with in vitro fertilization outcome.» *Fertil Steril* 80 (2003): 44-1449.
25. Broqua P, Riviere PJ, Conn PM, Rivier JE, Aubert ML, Junien JL. «Pharmacological profile of a new, potent, and long-acting gonadotropin-releasing hormone antagonist: degarelix.» *J Pharmacol Exp Ther* 301 (2002): 95-102.
26. Brosens J, Verhoeven H, Campo R, Gianaroli L, Gordts S, Hazekamp J, Hägglund L, Mardesic T, Varila E, Zech J, Brosens I. «High endometrial aromatase P450 mRNA expression is associated with poor IVF outcome.» *Hum Reprod* 19 (2004): 352-56.
27. Brothers SP, Janovick JA, Maya-Nunez G, Cornea A, Han XB, Conn PM. «Conserved mammalian gonadotropin-releasing hormone receptor carboxyl terminal amino acids regulate ligand binding, effector coupling and internalization.» *Moll Cell Endocrinol* 190 (2002): 19-27.
28. Bruna I, Coroleu B, Bajo JM. «Estudio protocolizado de la pareja estéril.» En *Fundamentos de Reproducción*, de Bajo Arenas JM, 48-56. Madrid: S.E.G.O., 2009.
29. Budak E, Garrido N, Soares SR, Melo MA, Meseguer M, Pellicer A, Remohí J. «Improvements achieved in an oocyte donation program over a 10-year period: sequential increase in implantation and pregnancy rates and decrease in high-order multiple pregnancies.» *Fertil Steril* 88, nº 2 (Aug 2007): 342-9.

30. Busso C, Melo MB, Budak E, García G. «Ciclo natural y protocolos de estimulación mínima.» En *Manual práctico de esterilidad y reproducción humana.*, de Bellver J, Domingo J, Bosch E, Pellicer A. Remohí J, 443-449. Aravaca (Madrid): McGraw Hill-Interamericana, 2008.
31. Bustillo M, Krysa LW, Coulam CB. «Uterine receptivity in an oocyte donation programme.» *Hum Reprod* 10 (1995): 442-5.
32. Calaf J, Espinós JJ, Targa C. «Regulación neuroendocrina de la función gonadal. eseroiogénesis y acción de las hormonas esteroides.» En *Fundamentos de Reproduccion*, de Coroleu Lletget B Bajo Arenas JM, 13-22. Madrid: S.E.G.O., 2009.
33. Calaf J., Webb SM. «Regulación central de la función gonadal.» Cap. 2 de *Fertilidad y esterilidad humanas*, de Calaf J, Balasch J, Viscasillas P Vanrell JA. Barcelona: Masson, 2000.
34. Camus E, Poncelet C, Goffinet F, Wainer B, Merlet F, Nisand I, Philippe HJ. «Pregnancy rates after in-vitro fertilization in cases of tubal infertility with and without hydrosalpinx: a meta-analysis of published comparative studies.» *Hum Reprod* 14 (1999): 1243-49.
35. Cantineau AEP, Cohlen BJ, Heineman MJ. «Protocolos de estimulación ovárica antiestrógenos, gonadotropinas con y sin agonistas/antagonistas de GnRH) para la inseminación intrauterina en mujeres con subfertilidad (Revisión Cochrane traducida).» En: *La Biblioteca Cochrane Plus* (Oxford: Update Software Ltd.), nº 2 (2008).
36. Casañ EM, Raga F, Bonilla F, Alfaro L, Bonilla-Musoles F. «Administration of GnRH antagonist (GnRH-ant) to oocyte donation recipients:clinical and biological results.» *Hum Reprod* 21 (Sup 1) (2006): 113-293.
37. Casañ EM, Raga F, Bonilla-Musoles F, Polan ML. «Human oviductal gonadotropin-releasing hormone: possible implications in fertilization,

Bibliografía

- early embryonic development, and implantation.» *J Clin Endocrinol Metab* 85 (2000): 1377-81.
38. Check JH, Dietterich C, Choe JK, Cohen R. «Effect of triple line vs isoechogenic endometrial texture on pregnancy outcome following embryo transfer according to use of controlled ovarian stimulation (COH) or estrogen/progesterone replacement.» *Clin Exp Obstet Gynecol.* 40, nº 1 (2013): 37-9.
39. Check JH, Nowroozi K, Choe J, Lurie D, Dietterich C. «The effect of endometrial thickness and echo pattern on in vitro fertilization outcome in donor oocyte-embryo transfer cycle.» *Fertil Steril* 59 (1993): 72-5.
40. Cobo A, Bosch E, Alvarez C, de los Santos MJ, Pellicer A, Remohí J. «Effect of a sharp serum oestradiol fall before hCG administration during ovarian stimulation in donors. *Reprod Biomed Online.*» 15 (2007): 169-74.
41. Cobo A, Kuwayama M, Perez S, Ruiz A, Pellicer A, Remohí J. «Comparison of concomitant outcome achieved with fresh and cryopreserved donor oocytes vitrified by the cryotop method.» *Fertil Steril* 89 (2008c): 1657-64.
42. Cobo A, Meseguer M, Remohí J, Pellicer A. «Use de cryo-banked oocytes in an ovum donation programme: a prospective, randomized, controlled, clinical trial.» *Human Reproduction* 25, nº 9 (2010): 2239-46.
43. Coulam CB, Bustillo M, Soenksen DM, Britten S. «Ultrasonographic predictors of implantation after assisted reproduction.» *Fertil Steril* 62 (1994): 1004-10.
44. Crha I, Hrubá D, Fiala J, Ventruba P, Záková J, Petrenko M. «The outcome of infertility treatment by in-vitro fertilisation in smoking and non-smoking women.» *Cent Eur J Public Health* 9 (2001): 64-8.

