

DEPARTAMENT DE PEDIATRIA, OBSTETRICIA I  
GINECOLOGIA

OPTIMIZACIÓN DE LOS PROTOCOLOS DE  
HIPERESTIMULACIÓN OVÁRICA CONTROLADA PARA  
FIV/ICSI EN PACIENTES DIAGNOSTICADAS DE  
SÍNDROME DE OVARIOS POLIQUÍSTICOS.

FERNANDO GIL RAGA

UNIVERSITAT DE VALÈNCIA  
Servei de Publicacions  
2010

Aquesta Tesi Doctoral va ser presentada a València el dia 23  
d'abril de 2010 davant un tribunal format per:

- Dr. Lorenzo Abad Martínez
- Dr. Pere Barri Rague
- Dr. Miguel Dolz Arroyo
- Dr. José Antonio Duque Gallo
- Dr. José Remohí Giménez

Va ser dirigida per:

Dr. Fernando Bonilla Musoles

Dr. Alberto Romeu Sarrió

Dra. Ana María Monzó Miralles

©Copyright: Servei de Publicacions  
Fernando Gil Raga

---

Dipòsit legal: V-2099-2011

I.S.B.N.: 978-84-370-7862-5

Edita: Universitat de València

Servei de Publicacions

C/ Arts Gràfiques, 13 baix

46010 València

Spain

Telèfon:(0034)963864115



VNIVERSITAT DE VALÈNCIA

Optimización de los protocolos de  
hiperestimulación ovárica controlada para  
FIV/ICSI en pacientes diagnosticadas de  
síndrome de ovarios poliquísticos

---

TESIS DOCTORAL

Fernando Gil Raga

Valencia 2009

**SOL·LICITUD DEL DIPÒSIT DE LA TESI DOCTORAL <sup>(1)</sup>**

Cognom i Nom Gil Raga, Fernando      N.I.F. 48380458G

Títol de la tesi Optimización de los protocolos de hiperestimulación ovárica controlada para FIV/ICSI en pacientes diagnosticadas de síndrome de ovarios poliquísticos

Programa de doctorat 290d

Departament Pediatria, Obstetricia i Ginecologia

Facultat del dipòsit Medicina i Odontologia

València, a 24 de Novembre de 2009

Director/a Dr. Alberto Romeu Sarrió <sup>(3)</sup>

---

(signatura)

---

(signatura del Doctorand/a)

---

---



VNIVERSITAT DE VALÈNCIA

DOCTORAT EUROPEU

TESI NÚM

**SOL·LICITUD DEL DIPÒSIT DE LA TESI DOCTORAL <sup>(1)</sup>**

Cognom i Nom Gil Raga, Fernando      N.I.F. 48380458G

Títol de la tesi Optimización de los protocolos de hiperestimulación ovárica controlada para FIV/ICSI en pacientes diagnosticadas de síndrome de ovarios poliquísticos

Programa de doctorat 290d

Departament Pediatria, Obstetricia i Ginecologia

Facultat del dipòsit Medicina i Odontologia

València, a 24 de Novembre de 2009

Director/a Dr. Fernando Bonilla Musoles<sup>(3)</sup>

---

(signatura)

---

(signatura del Doctorand/a)

**SOL·LICITUD DEL DIPÒSIT DE LA TESI DOCTORAL <sup>(1)</sup>**

Cognom i Nom Gil Raga, Fernando

N.I.F. 48380458G

Títol de la tesi Optimización de los protocolos de hiperestimulación ovárica controlada para FIV/ICSI en pacientes diagnosticadas de síndrome de ovarios poliquísticos

Programa de doctorat 290d

Departament Pediatria, Obstetricia i Ginecologia

Facultat del dipòsit Medicina i Odontologia

València, a 24 d'Abril de 2009

Director/a Dra. Ana Monzó Miralles

---

(signatura)

---

(signatura del Doctorand/a)



VNIVERSITAT Đ VALÈNCIA

DOCTORAT EUROPEU

TESI NÚM

El Consell del Departament/Institut de/d' Peditria, Obstetria i Ginecologia en la reunió de \_\_\_\_\_ , una vegada acabat el procés d'avaluació i amb l'informe favorable de la direcció de la tesi, acorda aprovar-ne el dipòsit.

El secretari/a del Departament/Institut

---

(signatura)

Segell del Departament/Institut





Deseo expresar mi agradecimiento a todas aquellas personas que han estado presentes de un modo especial a lo largo de mi formación y que han hecho posible que esta memoria que presento se llevara a cabo. En especial,

Al Profesor Alberto Romeu Sarrió, por despertar en mi la inquietud investigadora, por mostrarme el espíritu del trabajo en equipo y la buena práctica clínica.

A la Dra. Ana Monzó Miralles, por su paciencia y consejos en la realización de este trabajo.

Al Profesor Fernando Bonilla Musoles, por brindarse a codirigir esta tesis.

Agradezco el esfuerzo y dedicación de todos los integrantes del Servicio de Reproducción Humana del Hospital Universitario La Fe, porque sin su trabajo esta tesis no hubiera sido posible.

Y en especial al Dr. Fernando Gil Gracia, mi padre, quien me inculcó el amor a esta profesión, siempre ha sido y será mi ejemplo a seguir.

*A mis padres,*

*A Isabel*

*A Marta y Mabel*

Índice

Tabla de abreviaturas .....	8
Capítulo I INTRODUCCIÓN .....	1
Justificación .....	2
Antecedentes.....	7
Concepto y Epidemiología .....	7
Etiología .....	16
Factores genéticos.....	16
Factores congénitos. Bajo peso al nacimiento .....	16
Resistencia a la insulina .....	20
Aspectos Clínicos .....	34
Relevancia del SOP en la esterilidad humana .....	41
Relevancia del SOP en FIV .....	43
Manejo clínico del SOP en FIV. Estimulación y resultados .....	43
Estudios dedicados a aspectos fisiopatológicos .....	52
Estudios dedicados a la calidad de ovocitos y pre-embryones .....	56
Nuevas tecnologías: maduración in vitro de ovocitos.....	62
Bloqueo hipofisario .....	68
Utilización de los análogos agonistas de GnRH (GnRH <sub>a</sub> ) en FIV.....	70
Utilización de los antagonistas de GnRH (GnRH <sub>ant</sub> ) en FIV .....	74
Fundamentos para el uso de antagonistas desde el inicio del ciclo menstrual	84
Estudio coste efectividad.....	87
Capítulo II HIPÓTESIS DE TRABAJO Y OBJETIVOS.....	89

Hipótesis de trabajo .....	91
Objetivos.....	93
Objetivo principal .....	93
Objetivos secundarios .....	93
Capítulo III MATERIAL Y MÉTODOS .....	95
Diseño .....	97
Ámbito .....	97
Muestra (Pacientes) .....	97
Criterios de inclusión .....	98
Criterios de exclusión .....	99
Definición de las variables de resultados .....	101
Intervenciones .....	105
Hiperestimulación ovárica controlada .....	105
Punción aspiración folicular (recuperación de ovocitos) .....	107
Cultivo y fecundación de los ovocitos .....	107
Transferencia de preembriones .....	109
Fase lútea.....	109
Diagnóstico de gestación.....	110
Resultados perinatales .....	110
Estudio coste-efectividad .....	110
Análisis estadístico.....	113
Capítulo IV RESULTADOS .....	115
Descripción de las características basales de los individuos incluidos en la muestra.....	117
Características seminales .....	119
Resultados de las variables estudiadas de la estimulación ovárica .....	121

Días de estímulo .....	123
Dosis total FSH consumida (UI) .....	125
Estradiol el día -2 .....	127
Estradiol el día 0 .....	129
Estradiol el día +2 .....	131
Progesterona el día 0.....	134
Progesterona el día +2.....	136
Grosor de la línea endometrial el día de hCG.....	139
Cancelación del ciclo.....	141
Folículo preovulatorios el día de hCG.....	143
Diámetro del folículo mayor el día de hCG.....	145
Número de ovocitos obtenidos .....	147
Número de ovocitos metafase II .....	149
Resumen de las variables estudiadas de la Hiperestimulación ovárica .....	150
Resultados de las variables estudiadas de la fecundación y transferencia embrionaria .....	152
Tasa fecundación en FIV .....	152
Tasa fecundación ICSI .....	152
Ciclos no transferidos .....	153
Ciclos transferidos .....	154
Número de preembriones transferidos por paciente .....	155
Número total de preembriones transferidos .....	155
Calidad de los preembriones transferidos .....	156
Embriones transferidos de máxima calidad .....	157

Calidad embrionaria en relación a la gestación.....	158
Calidad embrionaria en relación a la gestación por grupos .....	158
Resumen de las variables estudiadas de punción y transferencia .....	162
Resultados de las variables estudiadas de la gestación .....	164
Tasa de gestación .....	164
Tasa de implantación.....	165
Tasa de aborto.....	167
Gestación múltiple.....	167
Tasa de recién nacido por ciclo .....	168
Tasa de recién nacido sano a término por ciclo .....	169
Tasa de prematuridad por ciclo iniciado .....	170
Días de estancia hospitalaria por hiperestimulación ovárica .....	171
Resumen de las variables estudiadas de la gestación .....	172
Estudio coste efectividad.....	174
Coste del tratamiento supresor de la hipófisis.....	174
Coste global del tratamiento .....	175
Coste total por niño .....	177
Coste por niño sano a término .....	177
Capítulo V DISCUSIÓN .....	178
Limitaciones del estudio y aspectos metodológicos .....	181
Ventajas e inconvenientes para las pacientes.....	184
Valoración en términos de resultados de la estimulación .....	185
Niveles de estradiol los días de hCG, punción ovárica y transferencia (-2, 0 y 2) .....	188
Grosor endometrial el día de hCG (-2) .....	189
Niveles de progesterona los días de punción y transferencia (0 y 2).....	191

Tasa de cancelación del tratamiento.....	192
Número de folículos desarrollados y diámetro folicular .....	195
Número de ovocitos y ovocitos Metafase II obtenidos.....	197
Tasas de Fecundación en FIV y en ICSI .....	200
Calidad de ovocitos y embriones.....	201
Tasa de Gestación.....	203
Tasa de implantación.....	205
Síndrome de hiperestimulación ovárica.....	207
Tasa de aborto .....	209
Tasa de gestación múltiple .....	210
Tasas de recién nacido, de recién nacido sano y de prematuridad .....	212
Análisis de costes.....	218
Capítulo VI CONCLUSIONES .....	222
Conclusiones.....	224
BIBLIOGRAFÍA .....	226

## Tabla de abreviaturas

A	Androstendiona
ACTH	Hormona adrenocorticotropa
AMH	Hormona antimulleriana
ASRM	American Society of Reproductive Medicine
CC	Citrato de Clomifeno
cols	Colaboradores
CRH	Hormona liberadora de corticoides
DHT	Dihidrotestosterona
E1	Estrona
E2	Estradiol
EPO	Enfermedad poliquística del ovario
ESHRE	European Society of Human Reproduction and Embriology
FIV	Fecundación in vitro
FSH	Hormona foliculo estimulante
FSHr	FSH recombinante
GIFT	Gamete intrafallopian Transfer
GnRH	Hormona liberadora de gonadotropinas
GnRHant	Antagonista de la GnRH
GnrRHa	Agonista de la GnRH
hCG	Hormona Gonadotrofina corionica
hMG	Menopausal gonadotropin hormone
HOMA	Indice homeostático
ICSI	Inyección intracitoplasmática
IGF	Factor de crecimiento insulínico
IL-6	Interleukina-6
IMC	Indice de masa corporal
IRS-1	Insulin Receptor Substrate- 1
LH	Hormona Luteinizante
LHRH	Hormona liberadora de gonadotropinas
M-II	Ovocitos metafase II
OMI	Factor inhibidor de la muduración ovocitaria
P <sub>4</sub>	Progesterona
P-I	Ovocito profase
PI	Peso intermedio



PI-3-K	fosfatidil inositol 3 kinasa
PRL	Prolactina
RNA <sub>m</sub>	RNA mensajero
SDHEA	Sulfato de dehidroepiandrosterona
SHBG	Globulina transportadora de hormonas sexuales
SHO	Síndrome de hiperestimulación ovárica
SOP	Síndrome de ovario poliquístico
T	Testosterona total
TL	Testosterona libre
TNF $\alpha$	tumor necrosis factor alfa
TRA	Técnicas de reproducción asistida
UI	Unidades internacionales
VEGF	Vascular Endotelial Growth Factor



## Capítulo I INTRODUCCIÓN

---

## Justificación

El síndrome del ovario poliquístico (SOP) constituye la causa más común de oligomenorrea y amenorrea en nuestra sociedad, siendo el responsable del 26 al 37 por cien de las amenorreas y observándose en el 4 a 7 por cien de las mujeres en edad reproductiva (1-3).

Se ha considerado como un síndrome endocrino-metabólico con implicaciones multisistémicas cuyas manifestaciones clínicas iniciales son peripuberales y traducen una alteración de la función endocrina del ovario (4, 5).

El SOP puede, como se expondrá más tarde, ser la causa de la esterilidad de una pareja, habiéndose estimado que, aproximadamente, el 60% de las mujeres que presentan un SOP padecen esterilidad o ser uno de los factores causales de la misma en parejas en las que concurren otras causas de esterilidad. Así, Kousta y cols observaron que el SOP (ecográfico) está presente en 81 (83%) de 98 pacientes anovuladoras, 40 (53%) de 76 pacientes cuya pareja presentaba una alteración espermática, 26 (50%) de 52 pacientes con patología tubárica y en 28 (44%) de 63 mujeres afectas de esterilidad idiopática (6).

Porque con la anovulación crónica por SOP coexisten otros factores causales de esterilidad que lo hacen necesario o porque otras formas de tratamiento de aquélla (sensibilizadores a la acción de la insulina, inducción de la ovulación para coito o para inseminación artificial, “drilling” ovárico, etc.) han fracasado, con frecuencia se debe recurrir a la FIV para el tratamiento de la esterilidad en las parejas cuya mujer presenta un SOP. De hecho, entre los 21834 ciclos de FIV llevados a cabo en el

Hospital Universitario La Fe, en 3531, es decir en el 16,1% estuvo presente la anovulación crónica hiperandrogénica.

En consecuencia, la estimulación ovárica multifolicular va a ser, con elevada frecuencia, uno de los elementos centrales del manejo clínico de una mujer afecta de SOP que consulta por esterilidad.

La justificación de este trabajo se encuentra en las peculiares dificultades de la estimulación ovárica multifolicular de este tipo de mujeres:

Aumento de la sensibilidad a la FSH, lo que condiciona con facilidad el desarrollo de excesivo número de folículos al inicio de la fase folicular

Ocasionalmente, dificultad en obtener la maduración folicular tratando de evitar el riesgo de que se produzca un síndrome de hiperestimulación ovárica, lo que puede condicionar la obtención de relativamente escasos ovocitos maduros en la punción folicular

Formación de un excesivo número de cuerpos lúteos, lo que conlleva un elevado riesgo de síndrome de hiperestimulación ovárica.

La hiperestimulación ovárica controlada para la práctica de una FIV induce importantes elevaciones del nivel circulante de estradiol y, antaño, por esta razón, se observaba, con frecuencia descargas endógenas de LH y luteinización precoz u ovulaciones espontáneas, que obligaban a cancelar el tratamiento en un porcentaje nada despreciable de casos. Esto llevó a la utilización de análogos agonistas de GnRH, con el fin de suprimir las descargas de LH y ello supuso una importante mejoría de los resultados de la FIV (7, 8).

En años más recientes, con la misma finalidad, se inició la utilización de antagonistas de GnRH, que también suprimen la liberación de LH y que, al menos teóricamente, podrían presentar ciertas ventajas que más tarde serán analizadas (9, 10).

La fisiopatología del SOP es muy compleja y no está totalmente aclarada. En el presente estudio no resulta pertinente analizar en profundidad este aspecto. Sin embargo, es necesario comentar el aspecto de la misma que motivó el estudio.

Uno de los aspectos relevantes en la fisiopatología del SOP es la alteración de la secreción de gonadotropinas, que ha sido uno de los signos característicos del SOP desde que se dispone de la metodología analítica (11); esta alteración se traduce en un aumento de la relación LH/FSH(12). El aumento de la secreción de LH está relacionado con el aumento de la producción de andrógenos en las células tecales, que conduce a la hiperandrogenemia causante del hiperandrogenismo cutáneo que caracteriza a las pacientes con SOP (13).

Desde que se evidenciara la existencia de una correlación entre los niveles circulantes de testosterona y androstendiona y los niveles de insulina (14), numerosos estudios han permitido evidenciar que el SOP se asocia a un aumento de la resistencia a la acción de la insulina y a hiperinsulinemia (3, 15).

El desarrollo folicular de los folículos antrales pequeños, los disponibles en la transición luteo-folicular, es estimulado por FSH y, durante el resto de la fase folicular será dependiente de las gonadotropinas.

Las fases iniciales de la foliculogénesis no son dependientes de FSH, sino de factores locales de crecimiento (16). Ello se debe no sólo a una escasa dotación de receptores para la FSH (17) sino también a la acción de sustancias que inhiben la acción de esta hormona, como la hormona antimulleriana (AMH) (18) y otros factores(19).

La adquisición de receptores para LH por las células de la granulosa tampoco se observa hasta fases avanzadas de la foliculogénesis.(20, 21). La adquisición de receptores de LH es favorecida por la acción de FSH, que potencia la expresión del RNAm que codifica su síntesis (22). De esta forma, las células de la teca de folículos preantrales y antrales pequeños contienen receptores para LH, mientras que las células de la granulosa no los adquieren hasta el estadio de folículos antrales de 9 mm de diámetro o mayores (23). Sin embargo, en mujeres afectas de anovulación crónica por SOP los receptores de LH están ya presentes en las células granulosas de folículos de 4 mm (23). La precoz capacidad de respuesta a LH de las células granulosas de las mujeres afectas de SOP podría ocasionar una luteinización precoz y un efecto deletéreo para los resultados de la FIV en estas pacientes.

Muchas de las mujeres que padecen SOP presentan resistencia a la insulina e hiperinsulinismo (3) y ha sido postulado que la excesiva acción de la insulina es la responsable de la adquisición precoz del fenotipo maduro (capacidad de respuesta a LH) por los folículos de las mujeres afectas de SOP (24).

El manejo clínico de las mujeres afectas de SOP que deben ser tratadas mediante FIV es complejo: debe conseguirse el desarrollo y maduración de un número suficiente de folículos ováricos (con el fin de disponer de un número suficiente de ovocitos fecundables) y debe evitarse tanto que se produzca una

respuesta exagerada (que suponga el riesgo de que se desarrolle un síndrome de hiperestimulación ovárica) como que se produzca una luteinización precoz de los folículos en desarrollo.

Dejando al margen los fármacos sensibilizadores de la acción de la insulina, para ello se dispone en la actualidad de dos tipos de fármacos susceptibles de disminuir la actividad de LH cuando se asocian a la estimulación ovárica: los agonistas de GnRH (GnRH $\alpha$ ) y los antagonistas de esta neurohormona (GnRHant).

Básicamente, la diferencia entre unos y otros es que los antagonistas inducen una supresión inmediata de la secreción de LH mientras que este fenómeno va precedido en los agonistas por una fase de estímulo de la secreción de FSH y LH y que la supresión gonadotropa es más intensa con los antagonistas (25-27).

El presente estudio fue diseñado con el fin de determinar si la supresión hipofisaria mediante la administración de antagonistas de GnRH iniciada simultáneamente a la administración de FSHr en la estimulación multifolicular para FIV puede resultar ventajosa al compararla con el uso de agonistas en protocolo largo en cuanto a porcentaje de embarazo clínico y a porcentaje de cancelación por riesgo de que se produzca un síndrome de hiperestimulación ovárica.



### Antecedentes

#### Concepto y Epidemiología

El síndrome de ovarios poliquísticos (SOP) fue originalmente descrito hace ya algo más de 70 años por Stein y Leventhal (28), autores que atribuyeron la anovulación y la presencia de quistes al engrosamiento de la albugínea del ovario, lo que justificó el tratamiento quirúrgico realizado. Estos autores describieron siete casos que, clínicamente, se caracterizaron por amenorrea, hiperandrogenismo y esterilidad. Obviamente, estos autores no podían aventurar otro tipo de afirmaciones puesto que, en su época, poco se conocía de niveles hormonales circulantes o de determinantes genéticos. La publicación de Stein y Leventhal no sólo es importante por ser la primera descripción del síndrome que nos ocupa sino también, a pesar del corto número de casos recogidos, por aportar el tratamiento quirúrgico que, en cierto modo, sigue vigente en la actualidad, aunque aplicando otras tecnologías.

Pocas endocrinopatías de la mujer han merecido tantas publicaciones, a lo largo de tantos años, como el SOP, quizás por la heterogeneidad que caracteriza a este síndrome en todos sus aspectos y también porque, desde su descripción, los criterios diagnósticos y las metodologías de estudio han ido cambiando al ritmo que cambiaban las posibilidades metodológicas, los métodos diagnósticos y, en definitiva, los conocimientos. Un claro ejemplo de esta afirmación es la generalización de la ecografía vaginal en el diagnóstico ginecológico.

No se pretende, en el marco de este estudio, hacer una exposición completa de los distintos aspectos del SOP; tan sólo, en este apartado, se hará mención a determinados hitos de especial interés.

No ha podido llegarse a una definición etiológica o fisiopatológica clara del SOP y no es fácil llegar a delimitar el concepto de SOP. Quizás por ello resulta conveniente no perder de vista el hilo conductor que representa la clínica y entender que se trata de un diagnóstico que, en parte, debe hacerse por exclusión.

Básicamente, se trata de una situación clínica en la que se observa oligo-amenorrea por anovulación crónica e hiperandrogenismo; es pues una anovulación crónica hiperandrogénica pero este concepto es mucho más amplio que el de SOP porque también abarca situaciones como el Síndrome de Cushing o los tumores virilizantes del ovario.

En consecuencia, el concepto de SOP se restringe: anovulación crónica hiperandrogénica no tumoral de origen ovárico.

Sin embargo, en la práctica clínica, pueden observarse situaciones como la de mujeres que presentan anovulación crónica, hiperandrogenismo cutáneo más o menos leve y aspecto poliquístico de los ovarios en la ecografía y, simultáneamente trastornos como hiperprolactinemia o disfunción tiroidea.

Se llega así a afirmar que el SOP es una anovulación crónica hiperandrogénica no tumoral de origen ovárico, con exclusión de otras patologías como hiperprolactinemia y disfunción tiroidea o suprarrenal.

En este contexto, para unificar los criterios diagnósticos y aportar uniformidad a los estudios, en 1990, el National Institute of Child Health and Human Development, definió, como criterios diagnósticos de SOP “oligo-ovulación, hiperandrogenismo o hiperandrogenemia y exclusión de otras patologías” (suprarrenal, tiroidea, tumoral, hiperprolactinemia, ...) (29).

Conviene señalar que hiperandrogenismo alude a un exceso de actividad de los esteroides androgénicos sobre sus efectores (folículo pilo-sebáceo fundamentalmente) y que hiperandrogenemia alude a niveles circulantes elevados de estos mismos esteroides. Claro está, en función de la expresión celular de los receptores androgénicos, codificados por un gen localizado en el cromosoma X (30) y del metabolismo periférico de los andrógenos, se producirán o no los acontecimientos periféricos que ocasionan el hiperandrogenismo (31).

También es posible observar mujeres, sobre todo adolescentes, de ciclo estrictamente normal y no hiperandrogénicas en las que la apariencia ecográfica de los ovarios es de tipo poliquístico(32).

Todos estos problemas diagnósticos fueron recogidos en el consenso alcanzado por la American Society of Reproductive Medicine (ASRM) y la European Society of Human Reproduction and Embriology (ESHRE) en Rotterdam en el año 2004 (33), que ya han recogido alguna crítica (34).

Recientemente el grupo de trabajo de la Sociedad de Ovario poliquístico e Hiperandrogenismos (34, 35) realizó un estudio cuyo objetivo fue revisar la definición de ovario poliquístico, basado en los datos de las publicaciones con el fin de establecer una adecuada guía clínica y la base para futuras investigaciones. Sus

conclusiones fueron que el síndrome de ovario poliquístico, debe ser definido por la presencia de hiperandrogenismo (clínico o bioquímico), disfunción ovárica (oligo/anovulación y/o ovarios poliquísticos) y la exclusión de desordenes relacionados.

A lo largo de los años, algunos síntomas o signos han sido discutidos y, desde el punto de vista epidemiológico, conviene señalar algunos aspectos:

#### La prevalencia del trastorno

No resulta fácil obtener una idea clara acerca de la prevalencia de este trastorno porque la ausencia de criterios unánimes de diagnóstico tiene como consecuencia que los resultados obtenidos por distintos autores sea dispar.

Estudios llevados a cabo utilizando la ecografía vaginal como criterio diagnóstico han informado prevalencias superiores al 20%; ante estos resultados, algunos autores han afirmado que se sobreestima la prevalencia (32, 36), mientras que otros han considerado que la frecuencia del diagnóstico ha aumentado porque lo ha hecho la sensibilidad del método (37). Así, Michelmore y cols, diagnosticaron la presencia de ovarios poliquísticos en la ecografía en el 33 % de 224 mujeres normales voluntarias (38).

De particular interés fue el estudio realizado por Adams y Franks en 1986. Estos autores valoraron por ultrasonidos los ovarios de una amplia serie de mujeres que consultaron por oligomenorrea, amenorrea o hirsutismo idiopático: 73 pacientes

---

con amenorrea, 75 con oligomenorrea y anovulación y 25 hirsutas con ciclo normal. Como control incluyeron 21 mujeres con ciclo normal y ovarios normales en US.

Diagnosticaron ovarios poliquísticos en el 26% de las amenorreas, en el 87% de las oligomenorreas y en el 92% de los casos de hirsutismo idiopático.

En el 93% de los casos de ovario poliquístico hubo al menos una anomalía endocrina apoyando el diagnóstico (aumento de LH, de la relación LH/FSH, de la T o de la A).

Este estudio muestra que el diagnóstico de ovario poliquístico por ultrasonidos es muy común en anovulación (57% de los casos) y no está necesariamente asociado con hirsutismo o aumento de LH. La mayor parte de mujeres con hirsutismo idiopático presentan ovarios poliquísticos en la ecografía, por lo que estos autores consideraron que este término ya no es adecuado (2).

Un estudio prospectivo llevado a cabo en nuestro país estimó la prevalencia del SOP en el 6,5% de las mujeres españolas (39). En este estudio fueron incluidas 154 mujeres donantes de sangre. Entre ellas, el SOP fue definido como: a) la presencia de alteraciones menstruales (ciclos de más de 35 días), b) hiperandrogenismo (puntuación superior a 8 en la escala de Ferriman o alopecia androide) o hiperandrogenemia, nivel de testosterona total (T) o SDHEA o Índice de Andrógenos Libres mayor del percentil 95. y c) ausencia de otros trastornos endocrinos.

Un estudio similar, apoyado en la presencia de oligomenorrea e hirsutismo, realizado en Grecia por Diamante-Kandarakis estimó la prevalencia del SOP en

9%(40). En cambio, Knochenhauer y cols, en U.S.A., considerando oligomenorrea e hirsutismo como criterios, estimaron la presencia de SOP en 4,6% de una serie de 277 mujeres de raza negra y caucásica (41).

Dada su importancia para la valoración de la salud cardiovascular de las mujeres afectas de SOP, el estudio realizado por Marcondes y cols (42) merece ser recordado. Estos autores estudiaron la prevalencia de síndrome metabólico entre mujeres con SOP, estimándola en 38,4%:

- nula para mujeres de peso normal
- 23,8% para mujeres con sobrepeso
- 62,9% para mujeres obesas
- 85,5% para mujeres con obesidad mórbida

Conviene señalar que no hubo diferencias en el grado de hirsutismo ni en el patrón menstrual entre las mujeres con y sin síndrome metabólico y que los mejores indicadores de síndrome metabólico fueron la circunferencia abdominal (>88 cm), el nivel de HDL-Colesterol (<50 mg/dL) y el nivel de triglicéridos (>150 mg/dL)

Su frecuente presentación familiar

Es clásica la idea de que las mujeres afectas de SOP presentan cierta agrupación familiar, aunque no se ha podido evidenciar un patrón genético definido.

Cooper y cols (43) llevaron a cabo el primer estudio familiar amplio relativo al SOP en mujeres de raza blanca: fueron valoradas las parientes en primer grado de mujeres diagnosticadas de SOP a juzgar por los hallazgos culdoscópicos o histopatológicos y se comparó con los hallazgos en un grupo de control. La frecuencia de oligomenorrea fue mayor en el grupo de parientes que en el grupo de control; los parientes masculinos no fueron específicamente estudiados pero se señaló que la pilosidad de éstos era mayor de lo normal. Estos autores propusieron un modelo de herencia autosómica dominante de escasa penetrancia.

Los hallazgos de Cooper fueron corroborados por Ferriman y cols (44), que estudiaron 700 mujeres hirsutas y por Lunde y cols, que incluyeron en su estudio 132 mujeres noruegas diagnosticadas a partir del estudio histológico de piezas de resección cuneiforme (45). Tanto Ferriman y cols como Lunde y cols sugirieron una forma de herencia autosómica dominante.

En este contexto merece ser citado un estudio presentado por Givens, que recoge, entre otras, las observaciones de 5 estudios previos del mismo autor y colaboradores (46).

Este estudio resume las observaciones derivadas de un meticuloso estudio de unas 20 familias a lo largo de varias generaciones. En resumen, de los conceptos expuestos por el autor, cabe destacar algunas observaciones:

*“Una característica importante de la fisiopatología del SOP es su agregación familiar.*

*La investigación se ve limitada por la falta de un marcador genético.*

*Existen distintos patrones, pero se agrupan pubertad precoz, oligomenorrea, hirsutismo, obesidad y enfermedad cardiovascular; entre los varones se observa oligozoospermia, elevación de LH y androstendiona, hipertensión, acantosis, hiperinsulinismo, hipercolesterolemia,...*

*La base genética puede ser poligénica.*

*Se pensó en un déficit de aromataasa, lo que la haría similar a la hiperplasia suprarrenal pero el trastorno hormonal es semejante a un reflejo de las capacidades y limitaciones esteroideogénicas de las células productoras de esteroides.*

*No es posible a partir de nuestros datos determinar si estas variadas situaciones anormales tienen una etiología común o se asocian por azar.*

*En algunas familias está implicada una adrenaquia precoz y esto puede inducir trastornos de la secreción de LH y FSH a través de una influencia aumentada de los estrógenos de conversión periférica sobre las células gonadotropas.*

*Dos hechos esenciales: detención de la maduración folicular y atresia de los folículos.*

*Trastornos asociados: diabetes, hiperinsulinemia, obesidad e hipertensión.”*

Otros autores de reconocida solvencia han apoyado esta idea (3, 35, 45, 47).



Otro interesante estudio fue publicado por Legro (34). Este autor estudió 115 hermanas de 80 mujeres diagnosticadas de SOP (menos de 6 reglas/año y andrógenos elevados) y 70 mujeres normales como grupo de referencia. Observó:

22% de las hermanas presentaron criterios para ser diagnosticadas de SOP; además, 24% presentaron hiperandrogenemia y ciclos normales. Sólo 44% fueron estrictamente normales. El riesgo relativo de SOP entre las hermanas fue de 3,3. Los niveles de Testosterona (T) y Testosterona Libre (TL) fueron significativamente mayores en las hermanas afectadas que en las no afectadas y el control.

Para este autor, los hallazgos sugieren que los niveles de testosterona pueden ser un carácter monogénico controlado por dos alelos autosómicos.

Sin embargo, a partir del estudio de 34 pares de gemelas estudiadas en Australia, se concluyó que la herencia podría ser ligada al cromosoma X o poligénica y que los factores ambientales pueden jugar un papel determinante (48).

Dunaif y cols desarrollaron un proyecto de investigación con el fin de determinar la existencia o no de diferencias étnicas en cuanto a la producción de hormonas sexuales y de resistencia a la insulina. Para ello, a 42 mujeres les fue determinada la composición corporal mediante pesada hidrostática y se les practicó un clamp euglucémico hiperinsulinémico. Esta autora evidenció la ausencia de diferencias étnicas en la producción de esteroides sexuales y un aumento de la prevalencia de resistencia insulínica en la mujeres hispano-caribeñas(20).

## Etiología

La etiología del SOP es desconocida y, posiblemente, no es única pudiendo distintas situaciones causar el desarrollo de un SOP.

Como señala Jacobs (37), algunos autores afirman que una alteración de la esteroidogénesis suprarrenal es de importancia primaria, mientras que para otros autores lo es una disfunción hipotálamo-hipofisaria.

## Factores genéticos

Ha sido tradicionalmente observado un componente familiar en la incidencia del SOP (1), aunque ha sido difícil desarrollar estudios concluyentes debido tanto a la ausencia de criterios diagnósticos uniformes, a la influencia de factores ambientales en la aparición del síndrome, como a la falta de caracterización de un fenotipo masculino claramente definido.

## Factores congénitos. Bajo peso al nacimiento

Algunos autores han llamado la atención sobre una posible asociación entre el bajo peso al nacimiento y el desarrollo de SOP al alcanzar la pubertad (49, 50).

Esta relación parece implicar alteraciones del sistema hipotálamo-hipófiso-suprarrenal, alteración que induciría, en determinadas niñas de bajo peso al nacimiento, una pubarquía precoz y aumento de la sensibilidad a ACTH (51). De hecho, el estudio de 12 adolescentes con antecedentes de bajo peso al nacimiento y

pubarquia precoz, que presentaban irregularidades menstruales e hirsutismo mostró que CRH es un potente secretagogo para los andrógenos adrenales (52).

El estudio de 35 niñas prepúberes mediante estímulos con ACTH, GnRH y tolbutamida llevó a Vuguin y cols (53) a la conclusión de que insulina e IGFs pueden jugar un papel en el hiperandrogenismo de la pubarquia prematura que podría ser la primera manifestación del SOP.

Una serie de estudios han conducido a Ibáñez y cols (54-56) a relacionar el bajo peso al nacimiento con la pubarquia precoz y el SOP y a señalar que bajo peso al nacimiento y elevación del nivel plasmático del inhibidor del activador del plasminógeno tipo 1 puede ser un indicador del riesgo de desarrollar un SOP hiperinsulinémico en niñas con pubarquia precoz (<8 años).

Otras investigaciones han relacionado el bajo peso al nacimiento y la disfunción adrenal con la pubarquia precoz y el desarrollo puberal de SOP y con el riesgo de padecer enfermedad cardiovasculares a edades más avanzadas (35, 57-62).

### Genes evaluados hasta el momento

<b>Esteroidogénesis, transporte, acción y regulación de andrógenos</b>	Relacionados con la insulina, su regulación y su acción	Inflamación y factores protrombóticos
<b>Gen que codifica para DAX-1</b>	INS	Gen que codifica para el TNF- $\alpha$
<b>Gen que codifica para SF-1</b>	INSR	TNFRS 1B
<b>Gen que codifica para StAR</b>	Gen que codifica para los sustratos del receptor de insulina 1 y 2	Gen que codifica para la IL 6
<b>CYP17</b>	Genes que codifican para el sistema IGF: IGF-1, IGF1R; IGFBP1 y 3, IGF2	Gen que codifica para la subunidad gp 130 del receptor de IL-6
<b>CYP21</b>	Gen que codifica para PPAR-gamma2	Gen que codifica para la subunidad $\alpha$ del receptor de IL-6
<b>Gen que codifica para HSD3B2</b>	Gen que codifica para la paraoxonasa 1	Gen que codifica para el PAI 1
<b>Gen que codifica para HSD17B</b>	Gen que codifica para el receptor $\beta$ -adrenérgico	Gen que codifica para la metilen-tetrahidrofolato-reductasa
<b>CYP19</b>	Gen que codifica para la calpaína 10	
<b>CYP11A</b>	Gen que codifica para la glucógeno-sintetasa	Otros genes estudiados:
<b>Gen que codifica para SHBG</b>	Gen que codifica para la resistina	Gen que codifica para la microsomal - etopóxido-hidrolasa
<b>SRD5A</b>	Gen que codifica para la	Gen que codifica para el factor de diferenciación

	leptina y su receptor	del crecimiento 9
<b>Gen que codifica para el receptor de andrógenos</b>	Gen que codifica para la apolipoproteína E	Gen que codifica para la proteína morfogénica del hueso 15
<b>Gen que codifica para el receptor de estrógenos a</b>	Gen que codifica para la adiponectina	CYP1A1, GSTM1 y GSTT1
<b>CYP11B2</b>	Gen que codifica para el antígeno glicoproteico de diferenciación plasmática 1	Gen que codifica para el receptor de la melanocortina
<b>Gen que codifica para FSH B</b>	Gen que codifica para la tirosín-fosfatasa-1B SORBS1	
<b>Gen que codifica para el receptor de FSH</b>	Gen que codifica para la subunidad de unión al glucógeno específica del músculo de la fosfatasa proteica 1	
<b>Gen que codifica para el receptor de DNR</b>	Gen que codifica para el antígeno proteico de diferenciación plasmática 1	
<b>Gen que codifica para el receptor de Dopamina</b>	Gen que codifica para la tirosin fosfatasa 1B SORBS	
<b>Gen que codifica para el receptor de corticoides</b>	Gen que codifica para la subunidad de unión al glucógeno específica del músculo de la fosfatasa proteica 1	
<b>Gen que codifica para UDP-glucorinil-transferas 2B15</b>		
<b>Gen que codifica para</b>		

### la folistatina

Tabla 1 Genes evaluados en diferentes estudios de genética molecular publicados (63).

Refiriéndose al problema del bajo peso al nacimiento y la obesidad hiperinsulinémica, se ha dicho, a propósito de U.S.A. “La nación se enfrenta a la primera generación de niños que será menos sana y que morirá más joven que la generación precedente” (64). Se hace para algunos autores imperativo identificar niños con riesgo de desarrollar el fenotipo SOP, sea éste femenino o masculino (65). La resistencia a la insulina y un perfil lipídico desfavorable ha sido detectado tan precozmente como a las 72 horas de vida (66) y también se ha evidenciado que las mujeres SOP que gestan presentan mayor prevalencia de diabetes gestacional y de recién nacidos de bajo peso para la edad gestacional (67).