45. Cunha-Filho JS, Gross JL, Bastos de Souza CA, Lemos NA, Giugliani C, Freitas F, Passos EP. «Physiopathological aspects of corpus luteum defect in infertile patients with mild/minimal endometriosis.» *J Assist Reprod Genet* 20 (2003): 117-21.
46. Dal Prato L, Borini A, Cattoli M, Bonu MA, Sciajno R, Flamigni C. «Endometrial preparation for frozen-thawed embryo transfer with or without pretreatment with gonadotropin-releasing hormone agonist.» *Fertil Steril* 77 (2002): 956-60.
47. Dal Prato L, Borini A, Cattoli M, Bonu MA, Sereni E, Flamigni C. «GnRH analogs: depot versus short formulations.» *Eur J Obstet Gynecol Reprod Bio*. 115 Suppl (2004): S40-43.
48. Darwish AM, El Saman AM. «Is there a role for hysteroscopic tubal occlusion of functionless hydrosalpinges prior to IVF/ICSI in modern practice?» *Acta Obstet Gynecol Scan* 86 (2007): 1484-89.
49. Daya S, Gunby J. «Luteal phase support in assisted reproduction cycles.» *Cochrane Database Syst Rev* 3 (2008): CD004830.
50. Daya. «WITHDRAWN: Gonadotrophin-releasing hormone agonist protocols for pituitary desensitization in in vitro fertilization and gamete intrafallopian transfer cycles.» *Cochrane Database Syst Rev* 18 (2007): CD001299.
51. de Ziegler D, SaA randomized trial comparing the endometrial effects of Mifepristone M, Binelli D, Leuratti C, Cometti B, Bourgain C, Fu YS, Garhöfer G. «A randomized trial comparing the endometrial effects of daily subcutaneous administration of 25 mg and 50 mg progesterone in aqueous preparation.» *Fertil Steril* 100, n° 3 (Sep 2013): 860-6.
52. Dessolle L, Daraï E, Cornet D, Rouzier R, Coutant C, Mandelbaum J, Antoine JM. «Determinants of pregnancy rate in the donor oocyte model:

Bibliografía

- a multivariate analysis of 450 frozen-thawed embryo transfers.» *Hum Reprod* 24 (2009): 3082-89.
53. DeUgarte DA, DeUgarte CM, Sahakian V. «Surrogate obesity negatively impacts pregnancy rates in third-party reproduction.» *Fertil Steril* 93 (2010): 1008-10.
54. Devreker F, Govaerts I, Bertrand E, Van den Bergh M, Gervy C, Englert Y. «The long-acting gonadotropin-releasing hormone analogues impaired the implantation rate.» *Fertil Steril* 65 (1996): 122-26.
55. Devroey P, Wisanto A, Camus M, Van Waesberghe L, Bourgain C, Liebaers I, Van Steirteghem AC. «Oocyte donation in patients without ovarian function.» *Hum Reprod* 3 (1988): 699-704.
56. Devroey P, Pados G. «Preparation of endometrium for egg donation.» *Hum Reprod Update* 4 (1998): 856-61.
57. Devroey P, Palermo G, Bourgain C, Van Waesberghe L, Smitz J, Van. «Progesterone administration in patients with absent ovaries.» *Int J Fertil* 34 (1989): 188-93.
58. Díaz I, Navarro J, Blasco L, Simón C, Pellicer A, Remohí J. «Impact of stage III-IV endometriosis on recipients of sibling oocytes: matched case-control study.» *Fertil Steril* 74 (2000): 31-4.
59. Diedrich K, Diedrich C, Santos E, Zoll C, al-Hasani S, Reissmann T, Krebs D, Klingmüller D. «Suppression of the endogenous luteinizing hormone surge by the gonadotrophin-releasing hormone antagonist Cetrorelix during ovarian stimulation.» *Hum Reprod* 9 (1994): 788-91.
60. Dmowski WP, Michalowska J, Rana N, Friberg J, McGill-Johnson E, DeOrio L. «Subcutaneous estradiol pellets for endometrial preparation in

- donor oocyte recipients with a poor endometrial response.» *J Assist Reprod Genet* 14 (1997): 139-44.
61. Domingo J, Castellón G, Bosch E, Reis S, Remohí J. «Preparación endometrial en receptoras de ovocitos.» En *Manual práctico de esterilidad y reproducción humana*, de Bellver J, Domingo J, Bosch E, Pellicer A. Remohí J, 319-328. Aravaca (Madrid): McGraw-Hill/Interamericana de España, 2008.
62. Dong KW, Marcelin K, Hsu MI, Chiang CM, Hoffman G, Roberts JL. «Expression of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) gene in human uterine endometrial tissue.» *Mol Hum Reprod* 4, nº 9 (1998): 893-8.
63. Droesch K, Navot D, Scott R, Kreiner D, Liu HC, Rosenwaks Z. «Transdermal estrogen replacement in ovarian failure for ovum donation.» *Fertil Steril* 50 (1988): 931-4.
64. EFE. «ABC.es.» 7 de 5 de 2012. <http://www.abc.es/20120507/familia-padres-hijos/abci-reproduccion-asisitada-espana-201205070956.html> (último acceso: 12 de 6 de 2013).
65. Elter K, Nelson LR. «Use of third generation gonadotropin-releasing hormone antagonists in in vitro fertilization-embryo transfer: a review.» *Obstet Gynecol Surv* 56 (2001): 576-88.
66. El-Toukhy T, Taylor A, Khalaf Y, Al-Darazi K, Rowell P, Seed P, Braude P. «Pituitary suppression in ultrasound-monitored frozen embryo replacement cycles. A randomised study.» *Hum Reprod* 19, nº 4 (2004): 874-9.
67. Escudero E, Bosch E, Crespo J, Simón C, Remohí J, Pellicer A. «Comparison of two different starting multiple dose gonadotropin-releasing hormone antagonist protocols in a selected group of in vitro fertilization-embryo transfer patients.» *Fertil Steril* 81 (2004): 562-66.