### Resistencia a la insulina

El conocimiento de las relaciones entre el SOP y la resistencia a la acción periférica de la insulina ha supuesto la realización de numerosos protocolos de investigación, tanto clínica como básica.

Entre los primeros autores que evidenciaron una relación entre la insulina y el ovario se encuentran Channing y cols; esta autora evidenció in vitro por primera vez el efecto estimulador de la insulina sobre las células granulosas del ovario (68).

Algunas publicaciones sugerían la existencia de trastornos del metabolismo hidrocarbonado en hombres tratados con andrógenos y ello llevó a Burghen y cols

(14) a desarrollar un estudio para determinar la relación entre niveles de insulina plasmática y testosterona y androstenediona en un grupo de 8 mujeres diagnosticadas de SOP (oligomenorrea o amenorrea, obesidad, hirsutismo, hiperandrogenismo, LH/FSH elevada) y 6 mujeres obesas de función ovárica normal. La edad fue similar en ambos grupos y la obesidad más pronunciada en el grupo de función ovárica normal.

Se evidenció correlación significativa entre insulinemia basal, androstenediona y testosterona. En los dos grupos se evidenció correlación significativa entre el área bajo curva de insulina y la testosterona plasmática. Durante la sobrecarga de glucosa, los niveles de insulina fueron mayores en el grupo SOP a las 0, 2 y 3 horas.

La demostración de niveles circulantes de insulina elevados en mujeres obesas hiperandrogénicas no pasaba de ser una constatación clínica; se hacía necesario constatar el papel fisiopatológico de la insulina, lo que fue realizado por Barbieri y cols (69). Con el fin de valorar los posibles efectos hiperandrogenizantes de la insulina, estos investigadores cultivaron células tecales y aditivaron al medio de cultivo LH o LH e insulina. En todos los grupos se incrementó el número de células. A los 2, 4 y 6 días de cultivo se produjo un incremento significativo de P y A; T, DHT, E1 y E2 no detectables. Insulina sola estimuló la producción de P pero no la de A. Insulina aditivada junto con LH estimuló significativamente más la producción de P y A que LH sola.

Los resultados sugieren que insulina puede ser un regulador del crecimiento de la teca y de su capacidad esteroideogénica.

Estos autores consideraron confirmada la hipótesis de la insulina e hicieron algunas consideraciones:

Sugieren que hay receptores a insulina en las células tecaes aunque pueden no ser los específicos sino alguno de la familia de factores de crecimiento similares a la insulina.

Señalan que el receptor ovárico debe ser funcional, aunque los receptores vinculados al metabolismo de carbohidratos y lípidos no lo sea.

Comentan que el efecto de la insulina puede incrementar la síntesis de andrógenos y, además, aumentar la masa de tejido techal a la larga.

Comentan que también la hipótesis de insulina puede explicar la relación del SOP con la obesidad perimenárgica señalada por Yen, puesto que la obesidad favorece la resistencia insulínica.

Desde que se tuvo conocimiento de la relación entre el SOP y el hiperinsulinismo derivado de un aumento de la resistencia a la insulina, se vinculó éste a la obesidad, sobre todo central; no obstante, Chang y cols demostraron que también mujeres con SOP no obesas presentan hiperinsulinismo(70).

En la misma época, Garzo y cols evidenciaron el papel estimulante de la insulina sobre las células granulosas: actuando la insulina como coadyuvante de la FSH, potencia la actividad aromatásica, aunque a dosis suprafisiológicas (71), Poretski y cols demostraron la existencia de receptores específicos de insulina en el



ovario (72) y Diamnod y cols observaron la existencia de correlación entre los niveles de insulina y P en líquido folicular humano(73).

Existió, en su día, cierta discusión sobre el papel recíproco de aumento de esteroides ováricos y aumento de la insulina en la fisiopatología del SOP. La pregunta era ¿Hasta qué punto la elevación de andrógenos y estrógenos características del SOP condiciona, mantiene o incrementa el hiperinsulinismo? Con el fin de responder a esta pregunta, Geffner y cols analizaron la resistencia a la insulina in vitro, utilizando células hemáticas, de seis mujeres diagnosticadas de SOP antes y después de supresión prolongada de la función ovárica por administración crónica de GnRHα. Concluyeron que la supresión de la producción de esteroides ováricos, en particular de los andrógenos no modifica la resistencia a la insulina (74).

Inversamente, Nestler y cols estudiaron el papel estimulador de la síntesis de andrógenos de la insulina, determinando los niveles circulantes de andrógenos en 5 mujeres obesas con SOP antes y después de 10 días de tratamiento con diazóxido (100 mg/8 h). Insulina basal y estimulada por 100 g de glucosa oral disminuyeron significativamente. Simultáneamente la Testosterona sérica, total y libre, disminuyó significativamente. SHBG aumentó pero no significativamente. FSH, LH y otros esteroides no cambiaron.

Los resultados sugieren que la hiperinsulinemia en mujeres obesas con SOP puede incrementar directamente los niveles de Testosterona(75), efecto que no se observa en mujeres no obesas de función ovárica normal(76).

Otro aspecto importante de la fisiopatología del SOP, la disminución de los niveles circulantes de la SHBG y, en consecuencia, el aumento de los andrógenos libres fue estudiado por Plymate y cols(77), autores que demostraron, mediante experiencias in vitro, que la insulina inhibe la producción hepática de aquella proteína.

En una interesante publicación (3), Andrea Dunaif señaló que numerosos estudios sobre el SOP, tanto clínicos como básicos, adolecen de algunos defectos porque el diagnóstico de SOP ha sido poco preciso y porque las células utilizadas para valorar la resistencia a la insulina in vitro (en general hemáticas) no han sido células diana específicas de la insulina (adipocitos y músculo estriado). Afirmó que, estudiando la acción de la insulina sobre adipocitos se evidenció una disminución de la utilización de la glucosa por déficit de GLUT-4 y que ello puede estar relacionado con excesiva fosforilación de los residuos serina del receptor, por anomalías de la fosforilación del Insulin Receptor Substrate- 1 (IRS-1) o por anomalías de la actividad del fosfatidil inositol 3 kinasa (PI-3-K) (3).

Desde el punto de vista clínico, Meior y cols hicieron interesantes aportaciones, como consecuencia de estudiar una serie de mujeres diagnosticadas de SOP, entre las que un 50 % mostraron hiperinsulinemia (78): las mujeres con resistencia insulínica mostraron mayores IMC, porcentaje de grasa corporal, relación cintura/cadera y mayor grado de hirsutismo; su nivel circulante de T fue mayor y el de SHBG fue menor. Por el contrario, las mujeres sin resistencia insulínica mostraron mayor relación LH/FSH

Concluyeron que el SOP comprende dos poblaciones, una con resistencia insulínica de distinta etiología y otra no insulín-resistente y que estos dos grupos difieren en sus características antropométricas y endocrinas. Similares hallazgos fueron corroborados por Presencia, en nuestro grupo de trabajo (79).

En resumen, parece evidente que se puede afirmar:

Un porcentaje no despreciable de las mujeres que padecen un SOP presentan resistencia a la insulina e hiperinsulinismo no vinculado a mutaciones del receptor

La resistencia a la insulina en estas mujeres conlleva una mala utilización de la glucosa por déficit de GLUT-4 y predispone a la aparición de diabetes mellitus no insulina-dependiente y a otras alteraciones metabólicas y vasculares que serán comentadas más tarde.

La resistencia a la insulina condiciona una situación de hiperinsulinismo y los niveles aumentados de insulina actúan sobre el ovario a través de receptores específicos potenciando tanto la acción de FSH como la de LH, alterando la dinámica de la foliculogénesis y la esteroidogénesis

En este último sentido, el grupo de trabajo liderado por Stephen Franks evidenció que en las mujeres SOP anovuladoras, las células granulosas adquieren prematuramente su fenotipo maduro y, respondiendo precozmente a la LH, incrementan la producción de P pero no la de estradiol, evolucionando hacia la atresia (23).

Han sido postulados numerosos mecanismos condicionantes de la resistencia a la insulina.

### *Estado inflamatorio crónico de baja intensidad*

Los seres humanos, como el resto de metazoos, que conviven con multitud de microorganismos patógenos, han desarrollado complejos sistemas de defensa inmune, de los que la inmunidad innata es la más general y la de actuación más rápida.

Después de cualquier trauma o infección, los organismos desarrollan una respuesta homeostática, la fase aguda de respuesta, una protección que contrarresta los efectos de la agresión que, si se prolonga, puede generar una enfermedad, en lugar de una reparación (80).

Existen dos posibles vías para la iniciación de una respuesta exagerada de la fase aguda de respuesta:

La fase aguda de la respuesta es activada por inflamación intraarterial, en la que macrófagos localizados en la pared de la arteria liberan citocinas proinflamatorias en respuesta a diversos estímulos.

Estímulos extravasculares inducen una activación crónica de bajo nivel de la fase de respuesta aguda; los activadores de bajo nivel incluyen tabaquismo, infecciones mucosas, consumo exagerado de grasas y obesidad.

---

El resultado final de ambas vías puede ser el inicio de la cascada inflamatoria, que conduce a la resistencia insulínica y a la aterosclerosis (81).

El nivel circulante de insulina guarda correlación con el nivel de proteína C reactiva (82) y se ha afirmado que la inflamación crónica subclínica forma parte del síndrome de resistencia insulínica (83).

La respuesta humoral del sistema de inmunidad innata supone la liberación de distintas citocinas, entre ellas tumor necrosis factor alfa ( $\text{TNF}\alpha$ ) e interleukina-6 (IL-6). Esta respuesta está implicada en la fisiopatología de hipertensión, obesidad abdominal y trastornos del metabolismo hidrocarbonado (84).

La implicación de los mecanismos inmunopatogénicos en el desarrollo de la hipertensión han sido relacionadas con la liberación de  $\text{TNF}\alpha$ , que estimula la producción de endotelina 1 (85) y angiotensinógeno (86).

Ha sido descrita una correlación positiva entre el nivel sérico de  $\text{TNF}\alpha$  y ambas, la presión sistólica y la resistencia insulínica (87).

Interleukina-6 (IL-6) es una citokina producida por distintos tipos celulares, como células inmunitarias, endoteliales, fibroblastos, miocitos y adipocitos, que participa en los fenómenos inflamatorios. La tensión arterial es un factor independiente de los niveles circulantes de IL-6 (88).

Se ha afirmado que IL-6 juega un papel en las alteraciones lipídicas observables en los individuos que padecen resistencia insulínica (89), lo que se justifica porque ha sido observado que los individuos que padecen este síndrome

presentan niveles elevados de IL-6, proteína C reactiva junto con dislipidemia (disminución de HDL-colesterol e hipertrigliceridemia) y elevación del cortisol.

IL-6 inhibe la actividad lipoprotein lipasa en los adipocitos e induce un aumento de la secreción hepática de triglicéridos, induciendo una elevación de las concentraciones de ácidos grasos libres, triglicéridos y VLDL-triglicéridos (90).

### *Obesidad*

Tanto desde el punto de vista clínico como fisiopatológico, la asociación de obesidad y anovulación hiperandrogénica ha sido frecuentemente motivo de investigación y discusión y, en los últimos años, ha cobrado interés desde el punto de vista de la biología molecular.

Con el fin de determinar la influencia de la obesidad sobre la ovulación, fueron estudiadas 55 mujeres anovuladoras que presentaban esterilidad con ausencia de factores masculino, cervical y tubárico y PRL normal. Las mujeres obesas (peso > 145% del PI) presentaron niveles de SHBG significativamente menores. Los investigadores concluyeron que niveles aumentados de T libre pueden inhibir la maduración folicular (75)

Bates y cols se plantearon una pregunta: ¿son los signos de hiperandrogenismo en este trastorno la consecuencia de la obesidad exógena o es el exceso de andrógenos independiente de la obesidad?

Para dilucidarlo incluyeron 18 mujeres obesas y estériles por anovulación crónica, siendo la obesidad definida como un sobrepeso  $>20\%$  del PI, en un plan de adelgazamiento de 1 libra/semana. Practicaron determinaciones hormonales antes y después de que el ciclo se restableciera (cada 45 días o menos).

Concluyeron que la obesidad juega un papel en la génesis del SOP al observar una reducción de andrógenos y que 77% de las mujeres gestaron. Afirmaron que el primer paso para mejorar la ovulación es la pérdida de peso (91)

En un estudio similar, se puntualizó que la pérdida de un 8% de peso en mujeres obesas con anovulación hiperandrogénica induce aumento de SHBG y disminución de LH con aumento de la frecuencia y disminución de la amplitud de sus pulsos; también disminución de T y de T libre (92).

Con el fin de precisar el papel de obesidad, Dunaif y cols estudiaron el perfil endocrino de 10 mujeres obesas con inicio perimenárquico de la obesidad y 5 mujeres nunca obesas, en ambos casos diagnosticadas de SOP y 7 mujeres obesas y 6 mujeres no obesas normales de ciclo ovulador de similar edad y peso como controles. Concluyeron que el impacto de la obesidad no se refleja en cambios en la liberación de gonadotrofinas ni en el ambiente del retrocontrol esteroideo y que la insulina no tiene un papel mayor en la perpetuación del SOP puesto que mujeres SOP, obesas y no, tienen similar nivel de hormonas reproductivas(93).

Desde el punto de vista de la fisiopatología, es importante distinguir entre obesidad superior o central y obesidad inferior o periférica, como quedó evidenciado por Kirschner y cols, quienes comprobaron que las mujeres con obesidad superior tienen mayor producción de andrógenos y mayores niveles de T y E<sub>2</sub> libres mientras

que las mujeres con obesidad inferior producen mayores cantidades de  $E_1$  por aromatización periférica de A (94).

Kissebah y cols llevaron a cabo un estudio para determinar la relación de la distribución del peso corporal con las complicaciones de la obesidad. Incluyeron en su estudio 25 mujeres moderadamente obesas de 20 a 40 años: 16 de ellas con obesidad superior y 9 con obesidad inferior. Edad y peso fueron similares en ambos grupos. Los niveles de glucosa e insulina fueron mayores durante la sobrecarga oral de glucosa en mujeres con obesidad superior. Diez de 16 fueron diabéticas en este grupo y ninguna en el otro. Los niveles de triglicéridos estuvieron más altos en las mujeres con obesidad superior. Concluyeron que la obesidad superior predispone a intolerancia a la glucosa, hiperinsulinismo e hipertrigliceridemia (95).

Se comprobó que el tejido adiposo expresa  $TNF\alpha$  y ello puede justificar las correlaciones señaladas por distintos autores entre el IMC, sobre todo en la obesidad central(96), puesto que  $TNF\alpha$  induce resistencia insulínica fosforilando residuos serina del IRS-1 y disminuyendo así su actividad tirosin kinasa. (97, 98). La acción de  $TNF\alpha$  se ejerce mediante la activación de JNK-kinasa (99).

Además, el tejido adiposo libera ácidos grasos libres y el aumento de los niveles circulantes de éstos dificultan la utilización de la glucosa (100).

Otras dos hormonas producidas y liberadas por el tejido adiposo juegan un papel en la aparición de la resistencia insulínica: adiponectina y resistina.

Ducluzeau y cols incluyeron 16 mujeres no obesas diagnosticadas de SOP en un proyecto de investigación que incluyó una serie de determinaciones

---



hormonales, una prueba de tolerabilidad a la glucosa oral y la realización de un clamp euglucémico hiperinsulinémico. Observaron la existencia de correlaciones significativas entre el nivel de adiponectina y el consumo de glucosa (positiva) y el mismo con la relación cintura/cadera (negativa), siendo la circunferencia de cadera el mejor predictor del nivel circulante de adiponectina. Este estudio confirmó que la resistencia insulínica está presente en numerosas mujeres con SOP, aunque no se trate de mujeres obesas y los autores afirmaron que la relación glucosa/insulina es el mejor predictor para la resistencia insulínica y que el nivel circulante de adiponectina es un buen indicador de la masa adiposa abdominal y se asocia a la resistencia insulínica (101).

Un estudio de Orio y cols en el que fueron incluidas 60 mujeres con SOP (30 de peso normal y 30 obesas) y 60 mujeres de función ovárica normal de edad e IMC similares mostró que los niveles de adiponectina son significativamente más bajos en mujeres obesas, sin mostrar diferencias entre mujeres SOP y normales y correlacionan significativamente con el IMC y con el HOMA(102). Hallazgos similares fueron comunicados por Panidis y cols (103).

Un estudio de Spranger y cols que incluyó 62 mujeres con SOP y 35 mujeres sanas les llevó a concluir que el SOP per se no se asocia a niveles circulantes disminuidos de adiponectina pero la adiponectina circulante se asocia de forma independiente con el grado de resistencia insulínica en las mujeres SOP y puede contribuir al desarrollo o al mantenimiento de la resistencia a la insulina (104).

Tan y cols demostraron que la expresión de los receptores de Adiponectina, (ADIPOR 1 y 2) está aumentada en las mujeres SOP, lo que constituye un estado

pro-diabético y sugirieron que, aunque la razón de esta expresión aumentada no se conoce, los esteroides sexuales podrían jugar un papel en la regulación del tejido adiposo(105).

En resumen, numerosos autores han observado una disminución de los niveles circulantes de adiponectina en las mujeres afectas de SOP obesas y la han relacionado con el aumento de la resistencia a la insulina, aunque éste existe también en las mujeres SOP no obesas.

La resistina es una hormona producida y liberada por los adipocitos, a propósito de la cual ha sido evidenciado que incrementa la producción de glucosa en el hígado (106), habiéndose afirmado que juega un papel determinante en la aparición de resistencia insulínica (107).

Investigaciones de Carmina y cols, que incluyeron 52 mujeres diagnosticadas de SOP y 45 mujeres de ciclo ovulatorio normal de peso y edad ajustadas permitieron comprobar que las mujeres SOP presentan niveles significativamente más bajos de adiponectina y niveles significativamente más altos de resistina que las mujeres normales, no observándose diferencias en los niveles de leptina. Esto llevó a estos autores a suponer la existencia de una disfunción del tejido adiposo en el SOP(108).

Los resultados obtenidos por Carmina y cols en el estudio de 50 mujeres diagnosticadas de SOP ( $25,1\pm 0,7$  años de edad y  $28,7\pm 0,8$  de IMC) les llevaron a sugerir que ya mujeres jóvenes con SOP padecen una disfunción endotelial y que el

tipo de distribución de la grasa puede influenciar esta disfunción modificando la resistencia a la insulina y la producción y liberación de adipocinas(109).

Niveles circulantes elevados de resistina se asocian a un aumento de la proteína C reactiva altamente sensible, que es un marcador independiente de riesgo cardiovascular (110).