Bibliografía

68. Fauser BC, Devroey P. «Why is the clinical acceptance of gonadotropin-releasing hormone antagonist cotreatment during ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization so slow?» *Fertil Steril* 83 (2005): 1607-11.
69. Fedorcsák P, Dale PO, Storeng R, Ertzeid G, Bjercke S, Oldereid N, Omland AK, Abyholm T, Tanbo T. «Impact of overweight and underweight on assisted reproduction treatment.» *Hum Reprod* 19, nº 11 (2004): 2523-28.
70. Fedorcsak P, Dale PO, Storeng R, Tanbo T, Abyholm T. «The impact of obesity and insulin resistance on the outcome of IVF or ICSI in women with polycystic ovarian syndrome.» *Hum Reprod* 16 (2001): 1086-91.
71. Feinman M, Sher G, Massaranni G, Vaught L, Andreyko J, Salem R, Zouves C, Dodge S. «High fecundity rates in donor oocyte recipients and in-vitro fertilization surrogates using parenteral oestradiol valerate.» *Hum Reprod* 8 (1993): 1145-47.
72. Fernández L, Nicolás M, Landeras J, López D, Amorocho B, Albero P. «Estimulación ovárica con agonistas GnRH. Protocolo largo.» En *Manual práctico de esterilidad y reproducción humana*, de Bellver J, Domingo J, Bosch E, Pellicer A Remohí J, 179-188. Aravaca, Madrid: McGraw-Hill/Interamericana de España, 2008.
73. Fernández-Sánchez M, Bosch E, Caligara C. «Donación de ovocitos.» En *Fundamentos de Reproducción*, de Bajo Arenas JM, 264-268. Madrid: S.E.G.O., 2009.
74. Garcia-Velasco JA, Isaza V, Caligara C, Pellicer A, Remohí J, Simón C. «Factors that determine discordant outcome from shared oocytes.» *Fertil Steril* 80 (2003): 54-60.

75. Garcia-Velasco JA, Nikas G, Remohí J, Pellicer A, Simón C. «Endometrial receptivity in terms of pinopode expression is not impaired in women with endometriosis in artificially prepared cycles.» *Fertil Steril* 75 (2001): 1231-32.
76. Ghobara T, Vandekerckhove P. «Cycle regimens for frozen-thawed embryo transfer.» *Cochrane Database Syst Rev* 23, nº 1 (2008): CD003414.
77. Gibbons WE, Toner JP, Hamacher P, Kolm P. «Experience with a novel vaginal progesterone preparation in a donor oocyte program.» *Fertil Steril* 69 (1998): 96-101.
78. Glujovsky D, Blake D, Farquhar C, Bardach A. «Cleavage stage versus blastocyst stage embryo transfer in assisted reproductive technology.» *Cochrane Database Syst Rev* 7 (Jul 2012): CD002118.
79. Glujovsky D, Pesce R, Fisz bajn G, Sueldo C, Hart RJ, Ciapponi A. «Endometrial preparation for women undergoing embryo transfer with frozen embryos or embryos derived from donor oocytes.» *Cochrane Database Syst Rev* 20, nº 1 (2010): CD006359.
80. Gonen Y, Dirnfeld M, Goldman S, Koifman M, Abramovici H. «The use of long-acting gonadotropin-releasing hormone agonist (GnRH-a; decapeptyl) and gonadotropins versus short-acting GnRH-a (buserelin) and gonadotropins before and during ovarian stimulation for in vitro fertilization (IVF).» *J In Vitro Fert Embryo Transf.* 8 (1991): 254-259.
81. González R, Quintana J, Campos I, Magán R, Ballesteros A. «Estudio de la mujer estéril.» En *Manual práctico de esterilidad y reproducción humana*, de Remohí J et al, 1-10. Madrid: McGraw-Hill/Interamericana de España, 2008.

Bibliografia

82. Groenewoud ER, Cantineau AE, Kollen BJ, Macklon NS, Cohlen BJ. «What is the optimal means of preparing the endometrium in frozen-thawed embryo transfer cycles? A systematic review and meta-analysis.» *Hum Reprod Update* 19, n° 5 (2013): 458-70.
83. Hayflick JS, Adelman JP, Seeburg PH. «The complete nucleotide sequence of the human gonadotropin-releasing hormone gene.» *Nucleic Acids Res* 17 (1989): 6403-04.
84. Hickey M, Fraser I. «Human uterine vascular structures in normal and diseased states.» *Microsc Res Tech* 60 (2003): 377-89.
85. Hill MJ, Whitcomb BW, Lewis TD, Wu M, Terry N, DeCherney AH, Levens ED, Propst AM. «Progesterone luteal support after ovulation induction and intrauterine insemination: a systematic review and meta-analysis.» *Fertil Steril* 100, n° 5 (Nov 2013): 1373-80.
86. Hughes EG, Fedorkow DM, Daya S, Sagle MA, Van de Koppel P, Collins JA. «The routine use of gonadotropin-releasing hormone agonists prior to in vitro fertilization and gamete intrafallopian transfer: a meta-analysis of randomized controlled trials.» *Fertil Steril* 58 (1992): 888-96.
87. Hurst BS, Tucker KE, Awoniyi CA, Schlaff WD. «Hydrosalpinx treated with extended doxycycline does not compromise the success of in vitro fertilization.» *Fertil Steril* 75 (2001): 1017-19.
88. Imai A, Takagi A, Tamaya T. «Gonadotropin-releasing hormone analog repairs reduced endometrial cell apoptosis in endometriosis in vitro.» *AM J Obstet Gynecol* 182 (2000): 1142-46.
89. Imthurn B, Macas E, Rosselli M, Keller PJ. «Effect of a programmed short-term stimulation protocol on the replacement of cryopreserved embryos.» *J Assist Reprod Genet* 13, n° 9 (1996): 709-12.

90. Ishihara H, Kitawaki J, Kado N, Koshiha H, Fushiki S, Honjo H. «Gonadotropin-releasing hormone agonist and danazol normalize aromatase cytochrome P450 expression in eutopic endometrium from women with endometriosis, adenomyosis, or leiomyomas.» *Fertil Steril* 79 (2003): 735-42.
91. Jick H, Porter J. «Relation between smoking and age of natural menopause. Report from the Boston Collaborative Drug Surveillance Program, Boston University Medical Center.» *Lancet* 1 (1977): 1354-55.
92. Johnson N, van Voorst S, Sowter MC, Strandell A, Mol BW. «Surgical treatment for tubal disease in women due to undergo in vitro fertilisation.» *Cochrane Database Syst Rev* 20 (2010): CD002125.
93. Kalfoglou AL, Geller G. «A follow-up study with oocyte donors exploring their experiences, knowledge, and attitudes about the use of their oocytes and the outcome of the donation.» *Fertil Steril* 74 (2000): 660-67.
94. King JA, Millar RP. «Evolutionary aspects of gonadotropin-releasing hormone and its receptor.» *Cell Mol Neurobiol* 15 (1995): 5-23.
95. Kitawaki J, Noguchi T, Amatsu T, Maeda K, Tsukamoto K, Yamamoto T, Fushiki S, Osawa Y, Honjo H. «Expression of aromatase cytochrome P450 protein and messenger ribonucleic acid in human endometriotic and adenomyotic tissues but not in normal endometrium.» *Biol Reprod* 57 (1997): 514-19.
96. Klonoff-Cohen H, Natarajan L, Marrs R, Yee B. «Effects of female and male smoking on success rates of IVF and gamete intra-Fallopian transfer.» *Hum Reprod* 16 (2001): 1382-90.
97. Knobil E. «The neuroendocrine control of the menstrual cycle.» *Rec Prog Horm Res* 36 (1980): 53-88.

Bibliografia

98. Kol S, Lightman A, Hillensjo T, Devroey P, Fauser B, Tarlatzis B, Mannaerts B, Itskovitz-Eldor J. «High doses of gonadotrophin-releasing hormone antagonist in in-vitro fertilization cycles do not adversely affect the outcome of subsequent freeze-thaw cycles.» *Hum Reprod* 14 (1999): 2242-44.
99. Kolibianakis EM, Collins J, Tarlatzis BC, Devroey P, Diedrich K, Griesinger G. «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 Update*. 12 (2006): 651-71.
100. Kolibianakis EM, Zikopoulos K, Schiettecatte J, Smitz J, Tournaye H, Camus M, Van Steirteghem AC, Devroey P. «Profound LH suppression after GnRH antagonist administration is associated with a significantly higher ongoing pregnancy rate in IVF.» *Hum Reprod* 19 (2004): 2490-96.
101. Kontoravdis A, Makrakis E, Pantos K, Botsis D, Deligeoroglou E, Creatsas G. «Proximal tubal occlusion and salpingectomy result in similar improvement in in vitro fertilization outcome in patients with hydrosalpinx.» *Fertil Steril* 86 (2006): 1642-49.
102. Krey LC, Butler WR, Knobil E. «Surgical disconnection of the medial basal hypothalamus and pituitary function in the rhesus monkey. I. Gonadotropin secretion.» *Endocrinology* 96 (1975): 1073-87.
103. Kuivasaari P, Hippeläinen M, Anttila M, Heinonen S. «Effect of endometriosis on IVF/ICSI outcome: stage III/IV endometriosis worsens cumulative pregnancy and live-born rates.» *Hum Reprod* 20 (2005): 3130-35.

104. Kunz G, Leyendecker G. «Uterine peristaltic activity during the menstrual cycle: characterization, regulation, function and dysfunction.» *Reprod Biomed Online* 4 (2002): 5-9.
105. Kyrou D, Kolibianakis EM, Fatemi HM, Tarlatzi TB, Devroey P, Tarlatzis BC. «Increased live birth rates with GnRH agonist addition for luteal support in ICSI/IVF cycles: a systematic review and meta-analysis.» *Hum Reprod Update* 17, nº 6 (2011): 734-40.
106. Lahat E, Raziell A, Friedler S, Schieber-Kazir M, Ron-El R. «Long-term follow-up of children born after inadvertent administration of a gonadotrophin-releasing hormone agonist in early pregnancy.» *Hum Reprod* 14, nº 10 (1999): 2656-60.
107. Leeton J, Rogers P, Cameron I, Caro C, Healy D. «Pregnancy results following embryo transfer in women receiving low-dosage variable-length estrogen replacement therapy for premature ovarian failure.» *J In Vitro Fert Embryo Transf* 6 (1989): 232-35.
108. Legro RS, Wong IL, Paulson RJ, Lobo RA, Sauer MV. «Recipient's age does not adversely affect pregnancy outcome after oocyte donation.» *Am J Obstet Gynecol* 172 (1995): 96-100.
109. Lewin A, Pisov G, Turgeman R, Fatum M, Shufaro Y, Simon A, Laufer N, Revel A, Reubinoff B, Safran A. «Simplified artificial endometrial preparation, using oral estradiol and novel vaginal progesterone tablets: a prospective randomized study.» *Gynecol Endocrinol* 16 (2002): 131-36.
110. Ley 14/2006, de 26 de Mayo, sobre Técnicas de Reproducción Humana Asistida. Vol. 126, de *BOE-A-2006-9292*, 19947 a 19956. 2006.
111. Libertun, C. «Fisiología del GnRH, mecanismos de acción de agonistas y antagonistas.» *Revista de Endocrinología Ginecológica y Reproductiva* 11 (2004).

Bibliografía

112. Lightman A, Kol S, Itskovitz-Eldor J. «A prospective randomized study comparing intramuscular with intravaginal natural progesterone in programmed thaw cycles.» *Human Reprod* 14 (1999): 2596-99.
113. Liu HC, Lai YM, Davis O, Berkeley AS, Graf M, Grifo J, Cohen J, Rosenwaks Z. «Improved pregnancy outcome with gonadotropin releasing hormone agonist (GnRH-a) stimulation is due to the improvement in oocyte quantity rather than quality.» *J Assist Reprod Genet* 9 (1992): 338-44.
114. Liu XR, Mu HQ, Shi Q, Xiao XQ, Qi HB. «The optimal duration of progesterone supplementation in pregnant women after IVF/ICSI.» *Reprod Biol Endocrinol* 13 (Dec 2012): 107.
115. Lutjen P, Trounson, A, Leeton J, Findlay J, Wood C, Renou P. «The establishment and maintenance of pregnancy using in vitro fertilization and embryo donation in a patient with primary ovarian failure.» *Nature* 307 (1984): 174-75.
116. Manno M, Marchesan E, Cicutto D, Zadro D, Favretti C, Tomei F. «Greater implantation and pregnancy rates with vaginal progesterone in intracytoplasmic sperm injection but not in in vitro fertilization cycles: a retrospective study.» *Fertil Steril* 83 (2005): 1391-96.
117. Martínez F, Latre L, Clua E, Rodriguez I, Coroleu B. «Replacing GnRH agonists with GnRH antagonists in oocyte recipient cycle did not adversely affect the pregnancy rates.» *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 159, nº 2 (2011): 355-8.
118. Martínez-Conejero JA, Morgan M, Montesinos M, Fortuño S, Meseguer M, Simón C, Horcajadas JA, Pellicer A. «Adenomyosis does not affect implantation, but is associated with miscarriage in patients undergoing oocyte donation.» *Fertil Steril* 96, nº 4 (Oct 2011): 943-50.