Lo que parece evidente es la participación del tejido adiposo en la fisiopatología del SOP y en las complicaciones a largo plazo del mismo, sobre todo cuando este trastorno se asocia a obesidad central. Minar y cols lo han resumido como sigue: la resistencia a la insulina es un estado en que son necesarios niveles de insulina más elevados de lo normal para mantener un normal aprovechamiento de la glucosa. La causa subyacente más común es la obesidad central, aunque también se observa en individuos de peso normal. Se ha demostrado que el exceso de tejido adiposo abdominal libera cantidades elevadas de ácidos grasos libres, que afectan directamente al efecto de la insulina, disminuyen el almacenamiento de glucosa en el músculo, causan excesiva síntesis de triglicéridos e inducen gluconeogénesis hepática. Otros factores que pueden jugar un papel en la resistencia a la insulina son TNF $\alpha$ , adiponectina, leptina, IL-6 y otras adipocinas. Cuando las células  $\beta$  pancreáticas dejan de producir la insulina necesaria, aparece la diabetes tipo 2 que, junto a la enfermedad coronaria, es la principal complicación de la resistencia a la insulina (111).

## Aspectos Clínicos

En el año 1935, Irving F. Stein y Michael L. Leventhal describieron por primera vez un conjunto de síntomas relacionados con la anovulación: se trataba de siete pacientes, 4 de ellas obesas, que presentaban amenorrea, hirsutismo y ovarios aumentados de tamaño y poliquísticos. Además, comunicaron los resultados de su tratamiento quirúrgico mediante una amplia resección en cuña de ambos ovarios: las siete pacientes recuperaron la menstruación regular y dos de ellas gestaron. Estos autores propusieron que la cubierta engrosada del ovario impedía que los folículos alcanzaran la superficie del ovario y se produjera la ovulación (28).

Aunque, como referenció Goldzieher (13), la existencia de la enfermedad poliquística bilateral de los ovarios se conocía antes de iniciarse el siglo XX, el interés por este trastorno no se desarrolló hasta 1935, cuando, como ha sido señalado, se describió un síndrome caracterizado por “irregularidad menstrual incluyendo amenorrea, historia de esterilidad, hirsutismo androide y, menos consistentemente, retardo del desarrollo mamario y obesidad” y por responder adecuadamente al tratamiento quirúrgico mediante resección cuneiforme de los ovarios.

Como era de esperar en un trastorno de etiología y fisiopatología confusas, la clínica presentada por las mujeres afectas también ha mostrado variabilidad en las descripciones de distintos autores.

Tanto es así que Goldzieher, uno de los autores clásicos que mejor sistematizó la clínica del SOP (4, 13), lo comparó al Sacro Imperio Romano,

aludiendo a que éste ni era sacro, ni romano, ni siquiera un imperio (4). En la otra de estas publicaciones, citó a Netter, quien afirmó “el síndrome de Stein es un síndrome fugitivo, con los límites peor definidos que los del Sahara o el Sudán” (112).

El mismo Netter, en 1954, comentó así la sintomatología de lo que denominó “distrofia poliquística de los ovarios” (113):

- *El síntoma más importante es el dolor, que se encuentra en más de 9 casos de cada 10: dismenorrea o dolor intermenstrual en el momento de la ovulación.*
- *Los trastornos de las reglas son de gran frecuencia (80,6 %); entre ellos el alargamiento del ciclo es el más importante, presente en más de la mitad de los casos.*
- *Las metrorragias intermenstruales, precedidas de leucorrea y acompañadas de dolor, son mucho menos frecuentes.*
- *La esterilidad es frecuente pero inconstante*
- *La hipertriosis es un signo frecuente*

Goldzieher y Axelrod llevaron a cabo una revisión de la literatura, en la que seleccionaron 187 publicaciones que calificaron de “pertinentes” y que recogían un total de 1097 casos adecuadamente documentados (13). La tabulación de síntomas y signos recogidos en esta casuística se muestra en la Tabla 2

Estos autores, como resultado del análisis señalaron: “Consideradas en conjunto, estas estadísticas hacen muy difícil aceptar como una entidad diferenciada un grupo de síntomas de los cuales sólo dos no específicos (hirsutismo, esterilidad) están presentes en más de la mitad de los casos, en la que menstruaciones cíclicas y hemorragias uterinas disfuncionales ocurren casi tan a menudo como la supuestamente importante amenorrea y en la que positivas evidencias contradicen la postulada anovulación que se supone la causa de la esterilidad.”

Síntoma/Signo	Nº de casos	Incidencia media	Rango Incidencia
Obesidad	600	41	16-49
Hirsutismo	819	69	17- 83
Virilización	431	21	0-28
Menstruaciones cíclicas	395	12	7-28
Hemorragia funcional	547	29	6-65
Amenorrea	640	51	15-77
Dismenorrea	75	23	--
Tª Basal bifásica	238	15	12-40
Cuerpo lúteo en cirugía	391	22	0-71
Esterilidad	596	74	35-94

Tabla 2 Resumen de la sintomatología del SOP en una revisión de la literatura realizada por Goldzieher y Axelrod

Otros autores clásicos de prestigio, Zander y Holzmann, desarrollaron el tema de trastornos del ciclo menstrual (entre los que incluyeron el “síndrome de los ovarios poliquísticos” en el tratado de ginecología dirigido por Käser y cols (114).

Estos autores se remitieron a las publicaciones de Goldzieher, haciendo algunas puntualizaciones:

- *La esterilidad, el hirsutismo, la amenorrea y un peso corporal excesivo son los síntomas más frecuentes*
- *Más raras son las hemorragias disfuncionales*
- *Los ovarios poliquísticos coexisten en muchos casos con ciclos ovulatorios normales.*
- *Ningún síntoma indica obligadamente la existencia de ovarios poliquísticos*
- *El hirsutismo se desarrolla sólo después de la menarquia y, generalmente, muy despacio. Son raros los casos de virilización.*
- *A menudo el ciclo menstrual es anormal desde el principio. Se trata, en general de oligomenorreas que, luego, se pueden convertir en amenorreas secundarias. Puede haber amenorrea primaria.*
- *Muy a menudo consultan por esterilidad.*

Más recientemente, Yen resume el cuadro clínico, aunque, a diferencia de el ya mencionado Goldzieher, no facilita la prevalencia de los distintos síntomas en el fenotipo del SOP(115). Lo resume así:

- *El SOP es, con mucho, la causa más frecuente de esterilidad por anovulación hiperandrogénica*
- *El SOP se manifiesta clínicamente por una combinación de hiperandrogenismo y anovulación crónica y elevación de la relación LH/FSH*
- *El hiperandrogenismo se manifiesta por hirsutismo y acné y, rara vez, alopecia androgénica y por elevación de los niveles de testosterona y androstendiona.*
- *La anovulación crónica se asocia a oligomenorrea o amenorrea y a la presencia de ovarios poliquísticos en la ecografía.*
- *La obesidad es común pero no es un prerrequisito para el desarrollo de un SOP: el 50 % de las mujeres diagnosticadas no son obesas.*
- *La obesidad per se es una enfermedad y su asociación con resistencia insulínica, hiperinsulinemia y trastornos de la secreción de GH está bien establecida.*
- *La obesidad es un factor modificador del auténtico SOP*



En su tratado “Endocrinología ginecológica clínica y esterilidad” (116), Speroff y Fritz no dan una descripción de la clínica del SOP en cuanto a frecuencia de aparición de los distintos síntomas. Simplemente señalan que las consecuencias de la anovulación crónica persistente son:

1. Esterilidad
2. Problemas de la menstruación, que varían entre la amenorrea y la hemorragia uterina disfuncional
3. Hirsutismo, alopecia y acné
4. Mayor riesgo de cáncer endometrial y, quizá, de cáncer de mama
5. Mayor riesgo de enfermedad cardiovascular
6. Mayor riesgo de diabetes mellitus en pacientes con resistencia a la insulina

Balen hizo una revisión de los casos atendidos en Bourn Hall (117) y resumió en una tabla la incidencia de distintos síntomas:

- Obesidad: 38 %
- Trastornos menstruales: 66 %
- Hiperandrogenismo: 48 %
- Anovulación: 73 %

- Asintomáticos: 20 %

En resumen, cabe señalar que el SOP es un trastorno de etiología no completamente definida y de fisiopatología compleja cuya presentación clínica es muy heterogénea y se caracteriza básicamente por anovulación e hiperandrogenismo, viéndose modificada, probablemente, por la edad de la paciente y por sus hábitos de vida, como alimentación y ejercicio físico fundamentalmente.

### Relevancia del SOP en la esterilidad humana

El síndrome del ovario poliquístico (SOP) representa la causa más frecuente de infertilidad de origen anovulatorio en la mujer en edad reproductiva. La inducción de la ovulación con citrato de clomifeno (CC) constituye la primera línea terapéutica en este grupo de pacientes. Sin embargo, aunque aproximadamente el 80% de las pacientes conseguirán ovular a lo largo del tratamiento, tan sólo el 50% logrará el embarazo por esta vía; los primeros tres ciclos son los que acumulan el 75% de los éxitos (118, 119).

Hasta un 15-25% de los casos son resistentes al CC, situación que se define como la no consecución de ovulación tras inducciones con CC a dosis máximas (150-250 mg/día) y que es tanto más frecuente cuanto mayores sean las alteraciones metabólicas y más grave el patrón ecográfico ovárico (32, 120).

En el 50 % de las pacientes que ovulan con CC se produce un fallo de concepción tras seis ciclos de inducción. Esto que podría deberse a la presencia de factores de esterilidad concomitantes, también se han atribuido a varios efectos secundarios del uso del CC, consecuencia de su efecto antiestrogénico como la alteración del moco cervical (121) o el desarrollo endometrial inadecuado (122, 123). Resulta controvertido el empleo de estrógenos exógenos para intentar corregir estos efectos (124). Por otra parte se ha descrito un efecto deletéreo directo del CC sobre los ovocitos humanos (125).

Tanto la obesidad como la insulín-resistencia, características a menudo presentes en el SOP, significativamente a este fracaso terapéutico al clomifeno (119, 126). La reducción de peso a través de la dieta y la actividad física son armas de primera instancia para mejorar la sensibilidad a la insulina. Una segunda línea de

actuación en la lucha contra la insulinresistencia en el manejo actual de la infertilidad en el SOP consiste en el uso de la metformina. Sólo con este fármaco se consiguen mejorar la ciclicidad menstrual y el índice de ovulaciones espontáneas (127-131).

Estudios prospectivos y randomizados en mujeres obesas con SOP han demostrado que la asociación metformina-CC mejora significativamente los porcentajes de ovulación y de gestación (132, 133) si lo comparamos con el uso aislado del CC; también resulta positivo su empleo como tratamiento coadyuvante en protocolos de fecundación in vitro (FIV). Sin embargo en el ensayo clínico desarrollado por Legro (134), concluye que Metformina es menos eficaz que clomifeno en la inducción de la ovulación y que la eficacia del régimen metformina+clomifeno no supera el del clomifeno como único tratamiento.

Las gonadotrofinas exógenas constituyen la opción terapéutica más adecuada en los casos resistentes al CC, si bien este tratamiento implica un riesgo más alto de síndrome de hiperestimulación ovárica (SHO) y embarazo múltiple dada la gran sensibilidad de estas pacientes a estos fármacos (135). El uso de la FSH a dosis bajas en pautas lentas, teniendo en cuenta la teoría del umbral de FSH y sin llegar a niveles suprafisiológicos, aunque no mejora las tasas de gestación, reduce la incidencia de SHO y de embarazo múltiple (136).

Cuando todas estas estrategias no consiguen el embarazo, la FIV representa la indicación terapéutica de elección.

### **Relevancia del SOP en FIV**

Es obvio que las mujeres que requieren tratamiento por esterilidad y presentan un SOP no necesariamente deben ser tratadas mediante FIV, procedimiento al que tan sólo se recurre en aquellos casos en que existe otra causa de esterilidad, como la obstrucción tubárica bilateral (137), o se considera que ha fracasado en tratamiento mediante inducción de la ovulación seguida de inseminación artificial

En torno a la problemática del SOP en FIV ha sido realizado gran número de publicaciones; pueden ser agrupadas en: a) aquéllas que se refieren al manejo clínico en la estimulación y a los resultados de la misma, b) aquéllas que utilizan la FIV para obtener conclusiones sobre la fisiopatología del SOP y c) aquéllas que analizan la calidad de ovocitos y embriones en este tipo de pacientes.

### **Manejo clínico del SOP en FIV. Estimulación y resultados**

La revisión de 118 ciclos estimulados a 115 mujeres bajo supresión hipofisaria en protocolo largo, entre las que se encontraban 12 pacientes con diagnóstico de SOP llevó a Cummins y cols a afirmar que estos casos responden particularmente bien al estímulo con gonadotrofinas asociado al bloqueo hipofisario con GnRH $\alpha$ ; en esta corta serie obtuvieron un porcentaje de gestación de 58%.(138).

No obstante, aunque, en general, tras el estímulo con gonadotrofinas es habitual la obtención de elevado número de ovocitos, fue señalado que la obesidad ensombrece el resultado final, en términos de tasa de gestación (139).

Probablemente, por esta razón, se ha discutido la calidad de ovocitos y preembriones en los casos de SOP, como se comentará más tarde.

MacDougall y cols revisaron 1302 ciclos de FIV realizados en un año y contabilizaron 8 hiperestimulaciones severas, de las cuales 5 presentaban ovarios de tipo SOP en la ecografía. Concluyeron que estas pacientes tienen incremento del riesgo de desarrollar el síndrome de hiperestimulación ovárica; aconsejaron utilizar dosis más bajas de gonadotrofinas en la estimulación y administrar progesterona en lugar de hCG para el apoyo de la fase lútea; también aconsejaron disminuir el número de preembriones en la transferencia, con el fin de disminuir la tasa de gestación múltiple (140). Para estos autores, la asociación de GnRHa en protocolo largo incrementa el riesgo de hiperestimulación.

Homburg y cols analizaron retrospectivamente los resultados obtenidos en el tratamiento mediante FIV de 68 mujeres diagnosticadas de SOP (208 ciclos) y 68 mujeres con esterilidad tubárica (143 ciclos): fueron obtenidos más ovocitos en las mujeres SOP pero la tasa de fecundación fue menor; no observaron diferencias en cuanto a las tasas de embarazo. El bloqueo hipofisario con GnRHa mejoró la tasa acumulativa de embarazo y parto y disminuyó la tasa de aborto en el grupo SOP pero no en el grupo de obstrucción tubárica(141). Este mismo autor comprobó que la utilización de GnRHa en casos de SOP disminuye muy notablemente la tasa de aborto tras FIV(142).

MacDougall y cols realizaron un estudio prospectivo, en el que incluyeron 76 pacientes diagnosticadas de SOP por el aspecto ecográfico de sus ovarios y 76

pacientes como control (143). Edad, causa de esterilidad (al margen del SOP) y estimulación fueron similares en ambos grupos.

Resumieron sus observaciones en:

El grupo de mujeres con ovario de aspecto SOP requirió significativamente menores dosis de hMG, mostró niveles significativamente mayores de estradiol, desarrolló más folículos y fueron obtenidos más ovocitos. Sin embargo, la tasa de fecundación fue significativamente menor.

No se observó diferencias en los porcentajes de embarazo (25,4% vs 23%).

Se produjeron 3 grandes múltiples en el grupo SOP, así como 10 casos de síndrome de hiperestimulación moderado o severo; estas complicaciones no fueron observadas en el grupo de control.

Concluyeron que es importante diagnosticar el SOP antes de iniciar la estimulación por el mayor riesgo de hiperestimulación.

Kodama y cols (144) compararon 78 ciclos de 26 pacientes SOP con 423 ciclos de 202 pacientes de ciclo normal y edad similar. La tasa de gestación por transferencia fue menor en ciclos de mujeres SOP, aunque la diferencia no alcanzó significación estadística (25% vs 34%); no obstante, la tasa de gestación por ciclo puncionado fue significativamente menor (19% vs 31%) en las mujeres SOP. Un hallazgo llamativo fue la elevada tasa de ciclo sin transferencia por no obtenerse ovocitos o por fallo en la fecundación. Los fallos de fecundación fueron significativamente más frecuentes en mujeres SOP que en mujeres normales (18 vs

5%). Afirmaron que deben ser tomadas especiales medidas durante la estimulación de las mujeres con ovario poliquístico.

En el año 1996, Buyalos revisó la literatura existente y afirmó:

La FIV es un tratamiento efectivo para pacientes diagnosticadas de SOP en las que fracasa la inducción de la ovulación o en las que coexisten otras causas de esterilidad

El uso de análogos agonistas se asocia a reducción de la incidencia de abortos y puede mejorar las tasas de fecundación y división del cigoto.

Comparado con hMG, el uso de FSH purificada no parece mejorar la tasa de gestación ni ningún otro parámetro clínico

La hiperestimulación ovárica severa es una complicación relevante en estas pacientes cuando se estimulan con gonadotrofinas para FIV

Resultados similares fueron observados por otros autores(145).

Rosenwacks y cols (146), considerando que las pacientes SOP son particularmente sensibles al tratamiento con gonadotrofinas exógenas y presentan un riesgo aumentado de hiperestimulación, propugnaron para su manejo un pretratamiento con estroprogestativos orales y GnRHa de forma que la administración de este último se superponga durante los últimos 5 días de tratamiento estroprogestativo, antes de iniciar la administración de gonadotrofinas. Según estos autores, los resultados mejoran: observaron sólo 13,1% de



cancelaciones y sólo se produjeron hiperestimulaciones moderadas, alcanzándose elevadas porcentajes de embarazo (46,5%).

Lo justificaron porque, bajo tratamiento supresor, se observó una normalización de la relación LH/FSH; además, disminuyeron los andrógenos, en particular SDHEA.

Como resultado de un estudio que incluyó 60 mujeres estériles de función ovárica normal y 25 mujeres SOP, Yamaguchi y cols concluyeron que el frenado hipofisario con agonistas de GnRH en protocolo corto no es adecuado para las mujeres con disfunción ovárica tipo SOP (147).

Prácticamente todos los autores que, desde la perspectiva de la reproducción asistida, han tratado el tema de las pacientes afectas de SOP han señalado que uno de los riesgos del tratamiento de este tipo de pacientes es la gestación múltiple. Este riesgo es más acusado, si cabe, en los tratamientos de estimulación ovárica para coito programado o para inseminación artificial porque en estos tipos de tratamiento no se controla el número de preembriones aptos para implantar que pueden llegar a la cavidad uterina; sin embargo, esto sí puede hacerse en fecundación in vitro. Así, Berg y cols (148) consiguieron eliminar las gestaciones con tres o más sacos implantados limitando a dos el número de preembriones transferidos en una serie de 34 pacientes resistentes a clomifeno. Estos autores señalaron que, aunque el porcentaje de gestación es algo más baja (24%), esta conducta puede ser una alternativa. El tiempo les daría la razón porque, en la actualidad, ésta es la conducta habitual no sólo en los casos de SOP, sino en todos los casos, para la mayor parte de los centros. En concreto, este es el caso en la Unidad de Reproducción Asistida de nuestro centro, en la que, desde el año 2002, época en la que se limitó a dos el

número de preembriones en la transferencia, sólo se han producido dos gestaciones triples y ello por división espontánea de uno de los dos preembriones transferidos.