119. Maheshwari A, Gibreel A, Siristatidis CS, Bhattacharya S. «Gonadotrophin-releasing hormone agonist protocols for pituitary suppression in assisted reproduction.» *Cochrane Database Syst Rev* 10, (2011): CD006919.
120. Meldrum DR, Wisot A, Hamilton F, Gutlay-Yeo AL, Marr B, Huynh D. «Artificial agonadism and hormone replacement for oocyte donation.» *Fertil Steril* 52 (1989): 509-11.
121. Melo M, Busso CE, Bellver J, Alama P, Garrido N, Meseguer M, Pellicer A, Remohí J. «GnRH agonist versus recombinant HCG in an oocyte donation programme: a randomized, prospective, controlled, assessor-blind study.» *Reprod Biomed Online* 19 (2009): 486-92.
122. Meng Y, Guo Y, Qian Y, Guo X, Gao L, Sha J, Cui Y, Chian RC, Liu J. «Effects of GnRH antagonist on endometrial protein profiles in the window of implantation.» *Proteomics* 27 (Jul 2014): doi: 10.1002/pmic.201400145.
123. Meyer WR, Castelbaum AJ, Somkuti S, Sagoskin AW, Doyle M, Harris JE, Lessey BA. «Hydrosalpinges adversely affect markers of endometrial receptivity.» *Hum Reprod* 12 (1997): 1393-98.
124. Michalas S, Loutradis D, Drakakis P, Kallianidis K, Milingos S, Deligeoroglou E, Aravantinos D. «A flexible protocol for the induction of recipient endometrial cycles in an oocyte donation programme.» *Hum Reprod* 11 (1996): 1063-66.
125. Miles RA, Paulson RJ, Lobo RA, Press MF, Dahmouch L, Sauer MV. «Pharmacokinetics and endometrial tissue levels of progesterone after administration by intramuscular and vaginal routes: a comparative study.» *Fertil Steril* 62 (1994): 485-90.

Bibliografía

126. Minaretzis D, Alper MM, Oskowitz SP, Lobel Sm, Mortola JF, Pavlou SN. «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* 172, nº 5 (1995): 1518-25.
127. Mirkin S, Nikas, G, Hsiu JG, Díaz J, Oehninger S. «Gene expression profiles and structural/functional features of the peri-implantation endometrium in natural and gonadotropin-stimulated cycles.» *J Clin Endocrinol Metab* 89, nº 11 (2004): 5742-52.
128. Moomjy M, Cholst I, Mangieri R, Rosenwaks Z. «Oocyte donation: insights into implantation.» *Fertil Steril* 71 (1999): 15-21.
129. Navot D, Anderson TL, Droesch K, Scott RT, Kreiner D, Rosenwaks Z. «Hormonal manipulation of endometrial maturation.» *J Clin Endocrinol Metab* 68 (1989): 801-07.
130. Navot D, Bergh PA, Williams M, Garrisi GJ, Guzman I, Sandler B, Fox J, Schreiner Engel P, Hofmann GE, Grunfeld L. «An insight into early reproductive processes through the in vivo model of ovum donation.» *J Clin Endocrinol Metab* 72 (1991): 408-14.
131. Navot D, Scott RT, Droesch K, Veeck LL, Liu HC, Rosenwaks Z. «The window of embryo transfer and the efficiency of human conception in vitro.» *Fertil Steril* 55 (1991): 114-18.
132. Navot D, Laufer N, Kopolovic J, Rabinowitz R, Birkenfeld A, Lewin A, Granat M, Margalioth EJ, Schenker JG. «Artificially induced endometrial cycles and establishment of pregnancies in the absence of ovaries.» *N Engl J Med* 314 (1986): 806-11.

133. Neal MS, Hughes EG, Holloway AC, Foster WG. «Sidestream smoking is equally as damaging as mainstream smoking on IVF outcomes.» *Hum Reprod* 20 (2005): 2531-35.
134. Neill JD, Duck LW, Sellers JC, Musgrove LC. «A gonadotropin-releasing hormone (GnRH) receptor specific for GnRH II in primates.» *Biochem Biophys Res Commun* 282 (2001): 1012-18.
135. Neill. «Mammalian gonadotropin-releasing hormone (GnRH) receptor subtypes.» *Arch Physiol Biochem* 110 (2002): 129-36.
136. Neill, JD. «GnRH and GnRH Receptor Genes.» *Endocrinology* 143 (2002): 737-43.
137. Neuspiller F, Levy M, Remohí J, Ruiz A, Simón C, Pellicer A. «The use of long- and short-acting forms of gonadotrophin-releasing hormone analogues in women undergoing oocyte donation.» *Hum Reprod* 13 (1998): 1148-51.
138. Nichols JE, Crane MM, Higdon HL, Miller PB, Boone WR. «Extremes of body mass index reduce in vitro fertilization pregnancy rates.» *Fertil Steril* 79 (2003): 645-47.
139. Nikas G, Aghajanova L. «Endometrial pinopodes: some more understanding on human implantation?» *Reprod Biomed Online* 4 (2002): 18-23.
140. Nikolics K, Mason AJ, Szönyi E, Ramachandran J, Seeburg PH. «A prolactin-inhibiting factor within the precursor for human gonadotropin-releasing hormone.» *Nature* 316 (1985): 511-17.
141. Noyes N, Hampton BS, Berkeley A, Licciardi F, Grifo J, Krey L. «Factors useful in predicting the success of oocyte donation: a 3-year retrospective analysis.» *Fertil Steril* 76 (2001): 92-7.

Bibliografia

142. Oborná I, Novotný R, Brezinová J, Petrová P, Lichnovský V, Fingerová H. «Changes in the development of uterine pinopodes in steroid hormone supplemented cycles.» *Physiol Res* 53 (2004): 423-29.
143. Olivennes F, Diedrich K, Frydman R, Felberbaum RE, Howles CM, Group, Cerotide Multiple Dose International Study, Group, Cetrotide Single Dose International Study. «Safety and efficacy of a 3 mg dose of the GnRH antagonist cetrorelix in preventing premature LH surges: report of two large multicentre, multinational, phase IIIb clinical experiences.» *Reprod Biomed Online* 6 (2003): 432-38.
144. Ortmann O, Weiss JM, Diedrich K. «Embryo implantation and GnRH antagonists: ovarian actions of GnRH antagonists.» *Hum Reprod* 16 (2001): 608-11.
145. Ota H, Tanaka T. «Stromal vascularization in the endometrium during adenomyosis.» *Microsc Res Tech* 60 (2003): 445-49.
146. Papanikolaou EG, Bourgain C, Kolibianakis E, Tournaye H, Tournaye H, Devroey P. «Steroid receptor expression in late follicular phase endometrium in GnRH antagonist IVF cycles is already altered, indicating initiation of early luteal phase transformation in the absence of secretory changes.» *Hum Reprod* 20 (2005): 1541-47.
147. Pattinson HA, Taylor PJ, Pattinson MH. «The effect of cigarette smoking on ovarian function and early pregnancy outcome of in vitro fertilization treatment.» *Fertil Steril* 55 (1991): 780-83.
148. Paulson RJ. «Hormonal induction of endometrial receptivity.» *Fertil Steril* 96, n° 3 (2011): 530-5.
149. Paulson RJ, Hatch IE, Lobo RA, Sauer MV. «Cumulative conception and live birth rates after oocyte donation: implications regarding endometrial receptivity.» *Hum Reprod* 12 (1997): 835-39.

150. Pelinck MJ, Hoek A, Simons AH, Heineman MJ. «Efficacy of natural cycle IVF: a review of the literature.» *Human Reprod Update* 8 (2002): 129-39.
151. Pelinck MJ, Vogel NE, Hoek A, Simons AH, Arts EG, Mochtar MH, Beemsterboer S, Hondelink MN, Heineman MJ. «Cumulative pregnancy rates after three cycles of minimal stimulation IVF and results according to subfertility diagnosis: a multicentre cohort study.» *Hum Reprod* 21 (2006): 2375-83.
152. Porcu E, Dal Prato L, Seracchioli R, Fabbri R, Longhi M, Flamigni C. «Comparison between depot and standard release triptoreline in in vitro fertilization: pituitary sensitivity, luteal function, pregnancy outcome, and perinatal results.» *Fertil Steril* 62 (1994): 126-32.
153. Porcu E, Filicori M, Dal Prato L, Fabbri R, Seracchioli R, Colombi C, Flamigni C. «Comparison between depot leuprorelin and daily buserelin in IVF.» *Fertil Steril* 12 (1995): 15-9.
154. Prapas N, Prapas Y, Panagiotidis Y, Prapa S, Vanderzwalmen P, Schoysman R, Makedos G. «GnRH agonist versus GnRH antagonist in oocyte donation cycles: a prospective randomized study.» *Hum Reprod* 20, nº 6 (2005): 1516-20.
155. Prapas N, Tavaniotou A, Panagiotidis Y, Prapa S, Kasapi E, Goudakou M, Papatheodorou A, Prapas Y. «GnRH antagonists and endometrial receptivity in oocyte recipients: a prospective randomized trial.» *Reprod Biomed Online* 18 (2009): 276-81.
156. Privitera L, Alamá P, Gaikwad S A, Morgan M, Remohí J. «Donación de Ovocitos y preparación endometrial en receptoras.» Cap. 32 de *Manual práctico de Esterilidad y Reproducción Humana.*, de Bellver, Matorras,

Bibliografía

- Ballesteros, Pellicer. Remohí, 361-71. Editorial Médica panamericana, 2012.
157. Puregon. «A double-blind, randomized, dose-finding study to assess the efficacy of the gonadotrophin-releasing hormone antagonist ganirelix (Org 37462) to prevent premature luteinizing hormone surges in women undergoing ovarian stimulation with recombinant FSH.» *Hum Reprod* 13 (1998): 3023-31.
158. Purewal S, van den Akker OB. «Systematic review of oocyte donation: investigating attitudes, motivations and experiences.» *Hum Reprod Update* 15 (2009): 499-515.
159. Raga F, Casañ EM, Kruessel J, Wen Y, Bonilla-Musoles F, Polan ML. «The role of gonadotropin-releasing hormone in murine preimplantation embryonic development.» *Endocrinology* 140 (1999): 3705-12.
160. Raga F, Casañ EM, Kruessel JS, Wen Y, Huang HY, Nezhat C, Polan ML. «Quantitative gonadotropin-releasing hormone gene expression and immunohistochemical localization in human endometrium throughout the menstrual cycle.» *Biol Reprod.* 59, nº 3 (Sep 1998): 661-9.
161. Real Decreto 1301/2006. «Normas de calidad y seguridad para la donación, la obtención, la evaluación, el procesamiento, la preservación, el almacenamiento y la distribución de células y tejidos humanos y se aprueban las normas de coordinación y funcionamiento para su uso en humano.» En *BOE-A-2006-19625*, 39475-39502.
162. Remohí J, Gartner B, Gallardo E, Yalil S, Simón C, Pellicer A. «Pregnancy and birth rates after oocyte donation.» *Fertil Steril* 67 (1997): 717-23.
163. Remohí J, Gutiérrez A, Vidal A, Tarín JJ, Pellicer A. «The use of gonadotrophin-releasing hormone analogues in women receiving oocyte

- donation does not affect implantation rates.» *Human Reprod* 9, nº 9 (1994): 1761-4.
164. Remohí J, Vidal A, Pellicer A. «Oocyte donation in low responders to conventional ovarian stimulation for in vitro fertilization.» *Fertil Steril* 59 (1993): 1208-15.
165. Remohí J, Gutiérrez A, Cano F, Ruiz A, Simón C, Pellicer A. «Long oestradiol replacement in an oocyte donation programme.» *Hum Reprod* 10 (1995): 1387-91.
166. Romeu A, Monzó A, Romeu M. «FIV-ICSI: Indicaciones, metodología, factores pronósticos.» En *Fundamentos de Reproducción*, de Bajo Arenas JM, 223-243. Madrid: S.E.G.O., 2009.
167. Rosenwaks. «Donor eggs: their application in modern reproductive technologies.» *Fertil Steril*, 1987: 895-909.
168. Royal College of Obstetricians and Gynecologist. «Assessment and treatment for people with fertility problems developed by the National Collaborating Centre for Women and Children's Health on behalf of the Nacional Institute for Clinical Excellence (NICE).» *Nacional Evidence-Based Clinical Guidelines* (2004).
169. Sallam HN, Garcia-Velasco JA, Dias S, Arici A. «Long-term pituitary down-regulation before in vitro fertilization (IVF) for women with endometriosis.» *Cochrane Database Syst Rev* 25 (2006): CD004635.
170. Santalla A, Calderón MA, López-Criado MS, Fontes J, López-Jurado R, Martínez-Navarro L. «Donación de ovocitos.» *Clin Invest Gin Obst*, 2008: 131-37.
171. Seli E, Kayisli UA, Cakmak H, Bukulmez O, Bildirici I, Guzeloglu-Kayisli O, Arici A. «Removal of hydrosalpinges increases endometrial leukaemia