Respecto al desarrollo de un síndrome de hiperestimulación ovárica, complicación más frecuente en las mujeres SOP que en las mujeres de función ovárica normal, fue señalado que suspender la estimulación manteniendo la supresión hipofisaria para 24 a 72 horas después, si los niveles de estradiol se mantienen en límites adecuados (lo que se ha denominado “coasting”), administrar la hCG puede evitar el desarrollo de esta complicación (149); estos mismos autores evidenciaron que el tratamiento con metformina mejora las tasas de fecundación y embarazo. Sin embargo, en la experiencia de nuestro grupo, el desarrollo de complicaciones relacionadas con la hiperestimulación está más en relación con el número de folículos desarrollados que con los niveles de estradiol (150).

Como ha sido comentado, distintos grupos han señalado que la tasa de gestación tras FIV es más baja en las mujeres afectas de SOP que en las mujeres de función ovárica normal.

Kolibianakis y cols (151) evaluaron los resultados obtenidos en 110 pacientes que fueron estimuladas con FSHr a dosis de 100 UI/día si su IMC fue igual o menor a 29 y de 200 UI/día si el mismo fue superior a 29. En esta serie se indujo el bloqueo gonadotropo hipofisario con GnRHant a partir del momento en que fue visible un folículo de 15 mm de diámetro. Las mujeres con IMC superior a 29 mostraron significativamente menor tasa de gestación por punción (25,6 % versus 46,7 %) y mayor incidencia de síndrome de hiperestimulación (16,3 % versus 3 %) que las pacientes de IMC menor de 30. Concluyeron que las mujeres SOP

obesas presentan peores resultados que las mujeres SOP no obesas, en las condiciones referidas (152).

Sin embargo, un metanálisis realizado por Hetinen y cols (153) que analizó 9 entre 290 publicaciones (792 ciclos SOP y 1116 ciclos de control) permitió concluir que se observa:

Mayor tasa de cancelación, obtención de más ovocitos por punción y menor tasa de fecundación en ciclos FIV en mujeres afectas de SOP.

Similar tasa de embarazo y de RNV en ciclos SOP y en controles.

Algunos autores han señalado recientemente que el nivel circulante de hormona antimulleriana (AMH) se muestra elevado en las mujeres SOP respecto a las mujeres de función ovárica normal y que esto puede ser utilizado como factor predictor de la respuesta esperable a la estimulación (154-156).

Considerando que la asociación de metformina a la estimulación con FSHr bajo supresión hipofisaria con antagonista podría resultar ventajosa, Doldi y cols llevaron a cabo un estudio en que incluyeron 40 pacientes, uno de los cuales recibió un tratamiento con Metformina desde 2 meses previos a la estimulación, que se llevó a cabo con FSHr bajo supresión hipofisaria con antagonista a partir del momento en que se observó un folículo de 14 mm de diámetro. Informaron que la metformina redujo el número de UI de FSH para alcanzar una estimulación adecuada y el número de folículos desarrollados. En el grupo tratado con metformina se produjeron menos hiperestimulaciones. La tasa de gestación fue similar en ambos grupos (157); sin embargo, no se discriminó entre mujeres hiperinsulinémicas y no.

A este respecto, la ESHRE ha puntualizado recientemente que la metformina debe reservarse a las mujeres SOP que presentan resistencia a la insulina (158).

Uno de los factores que juegan un papel importante en el desencadenamiento del síndrome de hiperestimulación ovárica cuando se estimula con gonadotrofinas a mujeres que padecen un SOP con el fin de practicar una FIV es la prolongada vida media de la hCG. La administración de esta hormona es necesaria para que se produzcan la maduración final del ovocito y la luteinización de la granulosa pero, simultáneamente, hCG modifica la producción de VEGF (159, 160), factor clave en el fisiopatología del síndrome de hiperestimulación ovárica cuya producción está aumentada en las mujeres SOP (161). La acción de una dosis habitual de hCG se mantiene durante más de una semana.

Sin embargo, la descarga endógena de LH está limitada en el tiempo y la vida media de esta hormona es mucho más breve que la de hCG. Fue evidenciado que el pico endógeno de gonadotrofinas puede inducirse con la administración de GnRH $\alpha$  y esta descarga endógena es eficaz para inducir la maduración ovocitaria y la ruptura folicular en mujeres estimuladas (162).

Esta pauta de tratamiento puede ser utilizada en mujeres estimuladas para FIV, cuando la inhibición gonadotropa hipofisaria se ha inducido con la administración de un antagonista de GnRH (163).

La efectividad de este tipo de tratamiento en mujeres con SOP (Grupo de estudio) fue retrospectivamente estudiada, comparándola con la del tratamiento consistente en estimulación con gonadotrofinas y supresión hipofisaria con

estroprogestativos seguidos de GnRH $\alpha$  (Grupo de control), Todas las pacientes recibieron progesterona como soporte de la fase lútea y las pacientes del grupo de estudio recibieron, además, estradiol transdérmico. Los resultados observados en ambos grupos fueron buenos; no hubo diferencias estadísticamente significativas entre las tasas de implantación, gestación y parto. Se produjo un síndrome de hiperestimulación ovárica moderada en el grupo de control y ninguno el grupo de estudio (164).

Lubin y cols sugirieron la posible ventaja de inducir el bloqueo hipofisario con GnRHant, puesto que, en las mujeres SOP, existe una elevación de LH y la inhibición de la secreción de la misma es rápida e intensa con la administración de antagonistas (165).

Considerando que la exposición a elevados niveles de LH y estradiol tiene efectos adversos sobre el resultado de la FIV(166) Kolibianakis y cols. propusieron iniciar la administración de antagonistas desde el primer día del ciclo (167).

Hwang y cols propusieron un protocolo de tratamiento consistente en iniciar la estimulación gonadotropa bajo supresión con antagonista desde el día 3 del ciclo, tras tres ciclos de tratamiento con Diane®. No observaron diferencias significativas al comparar la tasa de gestación obtenida en 25 ciclos de estudio con un grupo de control en el que utilizó un protocolo largo de agonista (168).

Griesinger y cols realizaron un metanálisis sobre la utilización de antagonistas de GnRH en el tratamiento para FIV de distintos tipos de pacientes, entre los cuales mujeres con SOP. Para estas mujeres no hallaron diferencias en el resultado del tratamiento, excepto en la menor duración de la estimulación cuando se

utilizaron antagonistas. En su informe también señalaron que la inducción de la maduración final ovocitaria con GnRH $\alpha$  parece proteger contra la aparición del síndrome de hiperestimulación, aunque la experiencia es muy limitada(169).

En época relativamente reciente, Lainas y cols(170) desarrollaron un estudio prospectivo y randomizado, con el fin de comparar los resultados obtenidos en FIV estimulando mujeres diagnosticadas de SOP bajo supresión hipofisaria con GnRH $\alpha$  en protocolo largo (n= 52) con los obtenidos en un grupo de mujeres en que la supresión hipofisaria se indujo con GnRHant, administrado desde el día 1 del ciclo (n=26). Ambos grupos fueron tratados durante los dos meses previos con contraceptivos orales y fueron estimulados con FSHr, a dosis inicial de 150 UI/día. Concluyeron que el desarrollo folicular es más precoz en el grupo tratado con antagonistas.

Todo ello resulta sin duda cuestionable puesto que el estudio realizado por Segal y cols (171) puso de manifiesto que la luteinización prematura, entendida como niveles circulante de P<sub>4</sub> superiores a 1,3 ng/mL, se asocia a mayor número de ovocitos maduros obtenidos y similar tasa de embarazo, cuando se compara mujeres SOP con y sin aquélla.

### **Estudios dedicados a aspectos fisiopatológicos**

Fue observado que el líquido folicular de los folículos dominantes de mujeres SOP estimuladas contiene niveles más elevados que el de mujeres de ovarios normales y se especuló si estos niveles pueden jugar un papel en los procesos de selección y atresia foliculares, sin llegarse a ninguna conclusión (172).

Barreca y cols(173) investigaron la concentración de IGF-II en 103 líquidos foliculares mujeres de ciclo normal (29 pacientes) y 102 líquidos foliculares de mujeres diagnosticadas de SOP (19 pacientes) y midieron el RNA mensajero extraído de células granulosas de las mismas pacientes.

La concentración de IGF-II de las pacientes diagnosticadas de SOP fue significativamente menor y, en concordancia, también lo fue la expresión del RNA en las granulosas. Afirmaron que el déficit de IGF-II puede tener un papel en el desarrollo de la enfermedad.

Suero de 4 mujeres fértiles, de 4 mujeres con amenorrea hipotalámica, de 7 mujeres SOP y de 3 mujeres anovuladoras con niveles hormonales normales fue utilizado como suplemento del medio de cultivo en un modelo de fecundación y desarrollo embrionario temprano de ovocitos de ratón en un estudio realizado por Dealon y cols (174).

El porcentaje de fecundación fue menor en los experimentos en que se utilizó suero de mujeres SOP que cuando se usó suero de mujeres normales (60% vs 42%) y también lo fue el desarrollo embrionario precoz (87% vs 31%). El porcentaje más bajo de desarrollo de blastocistos se observó con el suero de mujeres SOP con elevación de LH o testosterona: 22%.

Concluyeron que el suero de mujeres diagnosticadas de SOP resulta deletéreo para la fecundación y el desarrollo de blastocisto. Afirmaron que la inhibición del desarrollo de blastocistos observada con el suero de mujeres diagnosticadas de SOP con elevación de LH o testosterona podría justificar la baja

tasa de gestación y parto que se observa en el tratamiento de mujeres mediante técnicas de reproducción asistida.

Sharara y cols sugirió, como consecuencia de la observación de líquido endometrial en 4 mujeres afectas de SOP que, en ocasiones, un mal ambiente endometrial puede ser la causa del fracaso del tratamiento (175) y que, cuando aquél se observa el día de la transferencia, la congelación de embriones puede ser una alternativa.

Como resultado de un estudio que incluyó 20 mujeres afectas de esterilidad tubárica, 17 mujeres afectas de SOP y 29 mujeres diagnosticadas de endometriosis, todas ellas tratadas mediante FIV, Fallat y cols señalaron que el nivel de hormona antimulleriana (AMH) es más elevado en suero y en líquido folicular de las mujeres afectadas de SOP (176).

Está generalmente admitido que las mujeres con SOP presentan un elevado riesgo de desarrollar un síndrome de hiperestimulación ovárica. Un estudio desarrollado por Agrawal y cols permitió evidenciar que los niveles de VEGF en líquido folicular y en sangre circulante son más elevados en las mujeres SOP y afirmaron que ello podría estar relacionado con el riesgo de hiperestimulación que éstas presentan (177).

Habiendo sido afirmado que una alteración del patrón de la secreción pulsátil de gonadotrofinas constituye uno de los pilares importantes de la fisiopatología del SOP, provocando el aumento de LH (y, consecuentemente, de andrógenos), se llevó a cabo un interesante estudio que incluyó a 2 mujeres



diagnosticadas de SOP que, probablemente, fue el primero en el que se valoró la acción de los antagonistas de GnRH en esta patología: la actividad de su GnRH endógena fue bloqueada mediante la administración de un antagonista y, a continuación, les fueron administrados 10 µg de GnRH cada 90 min durante 15 días. Se consiguió restablecer un patrón de secreción de LH normal observando una disminución de los niveles de testosterona pero no se consiguió provocar una ovulación normal. Para estos autores, la incapacidad de provocar una ovulación normal sugiere un defecto inherente al ovario en mujeres con PCO (165).

Se había especulado que cambios en la circulación sanguínea intraovárica podrían jugar un papel en la fisiopatología del SOP. Sin embargo, un estudio realizado mediante Doppler a una serie de mujeres afectas de SOP no permitió establecer la existencia de alteración vascular alguna (178).

Ha sido comentado que se especuló que un déficit de aromatasa podría jugar un papel etiológico o fisiopatológico en el SOP. Sin embargo, Volpe y cols, evidenciando que en el líquido folicular de mujeres SOP estimuladas para FIV la concentración de testosterona y androstendiona es superior a la de las mujeres de un grupo control y que las de estradiol y estrona son similares (el mismo comportamiento que se observa en los cultivos de células granulosas luteinizadas), concluyeron que el SOP no se deriva de un déficit de aromatasa sino, quizá, de hiperactividad de la teca y acumulación de andrógenos. Señalaron que algún factor, como EGF, puede jugar un papel (179).

Foong y cols llevaron a cabo un estudio prospectivo y comparativo de cohortes, comparando aspectos endocrinos de la estimulación de 11 mujeres SOP hiperinsulinémicas y 30 mujeres normales (180). Observaron mayor número de

folículos desarrollados en las mujeres SOP, aunque de menor diámetro; los folículos de las mismas contuvieron menos progesterona, a pesar de similar nivel de LH y expresión del receptor de ésta en las células granulosas, y similar estradiol, a pesar de disminuida biodisponibilidad de FSH. Además, los folículos de las mujeres SOP que contuvieron ovocitos maduros mostraron elevación de andrógenos (A y T), niveles normales de progesterona y consumo normal de glucosa.

Sin embargo, considerando como indicativo de luteinización niveles de progesterona superiores a 1,3 ng/mL, Segal y cols señalaron que 28% de los casos de SOP muestran luteinización prematura cuando son estimulados para FIV, que en estos casos se obtiene mayor número de ovocitos que en el resto de casos SOP no luteinizados y que el porcentaje de gestación clínica es similar en ambos grupos (171).

### **Estudios dedicados a la calidad de ovocitos y pre-embryones**

Tradicionalmente han existido numerosas dificultades para desarrollar este tipo de estudios porque nada de cuanto se proyecte debe poner en peligro la integridad ni la viabilidad de los preembryones, aunque, recientemente, en algún país, entre ellos el nuestro, ha hecho legal, bajo determinadas condiciones, la experimentación con aquéllos.

El resultado de los tratamientos mediante FIV está en relación con la calidad de ovocitos y embryones, como se evidencia a partir de la experiencia de todos los centros de reproducción asistida a partir de la donación de ovocitos (181-183).

No existe una opinión unánime acerca de la calidad de ovocitos y embriones obtenidos tras FIV (clásica o ICSI) en mujeres afectas de SOP. Sin embargo, datos como menor tasa de fecundación, menor porcentaje de gestación (ésta menos cuestionada) y mayor porcentaje de aborto, han llevado a algunos autores a suponer que la calidad de ovocitos y embriones podría ser menor en mujeres afectas de SOP que en mujeres de ciclo ovárico normal.

Un interesante estudio fue desarrollado por Hardy y cols , en 1995 (184). El punto de partida de este estudio fueron 51 ciclos de pacientes diagnosticadas de esterilidad de origen tubárico y de esterilidad por anovulación crónica (SOP). Fue analizado el desarrollo a blastocisto de los embriones no transferidos en estos ciclos. El porcentaje de embriones que alcanzó el estadio de blastocisto fue similar en ambos grupos. El almacenamiento de glucosa y la producción de lactato también fue similar en los dos grupos.

Concluyeron que, con una estimulación optimizada, los embriones de pacientes diagnosticadas de SOP son de buena calidad y tienen un buen potencial de desarrollo.

Ashkenazi y cols (185) desarrollaron un estudio destinado a evaluar la calidad de los ovocitos obtenidos de mujeres diagnosticadas de SOP y estimuladas bajo bloqueo hipofisario con agonistas y sin él. Para ello valoraron los resultados de 60 ciclos de ovodonación en los que todas las donantes padecían un SOP. Observaron que los ovocitos obtenidos de estas pacientes presentan un potencial de fecundación similar al de las mujeres afectas de obstrucción tubárica; no obstante, porque los embriones provenientes de ciclos estimulados bajo bloqueo hipofisario

con GnRHa mostraron mayor capacidad de implantación, especularon que los niveles elevados de LH podrían actuar en detrimento de la calidad de los ovocitos.

Sengoku y cols corroboraron la observación de otros autores, al obtener tasas de fecundación más bajas en las mujeres afectas de SOP. Por esta razón estudiaron la dotación cromosómica de una serie de ovocitos. En el análisis citogenético llevado a cabo (74 ovocitos de mujeres SOP y 73 de mujeres con esterilidad tubárica) fueron detectadas aneuploidías, diploidías y condensación prematura de los cromosomas en similar porcentaje en ambos grupos. Concluyeron que la reducida tasa de fecundación observada en SOP no es debida a aberraciones cromosómicas ni a inmadurez de los ovocitos obtenidos (186).

Como consecuencia de un estudio que incluyó 60 mujeres de control, 30 mujeres afectas de hipogonadismo y 25 mujeres diagnosticadas de SOP, Yamaguchi y cols concluyeron que la peor calidad de ovocitos y embriones que se observe en las mujeres SOP puede ser debida a la elevación de la progesterona (147).

Partiendo de la hipótesis de que las pacientes que padecen SOP presentan mayor porcentaje de aborto y que ello puede ser debido a una menor calidad de ovocitos y embriones, Ludwig y cols analizaron retrospectivamente 51 ciclos de ICSI realizados a 31 mujeres afectas de SOP, comparándolos con 105 ciclos de control. No observaron diferencias respecto al porcentaje de ovocitos M II obtenida pero fue transferido mayor número de embriones en el grupo SOP (2,69 vs 2,17); el porcentaje de gestación no fue diferente pero el porcentaje de aborto fue significativamente mayor en el grupo SOP (41,7% vs 21%). Concluyeron que

factores negativos no relacionados con la morfología del ovocito, quizás afectando a la madurez citoplásmica, influyen en el resultado en estas pacientes (187).

Considerando que el microentorno endocrino correlaciona con la calidad ovocitaria, Teissier y cols analizaron la esteroidogénesis folicular en 118 folículos de distinto tamaño procedentes de mujeres afectas de esterilidad de origen tubárico (control) y de mujeres diagnosticadas de SOP; en ninguna de ellas se observó endometriosis en la laparoscopia. Todas fueron estimuladas con FSHr bajo protocolo largo de agonista.

Se observó la existencia de correlación entre el tamaño folicular y el nivel de  $E_2$  y  $P_4$  en líquido folicular en el control pero no en el SOP. En este grupo, los folículos pequeños presentaron mayor nivel de T y  $P_4$  que en el control; sin embargo, en los folículos conteniendo ovocitos preovulatorios no se observó diferencias entre controles y SOP, estimándose el límite en 14 mm de diámetro folicular (188).

En opinión de Stephen Franks y cols, después de la inducción de la ovulación las tasas de fecundación en mujeres SOP son normales pero estas mujeres presentan un riesgo incrementado de aborto, sobre todo cuando presentan obesidad. Después de estimulación para FIV la calidad morfológica de ovocitos y embriones no está alterada pero existen anomalías endocrinas específicas que se han visto asociadas a reducidas tasas de fecundación y a desarrollo temprano anormal de los embriones(189)

Así parecen confirmarlo las observaciones de Plachot y cols, quienes, analizando los resultados observados en 40 mujeres diagnosticadas de SOP y

comparándolos con los de mujeres de función ovárica normal de la misma edad señalan que existe menor tasa de fecundación en las mujeres SOP, aunque, obteniéndose en éstas mayor número de ovocitos, el número de embriones transferibles es similar en ambos grupos (190).