Bibliografía

- inhibitory factor (LIF) expression at the time of the implantation window.» *Hum Reprod* 20 (2005): 3012-17.
172. Seshagiri PB, Terasawa E, Hearn JP. «The secretion of gonadotrophin-releasing hormone by peri-implantation embryos of the rhesus monkey: comparison with the secretion of chorionic gonadotrophin.» *Hum Reprod* 9 (1994): 1300-7.
173. Shapiro H, Cowell C, Casper RF. «The use of vaginal ultrasound for monitoring endometrial preparation in a donor oocyte program.» *Fertil Steril* 59 (1993): 1055-58.
174. Sharpe-Timms K, Keisler LW, McIntushEW, Keisler DH. «Tissue inhibitor of metalloproteinase-1 concentrations are attenuated in peritoneal fluid and sera of women with endometriosis and restored in sera by gonadotropin-releasing hormone agonist therapy.» *Fertil Steril* 69 (1998): 1128-34.
175. Sherwood NM, Lovejoy DA, Coe IR. «Origin of mammalian gonadotropin-releasing hormones.» *Endocr Rev* 14 (1993): 241-54.
176. Shiverick KT, Salafia C. «Cigarette smoking and pregnancy I: ovarian, uterine and placental effects.» *Placenta* 20 (1999): 265-72.
177. Simón A, Hurwitz A, Zentner BS, Bdolah Y, Laufer N. «Transfer of frozen-thawed embryos in artificially prepared cycles with and without prior gonadotrophin-releasing hormone agonist suppression: a prospective randomized study.» *Hum Reprod* 13 (1998): 2712-17.
178. Simón C, Gutiérrez A, Vidal A, de los Santos MJ, Tarín JJ, Remohí J, Pellicer A. «Outcome of patients with endometriosis in assisted reproduction: results from in-vitro fertilization and oocyte donation.» *Hum Reprod* 9 (1994): 725-29.

179. Simón C, Oberyé J, Bellver J, Vidal C, Bosch E, Horcajadas JA, Murphy C, Adams S, Riesewijk A, Mannaerts B, Pellicer A. «Similar endometrial development in oocyte donors treated with either high- or standard-dose GnRH antagonist compared to treatment with a GnRH agonist or in natural cycles.» *Hum Reprod* 20 (2005): 3318-27.
180. Soares S, Troncoso C, Bosch E, Serra V, Simón C, Remohí J, Pellicer A. «Age and Uterine Receptiveness: Predicting the outcome of oocyte donation cycles.» *J Clin Endocrinol Metab* 90 (2005): 4399-04.
181. Soares SR, Velasco JA, Fernandez M, Bosch E, Remohí J, Pellicer A, Simón C. «Clinical factors affecting endometrial receptiveness in oocyte donation cycles.» *Fertil Steril* 89 (2008): 491-501.
182. Soares SR, Simón C, Remohí J, Pellicer A. «Cigarette smoking affects uterine receptiveness.» *Hum Reprod* 22 (2007): 543-47.
183. Soares SR, Domingo J, Bosch E, Remohí J. «Donación de ovocitos.» En *Manual práctico de esterilidad y reproducción humana*, de Bellver J, Domingo J, Bosch E, Pellicer A Remohí J, 309-317. Madrid: McGraw-Hill/Interamericana de España, 2007.
184. Speroff L, Fritz MA. «Neuroendocrinología.» En *Endocrinología ginecológica clínica y esterilidad*, de Fritz MA Speroff L, 145-85. Madrid: Lippincott Williams & Wilkins, 2006.
185. Speroff L, Fritz MA. «Técnicas de reproducción asistida.» En *Endocrinología Ginecológica Clínica y Esterilidad*, de Fritz MA Speroff L, 1215-74. Madrid: Lippincott Williams & Wilkins, 2006.
186. Steptoe PC, Edwards RG. «Birth after the reimplantation of a human embryo.» *Lancet* 2 (1978): 366.

Bibliografia

187. Strandell A, Lindhard A, Waldenström U, Thorburn J, Janson PO, Hamberger L. «Hydrosalpinx and IVF outcome: a prospective, randomized multicentre trial in Scandinavia on salpingectomy prior to IVF.» *Hum Reprod* 14 (1999): 2762-69.
188. Styne-Gross A, Elkind-Hirsch K, Scott RT Jr. «Obesity does not impact implantation rates or pregnancy outcome in women attempting conception through oocyte donation.» *Fertil Steril* 83 (2005): 1629-34.
189. Sung L, Mukherjee T, Takeshige T, Bustillo M, Copperman AB. «Endometriosis is not detrimental to embryo implantation in oocyte recipients.» *J Assist Reprod Genet* 14 (1997): 152-56.
190. Surrey ES, Silverberg KM, Surrey MW, Schoolcraft WB. «Effect of prolonged gonadotropin-releasing hormone agonist therapy on the outcome of in vitro fertilization-embryo transfer in patients with endometriosis.» *Fertil Steril* 78 (2002): 699-704.
191. Taketani Y, Kuo TM, Mizuno M. «Comparison of cytokine levels and embryo toxicity in peritoneal fluid in infertile women with untreated or treated endometriosis.» *Am J Obstet Gynecol* 167 (1992): 265-70.
192. Tan HH1, Yeong CT, Loh KE. «Perinatal outcome of pregnancies after inadvertent exposure to gonadotrophin-releasing hormone analogue.» *Aust N Z J Obstet Gynaecol* 46, n° 4 (2006): 336-40.
193. Tarlatzis BC, Fauser BC, Kolibianakis EM, Diedrich K, Rombauts L, Devroey P. «GnRH antagonists in ovarian stimulation for IVF.» *Hum Reprod Update* 12 (2006): 333-40.
194. Tavaniotou A, Smitz J, Bourgain C, Devroey P. «Comparison between different routes of progesterone administration as luteal phase support in infertility treatments.» *Hum Reprod Update* 6 (2000): 139-48.

195. Tavaniotou A, Albano C, Van Steirteghem A, Devroey P. «The impact of LH serum concentration on the clinical outcome of IVF cycles in patients receiving two regimens of clomiphene citrate/gonadotrophin/0.25 mg cetorelix.» *Reprod Biomed Online* 6 (2003): 421-426.
196. Tocino A, Caligara C, Ramos J, Carranza F, González A, Fernández-Sánchez M. «Prospective randomized study to compare use of daily vs. depot GnRH analogue in endometrial preparation for oocyte donations cycles in recipients. *ASRM annual meeting*, 2007.
197. Toner JP, Grainger DA, Frazier LM. «Clinical outcomes among recipients of donated eggs: an analysis of the U.S. national experience, 1996-1998.» *Fertil Steril* 78 (2002): 1038-45.
198. Tourgeman DE, Gentzchein E, Stanczyk FZ, Paulson RJ. «Serum and tissue hormone levels of vaginally and orally administered estradiol.» *Am J Obstet Gynecol* 180 (1999): 1480-83.
199. Tourgeman DE, Slater CC, Stanczyk FZ, Paulson RJ. «Endocrine and clinical effects of micronized estradiol administered vaginally or orally.» *Fertil Steril* 75 (2001): 200-2.
200. Trouson A, Leeton J, Besako M et al. «Pregnancy established in an infertile patient after transfer of a donated embryo fertilized in vitro.» *Br Med J* 12 (1983): 835-8.
201. Turnbull LW, Lesny P, Killick SR. «Assessment of uterine receptivity prior to embryo transfer: a review of currently available imaging modalities.» *Human Reprod Update* 1 (1995): 505-14.
202. Ulukus M, Arici A. «Immunology of endometriosis.» *Minerva Ginecol* 57 (2005): 237-40.

Bibliografía

203. van Swieten EC, van der Leeuw-Harmsen L, Badings EA, van der Linden PJ. «Obesity and Clomiphene Challenge Test as predictors of outcome of in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection.» *Gynecol Obstet Invest* 59 (2005): 220-24.
204. Van Voorhis BJ, Huettner PC, Clark MR, Hill JA. «Immunohistochemical localization of prostaglandin H synthase in the female reproductive tract and endometriosis.» *Am J Obstet Gynecol* 163 (1990): 57-62.
205. Vani S, McDonald SE, Williams AR, Mason JI, Thong KJ, Critchley HO. «Mid-luteal endometrial intracrinology following controlled ovarian hyperstimulation involving use of a gonadotrophin releasing hormone antagonist.» *Hum Reprod* 22, nº 11 (2007): 2981-91.
206. Vargas G, Caligara C, Bosch E, Simón C, Remohí J, Pellicer A. «The use of long-acting forms of gonadotrophin-releasing hormone analogs (GnRHa) increase miscarriage rates in oocyte donation cycles.» *Fertil Steril* 76 Suppl 1 (2001): S223.
207. Vidal J, Giles J, Simón C, Remohí J, Pellicer A. «The use of antagonist GnRH in endometrial priming improves oocyte donation outcome.» *Fertil Steril* 92 (2009): Issue 3, S25.
208. Vidal C, Giles J. «Preparación endometrial para transferencia de embriones congelados.» Capítulo 54 de Manual práctico de Esterilidad y Reproducción Humana, de Bellver, Matorras, Ballesteros, Pellicer, 607-13. Editorial Médica Panamericana.
209. Vidal C, Martínez-Conejero JA, Giles J, Alama P, Pellicer A, Simón C. «Endometrial gene signature in the window of implantation of frozen replacement and ovum donation cycles using GnRH-agonist or antagonists compared to natural cycles.» *Fertil Steril* 100, nº 3 (2013): Supp S392.

210. Wang L, Bogerd J, Choi HS, Seong JY, Soh JM, Chun SY, Blumenröhr M, Troskie BE, Millar RP, Yu WH, McCann SM, Kwon HB. «Three distinct types of GnRH receptor characterized in the bullfrog.» *Proc Natl Acad Sci USA* 98 (2001): 361-66.
211. Wattanakumtornkul S, Damario MA, Stevens Hall SA, Thornhill AR, Tummon IS. «Body mass index and uterine receptivity in the oocyte donation model.» *Fertil Steril* 80 (2003): 336-40.
212. Waylen AL, Metwally M, Jones GL, Wilkinson AJ, Ledger WL. «Effects of cigarette smoking upon clinical outcomes of assisted reproduction: a meta-analysis.» *Hum Reprod Update* 15 (2009): 31-44.
213. White RB, Eisen JA, Kasten TL, Fernald RD. «Second gene for gonadotropin-releasing hormone in humans.» *Proc Natl Acad Sci USA* 95 (1998): 305-9.
214. Wilcox J, Potter D, Moore M, Ferrande L, Kelly E. «Prospective, randomized trial comparing cetrorelix acetate and ganirelix acetate in a programmed, flexible protocol for premature luteinizing hormone surge prevention in assisted reproductive technologies.» *Fertil Steril* 84, n° 1 (2005): 108-17.
215. Wright KP, Guibert J, Weitzen S, Davy C, Fauque P, Olivennes F. «Artificial versus stimulated cycles for endometrial preparation prior to frozen-thawed embryo transfer.» *Reprod Biomed Online* 13, n° 3 (2006): 321-5.
216. Yaron Y, Ochshorn Y, Amit A, Kogosowski A, Yovel I, Lessing JB. «Oocyte donation in Israel: a study of 1001 initiated treatment cycles.» *Hum Reprod* 13 (1998): 1819-24.
217. Yaron Y, Amit A, Mani A, Yovel I, Kogosowski A, Peyser MR, David MP, Lessing JB. «Uterine preparation with estrogen for oocyte donation:

Bibliografia

- assessing the effect of treatment duration on pregnancy rates.» *Fertil Steril* 63 (1995): 1284-86.
218. Younis JS, Mordel N, Lewin A, Simon A, Schenker JG, Laufer N. «Artificial endometrial preparation for oocyte donation: the effect of estrogen stimulation on clinical outcome.» *J Assist Reprod Genet* 9 (1992): 222-7.
219. Younis JS, Simon A, Laufer N. «Endometrial preparation: lessons from oocyte donation.» *Fertil Steril* 66 (1996): 873-84.