Es una experiencia generalizada que las mujeres SOP desarrollan más folículos que las mujeres de ovario normal, cuando son estimuladas con gonadotrofinas. Considerando que la maduración final podría verse alterada, Bokal y cols llevaron a cabo un estudio con el fin de determinar si prolongar la acción de hCG (retrasando la punción 4 horas) podría mejorar la maduración folicular y, en consecuencia, la calidad y competencia ovocitarias. Suponen que esta conducta podría mejorar la acción de sustancias angiogénicas como el sistema renina-angiotensina y VEGF. Incluyeron en su estudio 20 mujeres diagnosticadas de SOP y determinaron en cada folículos prorenina, VEGF y estradiol; la calidad de ovocitos y embriones fue, así mismo, evaluada.

Observaron niveles de renina significativamente menores y niveles de VEGF significativamente mayores en el grupo en que la punción fue retrasada, mejorando simultáneamente de forma significativa la probabilidad de obtener ovocitos y de desarrollar embriones de alta calidad.

Concluyeron que la maduración folicular y la calidad ovocitaria están relacionadas con la acción de renina y VEGF mientras que la competencia para la fecundación es competencia exclusiva de la acción de VEGF (191).

Con el ánimo de verificar si la disminución de la calidad de ovocitos y embriones atribuida a las mujeres con SOP afecta a todas ellas o está vinculada a la obesidad asociada, Ciepiela y cols llevaron a cabo un estudio, en el que incluyeron 71 mujeres SOP no obesas y compararon los resultados obtenidos con los de 243 mujeres normales, no obesas (192). Los resultados obtenidos fueron mejores en el grupo SOP que en el grupo control en cuanto a número de ovocitos, número de M II, tasa de fecundación, porcentaje de embriones de buena calidad y porcentaje de gestación y parto; los porcentajes de aborto y gestación ectópica fueron similares. Concluyeron que las mujeres SOP no obesas presentan buenos resultados en FIV, tanto biotecnológica como clínicamente.

A similares conclusiones han llegado más tarde distintos investigadores (193).

En época reciente se ha iniciado el estudio de la calidad y capacidad celular mediante el estudio de la expresión genética. Wood y cols, considerando que el fenotipo SOP se asocia a respuesta exagerada a la acción de FSH y a un aumento de las pérdidas gestacionales precoces, desarrollaron un estudio destinado a determinar si las alteraciones del microambiente folicular afecta la expresión genética y, como consecuencia, el desarrollo del ovocito(194).

Utilizando microarrays y PCR valoraron ovocitos procedentes de mujeres SOP y de mujeres de función ovárica normal estimuladas para FIV. Observaron que, de los 8123 transcripts expresados en los ovocitos, 347 genes mostraron diferencias significativas en el RNAm contenido en los ovocitos. Una parte de estos genes se asocia al alineamiento de cromosomas y a su segregación durante la meiosis y

mitosis; además 68 de estos genes contuvieron receptor de andrógenos y lugares de unión al receptor de peroxisoma proliferating receptor.

Concluyeron que, aunque los ovocitos de ovarios SOP son morfológicamente indistinguibles, presentan diferencias en su expresión genética. Andrógenos u otros activadores de receptores nucleares pueden jugar un papel en el origen de estas diferencias. Así mismo, defectos en la meiosis o en el desarrollo embrionario precoz podrían contribuir a alteraciones de la competencia ovocitaria para el desarrollo.

Estos estudios han sido recogidos por otros autores. Así, Dumesic y cols (194) han afirmado que conocer cómo factores endocrinos y paracrinos interactúan para promover el desarrollo óptimo del ovocito es crucial para identificar a las paciente SOP que se beneficiarían de una corrección a largo plazo de crecimiento folicular para mejorar su fertilidad, optimizar la respuesta folicular a las gonadotrofinas y mejorar el resultado de la FIV.

Por su parte, Patel y Carr añaden que el advenimiento de la maduración in vitro puede ofrecer a las mujeres SOP una alternativa que, corrigiendo la foliculogénesis aberrante y su impacto sobre la fertilidad, permita obtener la gestación evolutiva (195).

### **Nuevas tecnologías: maduración in vitro de ovocitos**

Desde que fueron introducidos en la práctica de la fecundación in vitro los protocolos de estimulación con gonadotrofinas, sobre todo bajo bloqueo hipofisario

---



con agonistas de GnRH, se hizo habitual la obtención de un importante porcentaje de ovocitos inmaduros junto a un número variable de ovocitos maduros, es decir fertilizables. Para todos los equipos médico-biológicos que practican la reproducción asistida, estos ovocitos inmaduros han representado siempre un material biológico importante y, en consecuencia, se ha intentado siempre su utilización mediante su maduración in vitro.

Ya en 1883 Lucinda Veeck demostró que ovocitos en estadio nuclear P-I pueden completar su maduración, ser fecundados y dar lugar a gestaciones (196). Esta misma autora comunicó poco después que la maduración in vitro se produce en más del 80% de los ovocitos en los que, en el momento de la extracción, se observa la presencia de la vesícula germinal y que, una vez se produce la extrusión del corpúsculo polar, la tasa de fecundación es satisfactoria (197), lo que hace importante mejorar las técnicas de maduración in vitro.

Muy verosímilmente, ello es así porque hasta que se produce el pico preovulatorio de gonadotrofinas o hasta que se administra hCG en un ciclo estimulado, el ovocito se mantiene en estadio P-I como consecuencia de la acción del factor inhibidor de la maduración ovocitaria (OMI), de la que se libera una vez extraído del folículo (198). No obstante, se conoce la acción favorecedora de la maduración ovocitaria de algunos factores, que podrían actuar en la maduración in vivo(199).

A partir de ovocitos P-I criopreservados obtenidos en ciclos estimulados para FIV, Toth y cols obtuvieron tras su descongelación 83,3% de maduración, 57,7% de fecundación y 3,3% de evolución a blastocisto, no observándose diferencias significativas con la evolución de ovocitos inmaduros no

criopreservados, lo que supuso un aumento de las posibilidades de uso de este tipo de ovocitos (200).

Con el fin de valorar la seguridad de estas técnicas, fue desarrollado un estudio destinado a valorar posibles alteraciones del uso acromático derivadas tanto de los procesos de congelación y descongelación de los ovocitos P-I como de la maduración in vitro. Se llegó a la conclusión de que la aplicación de estas técnicas no incrementa significativamente las anomalías de uso meiótico (201). Estas observaciones, que hacen referencia a la seguridad de la maduración in vitro, fueron corroboradas más tarde mediante el estudio de aneuploidías (202) y, recientemente, mediante el estudio de 432 niños nacidos de 342 gestaciones (203).

Habiendo sido sólidamente demostradas la eficacia y la seguridad de la maduración in vitro de ovocitos inmaduros procedentes de ciclos estimulados para FIV, la investigación se dirigió al estudio de la posibilidad de maduración in vitro de ovocitos inmaduros procedentes de ovarios no estimulados. En este sentido, fue evidenciado que ovocitos humanos no estimulados tienen la capacidad de completar la meiosis y madurar in vitro y que esta capacidad guarda correlación con el tamaño del ovocitos, siendo significativamente mayor en los ovocitos cuyo diámetro es de 106 a 125 micras que en los que miden de 86 a 106 micras (204). En el mismo contexto se comprobó que la capacidad de maduración in vitro es mayor para los ovocitos que proceden de mujeres con función ovárica normal que para los ovocitos que proceden de mujeres que presentan irregularidad menstrual y de mujeres que presentan anovulación por SOP (205).

Plachot había señalado que el rendimiento de la maduración in vitro de ovocitos es baja porque, probablemente, no se limita a la maduración nuclear, puesta de manifiesto por la expulsión del corpúsculo polar, sino que requiere la maduración citoplasmática y la maduración de la membrana citoplasmática que debe fijar al espermatozoide (206).

No obstante, considerando que evitar los riesgos de la estimulación ovárica en mujeres afectas de SOP podría ser de interés, fue realizado un estudio prospectivo que incluyó 94 ciclos de 64 pacientes. Las pacientes fueron seleccionadas por presentar oligomenorrea, hirsutismo y aspecto poliquístico de los ovarios. Los ovocitos (n= 1139) fueron obtenidos por punción a los 10-13 días de una menstruación. De ellos, 62,2% maduraron en 48 horas y 68% de éstos fecundaron tras ICSI. Se produjo una gestación en 23 ciclos (27,1%), naciendo 20 niños en 17 partos, concluyendo los autores que este protocolo puede ser una buena alternativa para mujeres SOP con riesgo(207).

Para mejorar los resultados de la maduración in vitro de ovocitos ha sido necesario desarrollar estudios destinados a determinar cuáles son las mejores condiciones de cultivo y cómo los medios utilizados pueden influir sobre el metabolismo in vitro de los ovocitos. Así, Roberts y cols (208) analizaron dos medios de cultivo valorando no invasivamente la depleción de piruvato y la acumulación de lactato. Comprobaron que el piruvato es una importante fuente de energía durante la maduración del ovocito, que la composición del medio puede afectar la tasa de maduración y que el medio de cultivo y el estadio de maduración nuclear pueden afectar el almacenamiento de piruvato y el acúmulo de lactato.

Este mismo grupo manifestó que existe un diálogo entre las células del cúmulo y el ovocito que influencia la capacidad de respuesta a FSH y el metabolismo del complejo ovocito-corona-cúmulo y evidenció que FSH incrementa el almacenamiento de la glucosa por traslocación de la proteína GLUT4 a la membrana, mediada por fosfatidil-insitol 3 fosfato (209).

La maduración in vitro de ovocitos puede ser practicada en el tratamiento de pacientes no estimuladas. Con este protocolo han sido comunicadas porcentajes de maduración de 53,9 % y fecundación de 69,3 % tras ICSI y porcentajes de gestación de 23,8 % tras FIV y 17,1 % (por punción), llegándose a la conclusión de que puede obtenerse buenos resultados, en términos de gestación, tanto en pacientes de ciclo normal como en pacientes SOP transfiriendo sólo uno o dos embriones en cada transferencia (210)

Un estudio llevado a cabo por Li y cols utilizando microscopía confocal ha permitido evidenciar que la maduración in vitro puede inducir efectos deletéreos sobre el uso meiótico y el alineamiento de cromosomas, lo que sugiere una posible explicación del reducido potencial de desarrollo de los ovocitos madurados in vitro(211) y aporta dudas sobre la ética del proceso (212).

A pesar de todo, están siendo introducidas mejoras en las condiciones de cultivo, tales como aditivación de hormonas al medio de cultivo. En este contexto, ha sido evidenciado que la aditivación de hCG produce mejores resultados que la aditivación de FSH, comprobándose menor incidencia de fragmentación y multinucleación de blastómeras (213). Sin embargo, esta conclusión no ha sido

obtenida por otros autores, que compararon IVM 199 aditivado de suero fetal bovino y FSH con el mismo más hCG, observando resultados similares(214).

En este contexto, merecen ser referenciados los resultados obtenidos por Zhang y cols., quienes llevaron a cabo un estudio destinado a comparar la efectividad de los cultivos, suplementado uno con suero de cordón fetal humano (20 %) y el otro con 20 % de líquido folicular humano(215). En líquido folicular fueron cultivados 349 ovocitos inmaduros de 32 pacientes SOP y otros 160 de otras 15 pacientes SOP lo fueron en suero de cordón fetal. El porcentaje de embriones de alta calidad fue significativamente superior entre los ovocitos cultivados en suero de cordón fetal (50 % vs 23,8 %), como lo fue el porcentaje de gestación por paciente (40 % vs 22,6 %).

En la actualidad está siendo dirigida la atención hacia moléculas que juegan un papel en la maduración in vivo, tanto nuclear como citoplásmica, como FF-MAS (4,4-dimethyl-5 alpha-cholest-8,14,24-trien-3 beta -ol), un producto intermedio en la cadena biosintética del colesterol, que actúa sobre la maduración de forma dosis-dependiente (216).

En resumen, la maduración in vitro de ovocitos obtenidos de ovarios no estimulados es una técnica que enriquece las posibilidades de la reproducción asistida y que, probablemente, llegará a introducirse en la mayoría de los centros asistenciales, aunque, en la actualidad, aunque se considera prometedora para mujeres SOP y para jóvenes que pretendan preservar su fertilidad, su práctica sea todavía considerada como experiencia clínica controlada.

## Bloqueo hipofisario

El SOP se caracteriza, entre otros aspectos fisiopatológicos, por una secreción inadecuada de gonadotropinas: una concentración sérica media de LH anormalmente elevada y una FSH normal o en el límite inferior de la normalidad (5). De ello resulta una elevación del cociente LH/ FSH, criterio que fue utilizado, en su día, como diagnóstico (12). Dada la secreción pulsátil de dichas hormonas y la variabilidad de resultados según la técnica empleada, esta relación puede variar considerablemente hasta encontrarse normal en un porcentaje variable de pacientes.

La secreción de gonadotropinas depende de la secreción de GnRH, neurohormona proteica de estructura lineal y muy corta vida media (217) producida en el hipotálamo, y de la acción de esta neurohormona sobre las células gonadotropas hipofisarias. Se comprobó que los niveles circulantes de gonadotropinas tienen carácter pulsátil, carácter que se debe a la liberación intermitente de la GnRH (218). El ritmo y amplitud de los pulsos de GnRH determinan tanto el nivel circulante de LH y FSH como la relación entre ambos (219), considerándose que LH es dependiente minuto a minuto de GnRH; no así FSH, debido a la vida media más larga de esta hormona.

Poco después de la obtenerse la síntesis de GnRH, debido a que su corta vida media hacía muy difícil su utilización terapéutica (220), fueron obtenidos análogos agonistas (compuestos de acción similar y larga vida media) de acción más intensa y duradera (221), observándose que su administración continua (como la administración continua de la GnRH nativa) inducía una situación paradójica, de hipogonadismo hipogonadotropo a la que se denominó castración médica reversible (222, 223).

Las investigaciones ya citadas de Carmel y cols (218) habían demostrado que la liberación de GnRH en los primates tiene carácter pulsátil. Nuevas investigaciones de Knobil y cols demostraron que una situación de hipogonadismo hipogonadotropo se produce como resultado de administrar GnRH pulsátil a macacas cuyo núcleo arcuato ha sido estereotáxicamente destruido cuando el ritmo de los pulsos es excesivamente lento o excesivamente rápido (219, 224).

Los análogos agonistas de GnRH se unen a los receptores de GnRH y transmiten su señal, lo que se traduce en una intensa liberación de gonadotrofinas y, a su vez, en un incremento de la producción de esteroides gonadales (225, 226), efecto “*flare up*” que va seguido, de mantenerse la administración, de la desensibilización de las células gonadotropas hipofisarias, debido a la “*down regulation*” de los receptores de membrana (224). Así, se consigue un estado de hipogonadismo hipogonadotrópico farmacológico reversible sin afectar la secreción de otras hormonas pituitarias. La actividad espontánea pituitaria y gonadal retorna cuando se suspende la administración de GnRH.

Este tipo de mecanismo de acción, distinto al de los antagonistas, como se comentará más tarde, ha sido determinante para la utilización farmacológica de este tipo de compuestos en reproducción asistida.

### Utilización de los análogos agonistas de GnRH (GnRHa) en FIV

La acción de bloqueo hipofisario que se produce como consecuencia de la administración continua de GnRHa fue utilizada asociada a la estimulación ovárica para FIV. Inicialmente se hizo con el fin de evitar las cancelaciones del tratamiento que se hacían necesarias al producirse ovulaciones espontáneas por descarga endógena de gonadotrofinas en el curso de aquéllas o luteinizaciones prematuras, como consecuencia de la aparición de “picos” de LH (227, 228). No obstante, su uso permitió comprobar que los niveles circulantes de LH se mantienen suprimidos durante la estimulación y esto puede ofrecer ventajas adicionales y constituir una razón más para su empleo, sobre todo en pacientes afectas de SOP que son estimuladas para FIV(229).

El impacto del uso de los GnRHa en reproducción asistida justificó especial atención de la ESHRE, uno de cuyos grupos de trabajo hizo públicas las guías para su uso en el año 1987 (230).

Años más tarde se postuló que la elevación de LH que se observa en las pacientes afectas de SOP ejerce efectos adversos sobre los ovocitos obtenidos e incrementa el riesgo de aborto y que todo ello puede ser corregido, mejorando el pronóstico del tratamiento, mediante la administración de GnRHa(231).

Lo bien cierto es que la asociación de GnRHa a los protocolos de estimulación ovárica con gonadotrofinas (por razones obvias, no es posible su utilización cuando se estimula con citrato de clomifeno) marcó un antes y un después en el manejo clínico de las técnicas de reproducción asistida.



Hacer una revisión exhaustiva del empleo de los agonistas excedería los límites de este estudio y, por esta razón, tan sólo se tratara este tema en sus líneas más generales.

Como la neurohormona nativa, los agonistas de GnRH se han mostrado activos administrados por distintas vías, de forma que existen preparados de administración por vía nasal (232), subcutánea (233) e intramuscular (234). Del mismo modo, existen preparados de acción corta (235) y de acción prolongada (236).

Para su utilización en FIV, asociados a las gonadotrofinas, han sido descritos distintos protocolos: ultracorto(237), corto (226) y largo (235, 238), entre otros, siendo este último el más utilizado.

En general, se puede afirmar que el empleo de agonistas en protocolo largo tiene distintos efectos beneficiosos sobre los tratamientos de FIV, aunque aumenta la duración de la estimulación ovárica y las UI de gonadotrofinas necesarias para alcanzar la maduración folicular:

- Incremento del número de folículos preovulatorios
- Incremento del número de ovocitos en estadio metafase II
- Incremento del número de embriones a transferir
- Incremento de los porcentajes de implantación y gestación
- Disminución del porcentaje de aborto en determinadas patologías, como el SOP

- Incremento del riesgo de que se produzca un síndrome de hiperestimulación ovárica

Puede afirmarse que la incorporación de los agonistas de GnRH a los tratamientos de FIV ha supuesto un incremento de resultados favorables y ello puede, en parte, justificarse por la obtención de más ovocitos fecundables y, por ende, de disponer de mayor número de embriones para seleccionar los embriones a transferir pero esto no basta para justificar la optimización de resultados observada. Ha sido postulado que GnRHa podrían actuar a nivel del endometrio (239-241), mejorando su receptividad o favoreciendo la calidad biológica y la capacidad de implantación del embrión (242).

De particular interés ha sido el tratamiento con agonistas en casos de esterilidad asociada a endometriosis. En este contexto, ha sido defendido el uso prolongado de agonistas (durante tres a seis meses) antes de iniciar la estimulación con gonadotrofinas (243, 244).

#### *Efectos adversos de los agonistas de la GnRH*

Independientemente de todas las ventajas que la incorporación de los GnRHa ha supuesto para el tratamiento de la esterilidad mediante la aplicación de TRA, su empleo también ha supuesto la aparición de algunos efectos indeseables.

Los efectos hipoestrogénicos de los GnRHa se observan tras un tratamiento relativamente prolongado y es inusual en los programas de estimulación ovárica, en

los que también se administran gonadotrofinas. Se describen algunas alteraciones neurológicas transitorias que consisten en parestesias o cefaleas. La frecuencia es menor al 6% y el mecanismo exacto no se conoce.

La complicación más común es la aparición de quistes ováricos (14-29%) que son más frecuentes cuando se utilizan los protocolos cortos, sugiriendo que ocurren como resultado del “flare effect”, a pesar de que el mecanismo no se conoce. Se puede cancelar el tratamiento, ignorar la presencia del quiste y continuar con GnRHa hasta que el quiste desaparezca o drenarlo por vía transvaginal antes de la punción folicular o, si persiste, durante la misma(245). No afectan a los resultados del tratamiento con FIV/GIFT.

Hace algunos años, se consideró que el porcentaje de gestación múltiple se vio incrementada con el advenimiento de los GnRHa, probablemente porque la asociación de éstos a la estimulación ovárica mejoró la tasa de implantación. Sin embargo, en los últimos años, la limitación del número de embriones en la transferencia ha obviado este problema.

### *Síndrome de Hiperestimulación ovárica y aGnRH*

A pesar de la creencia de que el SHO sería menos frecuente con la supresión pituitaria con GnRHa, varios estudios mostraron que la incidencia de SHO tras la administración con GnRHa se hacía mayor (245, 246). Esto puede ser una consecuencia inevitable del aumento del porcentaje de embarazo, que se asocia con el SHO o una tendencia a utilizar dosis más altas de gonadotrofinas como consecuencia de la down-regulation mediada por los GnRHa. Alternativamente,

podría haber un efecto directo en el ovario mediado por los receptores de GnRH en las células de la granulosa.

De cualquier forma, es indudable que, cuando se asocian GnRH $\alpha$  a la estimulación ovárica con gonadotrofinas para estimular un desarrollo multifolicular para FIV, es necesario utilizar las gonadotrofinas con la prudencia necesaria para prevenir el riesgo de hiperestimulación, cancelar el tratamiento cuando se considera que se ha producido una situación de riesgo o recurrir a otras medidas preventivas como criopreservar los embriones y no transferirlos.

### **Utilización de los antagonistas de GnRH (GnRHant) en FIV**

Desde su introducción en 1962 (247), las gonadotropinas supusieron un enorme avance en el tratamiento de la esterilidad y concretamente en el de la estimulación ovárica en técnicas de reproducción asistida. Sin embargo, su uso tiene el inconveniente de que conlleva un aumento precoz en los niveles de estradiol, que puede conducir a elevaciones prematuras de LH y estos aumentos pueden condicionar, actuando sobre ovocitos inmaduros, un impacto negativo en la calidad de estos, descendiendo el porcentaje de fertilización y la calidad embrionaria (248). Puede también tener lugar un impacto negativo sobre la receptividad endometrial, llevando todo ello a un menor porcentaje de gestaciones. Por otra parte una descarga prematura de LH puede desencadenar la ruptura folicular antes de la punción en ciclos de FIV (249), dando lugar a porcentajes de cancelación que se han referido entre un 10 y un 30%.

Con el fin de evitar luteinización y ovulación precoces, los primeros fármacos introducidos en la práctica clínica en el campo de la reproducción asistida fueron los agonistas de GnRH a principios de los 80, como ha quedado expuesto. Con su utilización se consiguió una caída en el porcentaje de cancelaciones por luteinización o por ovulación precoz de cifras tan altas como el 20-25% a cifras tan bajas como las actuales del 1-2% (250). No obstante, el más eficaz protocolo de administración de los agonistas de GnRH es el protocolo largo, que hace la estimulación ovárica para FIV tediosa y prolongada y, además, incrementa las necesidades de gonadotrofinas y, con ello, el coste del tratamiento y no disminuye el riesgo de hiperestimulación ovárica (137).

Parecía, pues, aconsejable, poder disponer de fármacos capaces de bloquear la secreción de gonadotrofinas de forma inmediata (sin efecto “*flare up*”), tal como se consigue con el empleo de antagonistas de GnRH, lo que permite disminuir los niveles circulantes de gonadotrofinas una vez iniciada la estimulación, cuando aparece el riesgo de luteinización precoz o de descarga endógena de LH.

Los primeros antagonistas de la GnRH , aunque con fines distintos a los agonistas, se habían desarrollado e investigado de forma paralela a los agonistas (251). Sin embargo, los antagonistas tardaron más en tener una aplicación clínica práctica ya que los de primera y segunda generación producían importantes reacciones alérgicas debido a que, por degranulación mastocitaria en el momento del contacto con la dermis, se producía una intensa liberación de histamina (252); además eran de escasa potencia y se requerían altas dosis, eran altamente hidrófobos y propensos a gelificar después de su administración. Todo ello impidió su uso clínico durante muchos años.

A mediados de los 90 una tercera generación de antagonistas no liberadores de histamina (Ganirelix®, Orgalutrán®, Laboratorios Organón, Barcelona y Cetorelix®, Cetrotide®, Laboratorios Serono, Madrid), se encontró disponible para la investigación clínica. En 1999, se aprobó su utilización para la prevención del pico prematuro de LH en pacientes tratadas mediante estimulación ovárica para TRA (no para otras aplicaciones). En España fueron comercializados en el año 2001. Desde entonces hasta la fecha Cetorelix® y Ganirelix® han sido utilizados en miles de ciclos no habiéndose descrito reacciones alérgicas importantes; es más han tenido una excelente tolerabilidad local y general.

#### *Estructura y mecanismo de acción*

En la actualidad los únicos utilizados son los de tercera generación, cuyos exponentes más representativos son el Cetorelix® y el Ganirelix®. El Cetorelix® fue sintetizado en la Universidad de Tulane en 1990 (253) y es el resultado de una modificación a la secuencia nativa de LHRH mediante la inclusión de 5 aminoácidos en las posiciones 1, 2, 3, 6, y 10 en el caso del Cetorelix®. Ganirelix® es el resultado de una inclusión adicional en la posición 8. Los aminoácidos incluidos están en una configuración no-D (Tabla 3). Los grupos terminales amino y acetil dan estabilidad a la molécula y son mandatorios para completar la actividad antagonista; además, confieren una estabilidad elevada con resistencia a las endopeptidasas, y aumentan su afinidad por la unión al receptor, no produciendo fenómenos marcados de liberación de histamina. Hay una tendencia a la agregación y a la formación de gel, así como a los fenómenos de absorción en general, los cuales fueron reducidos manejando el péptido en una solución acuosa para transferirlo antes de la

liofilización (254). El mecanismo de acción de la GnRH se debe a su unión a receptores específicos en la célula gonadotropa de la hipófisis, lo que se traduce en la producción de varios mensajeros secundarios intracelulares, los cuales provocan la salida de los gránulos de gonadotropinas, en forma de pulsos. Como ya hemos comentado, los primeros antagonistas de la GnRH, se habían desarrollado e investigado de forma paralela a los agonistas. Muy pronto se comprobó que su mecanismo de acción para suprimir la liberación de gonadotropinas era muy diferente.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
LHRH	Glu	His	Trp	Ser	Tyr	Gly	Leu	Arg	Pro	Gly-NH <sub>2</sub>
Cetrorelix	AcD-Nal	D-Phe	D-Pal	Ser	Tyr	D-Cit	Leu	Arg	Pro	D-Als-NH <sub>2</sub>
Ganirelix	AcD-Nal	D-Phe	D-Pal	Ser	Tyr	D-hArg	Leu	Arg	Pro	D-Als-NH <sub>2</sub>
Nal-Glu	AcD-Nal	D-Phe	D-Pal	Ser	Arg	D-Glu	Leu	Arg	Pro	D-Als-NH <sub>2</sub>
Antide	AcD-Nal	D-Phe	D-Pal	Ser	NicLys	D-NicLys	Leu	Lys	Pro	D-Als-NH <sub>2</sub>
Azaline B	AcD-Nal	D-Phe	D-Pal	Ser	D-Phe	D-Phe	Leu	Lys	Pro	D-Als-NH <sub>2</sub>
Antarelix	AcD-Nal	D-Phe	D-Pal	Ser	D-Heit	D-Heit	Leu	Lys	Pro	D-Als-NH <sub>2</sub>

Tabla 3 Análogos antagonistas de la GnRH

Los antagonistas consiguen la supresión hipofisaria por su unión al receptor de forma competitiva (compiten con GnRH nativa y con agonistas), bloqueando el receptor de forma casi inmediata (2-4 h), y dosis dependiente en cuanto al tiempo de acción (a mayor dosis mayor tiempo de actuación), con la ventaja de que este efecto supresor del antagonista puede ser revertido de forma inmediata por la administración de agonista, dando lugar a un pico endógeno de LH y FSH (163, 255). Con la administración de antagonistas se consigue en horas el efecto supresor que los agonistas tardan en conseguir de 12 a 20 días.

#### *Pautas de administración*

El fundamento de las pautas de administración de los antagonistas de GnRH está basado en su mecanismo de acción, competitivo (es decir, se unen al receptor pero no transmiten la señal) y en su biodisponibilidad ya que el tiempo de acción de estos fármacos es dependiente de la dosis administrada.

Existen dos protocolos básicos de administración de los antagonistas en función de la dosis utilizada: el protocolo multidosis y el protocolo monodosis. El primero consiste en la administración diaria de dosis bajas de antagonista, a partir del momento en que se hace aconsejable inhibir la liberación de LH. El segundo consiste en la administración de una dosis elevada de antagonista, de forma que la inhibición gonadotropa se mantenga durante varios días.

En la década de los 90 fueron realizados una serie de trabajos de investigación dedicados a determinar las dosis eficaces y demostrar la eficacia de las mismas (254, 256). Cabe destacar los resultados obtenidos por Albano y cols, autores que utilizaron dosis diarias de 0,1 mg, 0,25 mg y 0,5 mg; observaron tan solo un pico de LH con aumento de los niveles de progesterona con la dosis de 0,1

---



mg/día. Estos autores concluyeron que la dosis diaria eficaz es la de 0,25 mg/día (9): se observó que con dosis entre 0,06 y 2 mg. de Cetrorelix® el número de folículos, ovocitos, el porcentaje de fecundación y embriones permanecían sin cambios. Por debajo de 0,125 aumentaban los picos de LH, y por encima de 0,5 mg disminuían los porcentajes de embarazo. Se llegó finalmente a la conclusión de que la dosis mínima eficaz era de 0,25 mg/día, con la que se conseguía un 37% de embarazos por transferencia (23/62)

Con el protocolo multidosis, se hace el control basal el día 3 del ciclo, y se comienza la estimulación con los mismos criterios que en el protocolo largo de agonista, pero, habitualmente, con dosis ligeramente inferiores de gonadotrofinas exógenas, ya que las endógenas no han sido suprimidas, y su acción se suma a la de las administradas. Utilizando este tipo de protocolo se administran 0,25 mg por vía subcutánea con intervalos de 24 horas hasta la administración de hCG (257). El inicio de la administración de antagonista depende, como se describe más abajo, de que se utilice un esquema fijo o flexible.

Otros estudios multicéntricos permitieron concluir que una dosis de 3 mg mantiene su efecto de bloqueo hipofisario durante 4 días, lo que permite disminuir el número de inyecciones, haciendo el tratamiento más confortable, sin que se observen efectos adversos (258). Con este tipo de protocolo se procede como ha sido descrito en el párrafo anterior y, si la administración de hCG no se produce durante el periodo de inhibición hipofisaria, se continúa con dosis diarias de 0,25 mg hasta completar la estimulación.

Por otra parte, en función del momento en que se inicia la administración del antagonista, existen dos tipos de pauta: la pauta fija y la pauta variable o flexible.

Aunque en la ficha técnica de administración del producto dice que el comienzo de la administración del antagonista es a partir del sexto día del ciclo, parece más razonable flexibilizar el inicio de la administración. El inicio de la administración del antagonista puede ser indicado de una de dos formas, como analizaron Ludwig y cols en un estudio prospectivo y randomizado (259):

- En día fijo: suele indicarse el inicio en el sexto día de la estimulación
- En día variable: en el día en que se observa la presencia de, al menos, un folículo de 14 mm de diámetro o niveles circulantes de estradiol de 400 pg/mL o mayores.

La administración del antagonista debe ser mantenida hasta el mismo día de la administración de hCG, que se indica con los criterios habituales (tres o más folículos de 18-19 mm de diámetro). Prolongar la fase folicular cuando se ha alcanzado la maduración folicular conduce a la obtención de peores resultados (260).

En un meta-análisis, realizado por Al -Inanny en el año 2005 (261), que recoge 11 estudios en el que se comparó un protocolo de administración de antagonista en día fijo de estimulación, frente al protocolo flexible de administración en dependencia a la respuesta ovárica a la estimulación, no se obtuvo diferencias estadísticamente significativas en cuanto a tasa de gestación aunque se observó una tendencia a favor del protocolo fijo, sobre todo si se retrasa al día 8 (OR: 0,7; IC95% 0,45-1,1) También concluye que existe una diferencia estadísticamente significativa en el consumo de FSH a favor del protocolo flexible (OR: 95,5; IC95%: 74,8-116,1)

En cualquier caso, la punción folicular para la obtención de ovocitos debe ser programada con los criterios habituales, es decir, 36 horas después de la administración de hCG.

### *Uso de antagonistas en altas respondedoras*

En un trabajo de Hugues (262) se comunicó una prevalencia de Síndrome de Hiperestimulación ovárica (SHO) global en todas las técnicas de TRA de un 0.2-1% con una mortalidad estimada de 1/45.000. Si se consideran sólo los ciclos de FIV la incidencia sube al 0.6-14% que han concluido en más de 10 muertes y miles de casos hospitalizados.

Ya desde los primeros estudios de antagonistas en fase III Olivenes y cols comunicaron unos índices de hiperestimulación inferiores con antagonista frente a protocolo largo de agonistas (263). En el mismo sentido, considerando los 3 grandes estudios multicéntricos antes citados, se constató una incidencia menor de SHO en ciclos de antagonista (2.4%) comparados con los ciclos de agonista en protocolo largo (5.9%). En una revisión de Cochrane, Al-Inani y cols (264) señalaron que no solo la prevalencia del síndrome de hiperestimulación ovárica es significativamente menor cuando se utilizan antagonistas sino que, además, los cambios para evitarlo también son significativamente menos frecuentes. Similares observaciones habían sido comunicadas por Ludwig (265) al comparar ciclos con carotidea (1,1%) con agonistas en pauta larga (6.5%). Estos hallazgos concuerdan con los previamente observados por Albano y cols (266) y Cardona y cols (267).

Estos resultados parecen lógicos ya que prácticamente todas las publicaciones refieren menor número de folículos, sobre todo pequeños, ovocitos, y

menores niveles de estradiol, factores todos ellos que aumentan el riesgo de SHO. Por otra parte Devine y cols (268) evidenciaron que los antagonistas dan buenos resultados cuando se aplica la administración diferida de hCG o “coasting” para prevenir el riesgo de SHO.

Debido a su mecanismo de acción competitivo, como ha sido señalado, los antagonistas permiten una reversibilidad inmediata del efecto supresor con una dosis única de agonista. Esto tiene la gran ventaja de permitir inducir un pico endógeno de LH, para la inducción de la ovulación y la maduración final de los ovocitos (163).

Al tener una acción menos potente y una vida más corta, la LH endógena provoca menos hiperestimulaciones que la hCG que tiene un efecto lúteo trópico prolongado, caracterizado por la aparición de múltiples cuerpos lúteos y niveles suprafisiológicos de estradiol y progesterona (269). Las dosis de Agonista empleado para desencadenar el pico de gonadotropinas varía entre 200 y 500 microgramos.

Distintos autores, como Emperrare y cols (270) e Itskovitz-Eldor y cols (271) han utilizado este tipo de tratamiento, sin observar casos de SHO. No obstante Van der Meer y cols (272) publicó 3 casos de hiperestimulación a pesar de haber administrado agonistas para desencadenar el pico endógeno de LH; no obstante, hay que señalar que se trató de casos leves o moderados.

A juzgar por la literatura, los porcentajes de recuperación de ovocitos y los porcentajes de gestación son algo menores induciendo un pico endógeno de gonadotropinas con agonistas de GnRH que administrando hCG(152). Teóricamente, la elevación simultánea de LH y FSH podría considerarse más fisiológica y la corta duración de la acción de LH podría suponer una ventaja en cuanto a la disminución del riesgo de SHO aunque, por esta misma razón, la fase lútea podría verse

---

comprometida. En cualquier caso, ninguno de los trabajos publicados a este respecto son prospectivos y bien randomizados por lo que las conclusiones no pueden ser definitivas. Otras estrategias para disminuir el riesgo de síndrome de hiperestimulación ovárica como coasting o la criopresevación de los embriones para ser transferidos en otro ciclo también se ha realizado(268).

## Fundamentos para el uso de antagonistas desde el inicio del ciclo menstrual

Durante años la industria farmacéutica se ha interesado en el desarrollo de análogos mejor tolerados por las pacientes con un inicio de acción inmediato. En los primeros 2000, la introducción de los antagonistas de GnRH en FIV, se completó con cinco grandes ensayos clínicos prospectivos, controlados y randomizados que comparaban los resultados obtenidos tras la estimulación multifolicular para FIV bajo bloqueo hipofisario con antagonistas de GnRH con los obtenidos con agonistas en protocolo largo. El meta-análisis de aquellos estudios mostró en el grupo de los antagonistas, menores requerimientos de gonadotropinas, una reducción en la duración de la estimulación y una dramática reducción en la duración del tratamiento con análogos (273).

Además, una tendencia en la disminución del riesgo de hiperestimulación ovárica sugiere que esta forma de tratamiento debe ser valorada en aquellas pacientes con riesgo alto de padecer un síndrome de hiperestimulación ovárica, como las mujeres que presentan un SOP.

Sin embargo, un porcentaje de gestación significativamente inferior (3 a 5%) respecto a los ciclos en que se utiliza agonistas ha ocasionado una baja aceptación de los antagonistas de GnRH en los protocolos de estimulación ovárica para FIV (152, 274) y ha estimulado la investigación para optimizar los protocolos existentes de antagonistas de GnRH(152, 167).

El uso de la gonadotropinas en mujeres afectas de SOP se ha asociado a diferentes problemas, debido a que estas pacientes son muy sensibles a la estimulación con aquéllas, lo que hace de ellas pacientes de riesgo elevado para

---

desarrollar un síndrome de hiperestimulación ovárica. En pacientes con SOP resistentes al tratamiento con clomifeno, el tratamiento con gonadotropinas resulta en una disminución de las tasas de ovulación y de gestación, comparado con aquellas pacientes con amenorrea hipotalámica (275). Complicaciones tardías del uso de gonadotropinas atribuibles a las altas concentraciones de en suero de LH incluyen hiperestimulación, gestación múltiple y cancelación de ciclo (276). Otros problemas incluyen luteinización prematura, bajas porcentajes de gestación (10-20%) y altos porcentajes de aborto (35%).

Uno de los parámetros actuales de estudio respecto a la utilización de los antagonistas de la GnRH, se refiere al momento de inicio de los antagonistas. Se ha usado un protocolo fijo, comenzando el día 6 de estimulación en todos los ensayos comparativos iniciales para prevenir el aumento de LH, que se observa en la fase folicular media (273). Siguiendo estos estudios, se evaluó un protocolo de inicio del antagonista cuando el diámetro folicular fuera 14 ó 15 mm; aunque se ha señalado algunas ventajas a este inicio flexible del antagonista después del día 5 de estímulo (259) parece no mejorar los porcentajes de gestación (277).

La investigación de protocolos alternativos de antagonistas de GnRH, se ha encaminado hacia un inicio anterior al día 6 de estímulo (167, 168, 278). Estos estudios se apoyan en las observaciones que la expresión de los receptores de LH en las células granulosa es más precoz en las mujeres con fenotipo SOP (23) habiéndose evidenciado que la exposición del ovocito a niveles altos de estradiol y LH en la fase folicular temprana, se asocian negativamente a la probabilidad de gestación(166).

El inicio de los antagonistas en la fase folicular precoz en pacientes con SOP ha sido desarrollado en un estudio no comparativo de inseminación intrauterina (278), en el que se comenzó a utilizar concomitantemente a la estimulación con gonadotropinas. Fue comunicado que ovularon todas las pacientes incluidas en el estudio, obteniéndose unos buenos porcentajes de gestación (44%) y embarazo evolutivo (28%). También se ha utilizado el uso precoz de los antagonistas en otro estudio de FIV, donde los antagonistas comenzaron un día después de la administración de gonadotropinas usando como control un agonista en protocolo largo, obteniéndose porcentajes de gestación similares en ambos grupos (168).



### **Estudio coste efectividad**

Los tratamientos de FIV/ICSI suponen un gran dispendio de recursos económicos, lo que ha supuesto un debate permanente sobre la necesidad de sufragar dichos costes mediante el sistema nacional de salud.(279, 280)

Diversos estudios han intentado evaluar el coste de estos tratamientos (281, 282), pero pocos lo han hecho en pacientes diagnosticadas de síndrome de ovarios poliquísticos,. Estos estudios no valoran aspectos clínicos particulares del manejo de los ciclos de estas pacientes que pueden suponer un alto coste adicional como son las cancelaciones del ciclo por riesgo de hiperestimulación, ingresos hospitalarios por hiperestimulación ovárica grave, la prematuridad o la gestación múltiple. (283)



## **Capítulo II HIPÓTESIS DE TRABAJO Y OBJETIVOS**

---

**2009**

Optimización de los protocolos de hiperestimulación ovárica controlada para FIV/ICSI en pacientes diagnosticadas de síndrome de ovarios poliquísticos

---

### Hipótesis de trabajo

De cuanto ha sido expuesto en relación con el SOP (etiología y fisiopatología, manejo en FIV y resultados obtenidos) puede resumirse como las premisas más importantes:

- El SOP se caracteriza, entre otras cosas, por una androgenización excesiva y por la precoz adquisición de su fenotipo maduro por las células granulosas, que expresan precozmente los receptores de LH.
- Las mujeres que presentan un SOP muestran una elevada sensibilidad a las gonadotrofinas exógenas y ello tiene como consecuencia que exista un estrecho margen entre el dintel de sensibilidad y el nivel de riesgo para la hiperestimulación
- Las mujeres SOP desarrollan mayor número de folículos que las mujeres de función ovárica normal
- El manejo de la estimulación ovárica de las mujeres SOP para FIV requiere especial atención. Estas pacientes reclutan numerosos folículos que maduran mal. Debe conseguirse la maduración del mayor número posible de folículos y debe evitarse el riesgo de que se desarrolle, tras la transferencia embrionaria, un síndrome de hiperestimulación ovárica.
- Disminuir los niveles circulantes de LH durante la estimulación puede mejorar la maduración folicular y contribuir a una menor androgenización de los folículos en desarrollo. En este sentido, la acción de los antagonistas parece ser más eficaz que la de los agonistas.

Con estas premisas, se construyó la siguiente hipótesis de trabajo:

- La administración coadyuvante de antagonistas de GnRH desde el inicio de la estimulación gonadotropa debe disminuir el riesgo de hiperestimulación en mujeres SOP estimuladas con FSHr para FIV, sin disminuir la eficacia del tratamiento en términos de porcentajes de gestación y recién nacido vivo.
- El uso de antagonistas para el bloqueo hipofisario en mujeres SOP estimuladas con FSHr para FIV debe mejorar la eficiencia, en relación al uso de agonistas de GnRH en protocolo largo.

### Objetivos

#### Objetivo principal

Comprobar la eficacia y seguridad de la estimulación con FSHr bajo bloqueo gonadotropo hipofisario por administración de una antagonista de GnRH (Ganirelix®, Laboratorio Organón, Barcelona), iniciando ésta al comienzo del ciclo menstrual, simultáneamente a la administración de FSHr en un grupo de estudio formado por mujeres estériles diagnosticadas de SOP.

#### Objetivos secundarios

1. Comparar los resultados obtenidos en el grupo de estudio con un grupo similar en el que la FIV sea realizada tras estimulación ovárica con FSHr bajo bloqueo gonadotropo hipofisario por administración de un agonista de GnRH en protocolo largo (grupo de control), en términos de tasa de gestación, tasa de implantación y tasa de recién nacido vivo y sano.
2. Comparar la tasa de cancelación por riesgo de hiperestimulación ovárica y prevalencia del síndrome de hiperestimulación ovárica en cada uno de los grupos antes mencionados.
3. Comparar la calidad de ovocitos y embriones obtenidos en cada uno de los grupos.
4. Comparar el coste-efectividad de los ciclos y el coste total de niño a término sano en cada uno de los grupos.

Expresado en otros términos el análisis de los resultados debe contestar a las siguientes preguntas:

- ¿Proporciona el protocolo de estimulación propuesto (administración de un antagonista de GnRH desde el inicio de la estimulación ovárica asociado a FSHr) resultados eficaces, en términos de tasas de gestación e implantación?
- ¿Reúne este mismo protocolo las necesarias condiciones de seguridad tanto para el nacido como para la madre?
- ¿Resulta este protocolo eficaz para la prevención del síndrome de hiperestimulación ovárica?
- ¿Muestra este protocolo alguna ventaja en términos de coste/beneficio?



## Capítulo III MATERIAL Y MÉTODOS

---



## Diseño

Estudio de longitudinal prospectivo, no randomizado, de 3 años de duración (enero de 2004 a enero de 2007). El análisis pretende una comparación de no inferioridad entre grupos de tratamiento.

## Ámbito

Unidad de referencia de reproducción humana asistida de hospital universitario: Unidad de Reproducción Asistida del Hospital Universitario La Fe.

## Muestra (Pacientes)

Fueron incluidas 278 parejas estériles que cumplían los criterios habituales del centro para tratamiento mediante fecundación in vitro (clásica o ICSI). Tomando como referencia los resultados obtenidos en la tasa de cancelación por riesgo de hiperestimulación en el presente estudio, se calculó la potencia de estadística del estudio para un nivel de confianza del 95%, mediante el programa Epidat 3.1, cuyo resultado fue 81,126%.

Con estos resultados se calculó el tamaño muestra necesario para una potencia del 80% con una razón expuestos/no expuestos de 1,26, similar a la del estudio y fue tamaño en el grupo Antagonistas 99 pacientes, tamaño en el grupo Agonistas 125 pacientes

Todas las mujeres que constituían estas parejas habían sido diagnosticadas de SOP. El diagnóstico del síndrome de ovarios poliquísticos se estableció, de acuerdo con los criterios de Rotterdam, consensuados en la reunión conjunta de la ESHRE

(European Society for Human Reproduction) y la ASRM (American Society of Reproductive Medicine), que ya fueron citados, cuando están presentes al menos dos de estos hallazgos:

- Oligo-ovulación o anovulación crónica. En este estudio se consideró un ciclo anovulador cuando los niveles circulantes de progesterona en fase supuestamente lútea fueron inferiores a 4 ng/ml. Independientemente de ello, la manifestación clínica de este trastorno de la función ovárica fueron periodos intermenstruales que oscilaron entre los 45 días y la amenorrea.
- Hiperandrogenismo clínico o bioquímico. El hiperandrogenismo clínico se evaluó mediante los criterios de Ferriman-Gallwey, considerando su existencia con un índice superior a 8; el hiperandrogenismo biológico cuando el nivel circulante de testosterona libre fue superior a 5 ng/dL.
- Ovarios poliquísticos en la ecografía. Se exigió alguno de estos dos criterios: presencia de 12 o más folículos de 2 a 9 mm de diámetro en cada ovario o volumen ovárico superior a 10 cm<sup>3</sup>.
- Exclusión de otras enfermedades o síndromes que puedan cursar con anovulación o hiperandrogenismo, como síndrome de Cushing, hiperprolactinemia, hiperplasia suprarrenal, disfunciones tiroideas, tumores androgenizantes, entre otras causas.

### Criterios de inclusión

Independientemente del diagnóstico de SOP, las parejas incluidas en el presente estudio debían cumplir determinados criterios de inclusión:

- Edad de las mujeres comprendida entre 18 y 39 años

- Niveles de FSH inferiores a 15 UI/L en el tercer día del ciclo menstrual de la mujer
- Útero y cavidad uterina considerados adecuados para la práctica de la FIV y albergar una gestación, una vez valorados mediante ecografía, histerosalpingografía, histeroscopia o laparoscopia, en dependencia del caso.
- Firma por ambos miembros del consentimiento informado

### Criterios de exclusión

Así mismo, fueron aplicados determinados criterios de exclusión:

- Índice de masa corporal de la mujer igual o superior a 35 Kg/m<sup>2</sup>
- Enfermedad general o sistémica que represente una contraindicación para la práctica de una FIV o para la gestación
- Uso de medicación incompatible con la práctica de una FIV o el embarazo
- Presencia en la mujer de seropositividad a HIV o carga viral VHC positiva
- Presencia de alteraciones cromosómicas o genéticas transmisibles en alguno de los dos miembros de la pareja
- Hijos con la pareja actual

Estas parejas fueron divididas en dos grupos en función del fármaco que se utilizó para la supresión hipofisaria de gonadotropinas:

- Grupo Antagonista: 123 pacientes en las que se utilizó Ganirelix (Orgalutrán®. Laboratorios Organón. Barcelona) a dosis de 0,25 mg/día a

partir del primer día en que comienza la hiperestimulación ovárica controlada, día 2º o 3º del ciclo.

- Grupo Agonista 155 pacientes en las que se utilizó como fármaco supresor Nafarelina (Synarel®. Laboratorios Seid. Barcelona) en pulverizaciones intranasales de 200 microgramos por pulverización dos veces al día, desde el día 22 del ciclo previo.

En ambos grupos, la administración tanto de Ganirelix como de Nafarelina se mantuvo a dosis constantes hasta el día de la administración de la hCG. El estudio incluyó todas las pacientes susceptibles de ser incluidas.

## Definición de las variables de resultados

A continuación se describen resumidamente las variables analizadas en este estudio.

Variable Descripción

Edad Paciente	Edad de la paciente en años en el momento de comenzar el ciclo de estimulación ovárica controlada
Edad Pareja	Edad de la pareja en años en el momento de comenzar el ciclo de estimulación ovárica controlada.
Años de esterilidad	Años que intenta la pareja gestar
Índice de masa Corporal (IMC)	Peso (Kg)/ talla (m) <sup>2</sup>
Seminograma	Características del semen de las pacientes según criterios de la OMS
Días de estímulo	Días desde que comienza a administrarse FSH exógena (Folitorpina $\alpha$ ) hasta el día de hCG
Dosis total FSH consumida	Dosis total de FSH (Folitorpina $\beta$ , Puregón, Laboratorios Organón, Barcelona) en UI, consumida durante el ciclo.
Estradiol día -2	Determinación de los niveles de estradiol en sangre en pg/ml, medido dos días antes de la punción folicular
Estradiol día 0	Determinación de los niveles de estradiol en sangre en pg/ml, medido el día de la punción folicular
Estradiol día +2	Determinación de los niveles de estradiol en sangre en pg/ml, medido dos días después de la punción folicular
Progesterona día 0	Determinación de los niveles de progesterona en sangre en ng/ml, medido el día de la punción folicular
Progesterona día +2	Determinación de los niveles de progesterona en sangre en

	ng/ml, medido el dos días después de la punción folicular
Espesor de la línea endometrial	Espesor de la línea endometrial medido en mm el día de la administración de hCG.
Cancelación ciclo por riesgo de hiperestimulación	Número de ciclos cancelados por riesgo de hiperestimulación, según criterios descritos en el apartado Criterios de cancelación.
Cancelación del ciclo por falta de respuesta	Número de ciclos cancelados por riesgo de hiperestimulación, según criterios descritos en el apartado Criterios de cancelación.
Folículos preovulatorio el día hCG	Número de folículos >16 mm de diámetro el día de la administración de hCG
Diámetro del folículo mayor	Diámetro del folículo mayor en mm el día de la administración de hCG
Número de ovocitos obtenidos	Número de ovocitos obtenidos tras la punción folicular
Ovocitos metafase II	Número de ovocitos Metafase II obtenidos tras la punción folicular.
Tasa Fecundación FIV	Número de ovocitos fecundados mediante técnica de FIV/ total de ovocitos sometidos a FIV, expresado en porcentaje
Tasa fecundación ICSI	Número de ovocitos fecundados mediante técnica de ICSI/ total de ovocitos sometidos a ICSI, expresado en porcentaje
Ciclos no transferidos	Número de ciclos puncionados en los que no se realiza transferencia por causa de fallo de fecundación embrionaria o por anomalías en el desarrollo embrionario.
Ciclos transferidos	Número de ciclos en los que se realizó la transferencia de al menos un embrión.



Preembriones transferidos por paciente	Número de preembriones transferidos por paciente
Número total de preembriones transferidos	Número total de preembriones transferidos
Calidad de los preembriones transferidos	Número de embriones transferidos según los criterios de calidad embrionaria de ASEBIR
Calidad embrionaria en relación a la gestación	Número de embriones de al menos calidad A de ASEBIR transferidos en relación a la gestación.
Gestación	Número de gestaciones clínicas, diagnosticadas mediante la presencia de al menos un saco gestacional con embrión y latido fetal + observado por ecografía vaginal.
Implantación	Número de sacos / número de embriones transferidos, en porcentaje
Aborto	Número de gestaciones detenidas/ número total de sacos embrionarios, en porcentaje
Gestación múltiple	Número de gestaciones con al menos dos sacos gestacionales/ número total de sacos, en porcentaje
Recién nacido	Número de recién nacidos vivos/ número total de ciclos iniciados, en porcentaje.
Recién nacido sano a término	Número de recién nacidos sanos >37 semanas de gestación, más de 2500g de peso y sin malformaciones congénitas / número de ciclos iniciados, en porcentaje.
Prematuro	Número de recién nacidos vivos < 37 semanas / número de ciclos iniciados
Síndrome de	Número de casos con diagnóstico de síndrome de

hiperestimulación ovárica	hiperestimulación leve, moderada y grave que requirieron asistencia hospitalaria.
Coste tratamiento supresor hipofisario	Coste del tratamiento supresor hipofisario en euros, calculado como coste medio por la dosis, multiplicado por el número de dosis
Coste global del tratamiento	Coste en euros calculado como la suma de los costes del estudio básico de esterilidad, visitas hospitalarias, ecografías realizadas, determinaciones de estradiol, tratamiento supresor de la hipófisis, técnica de FIV/ICSI, punción y transferencia embrionaria, estancias hospitalarias por hiperestimulación, Cesareas, IVE, Recién nacido sin complicaciones, Neonato de extrema inmadurez.
Costes por niño sano a término	Coste global en euros del tratamiento/ niño recién nacido sano a término

Tabla 4 Descripción de las variables de resultados

## Intervenciones

El manejo clínico de todas las pacientes, tanto en los aspectos médicos como biológicos, se llevó a cabo de acuerdo con los criterios y protocolos de conducta habituales del centro.

### Hiperestimulación ovárica controlada

El objetivo de la estimulación fue la obtención de al menos tres folículos preovulatorios (17 o más milímetros de diámetro medio), evitando el riesgo de hiperestimulación (desarrollo de 20 o más folículos o niveles circulantes de estradiol superiores a 3.500 pg/mL).

En todos los casos de ambos grupos se inició con la administración de 100-150 UI diarias de FSH recombinante (FSHr) (Folotropina  $\beta$ , Puregon®, Laboratorios Organón, Barcelona) el segundo día del ciclo menstrual, realizándose el primer control de la respuesta ovárica al quinto día de tratamiento, mediante determinación del nivel circulante de estradiol y la realización de una ecografía vaginal. A partir de este momento, la dosis diaria de gonadotrofinas pudo incrementarse o disminuirse, en función de la respuesta ovárica, controlándose la misma cada 24 ó 48 horas (nivel circulante de estradiol y ecografía vaginal) hasta la administración de hCG.

Las determinaciones del nivel de estradiol se realizaron en suero por enzimoimmunoanálisis, mediante tomas de sangre practicadas de 08:00 a 09:00 horas. El resultado obtenido se utilizó, junto con los hallazgos ecográficos, para decidir el tratamiento a seguir.

En la ecografía vaginal se hizo el recuento total de folículos, clasificándolos en: menores de 10 mm, entre 10 y 16 mm y > de 16mm. Por otra parte, fueron valorados el espesor y la textura del endometrio.

Además del tratamiento estimulador con gonadotrofinas, las pacientes de ambos grupos recibieron tratamiento destinado a inhibir la secreción de gonadotrofinas endógenas.

Uno de los grupos (grupo agonista) recibió un agonista de GnRH (Nafarelina; Synarel®, Laboratorios SEID, Barcelona) por vía intranasal en protocolo largo; el Synarel® se administró a dosis de 200 mg cada 12 horas desde el día 22 del ciclo precedente hasta el inicio de la estimulación y a dosis de 100 mg cada 12 horas desde el inicio de la estimulación hasta la administración de hCG.

El otro de los grupos (grupo antagonista) recibió un antagonista de GnRH (Ganirelix; Orgalutrán®, Laboratorios Organón, Barcelona) a dosis de 0,25 mg/día desde el día 2 del ciclo, día en que se inició el estímulo con gonadotrofinas, hasta el día en que se administró hCG.

Alcanzada la situación en que se consideró que el desarrollo folicular era adecuado, se administró una dosis única de 250 µg de hCG recombinante (Ovitrelle®, Laboratorios Serono, Madrid) para inducir la maduración final del ovocito.

#### *Criterios para la administración de hCG*

Se indicó la administración de hCG cuando, sin existir riesgo de hiperestimulación ni otro tipo de contraindicaciones, se observó la presencia de tres o más folículos de 17 o más mm de diámetro medio.

### *Crterios de cancelación*

La estimulación ovárica fue cancelada cuando se observó la existencia de riesgo de que se produjera un síndrome de hiperestimulación ovárica y ello cuando se observó la presencia de 25 o más folículos en desarrollo o niveles de estradiol superiores a 3.500 pg/mL. Este hecho se produjo, en ocasiones, en un momento del tratamiento que permitió administrar la hCG tras 48 horas sin gonadotrofinas (“coasting”).

La cancelación de la estimulación pudo también realizarse por falta de respuesta al estímulo o, accidentalmente, por razones ajenas al desarrollo del tratamiento.

### **Punción aspiración folicular (recuperación de ovocitos)**

La recuperación de los ovocitos se produjo 36 horas después de la administración de la hCG, en quirófano, mediante punción-aspiración transvaginal guiada por ecografía con agujas de calibre 17G y bajo anestesia general de la paciente.

### **Cultivo y fecundación de los ovocitos**

Los ovocitos obtenidos fueron trasladados al laboratorio donde se procedió a la catalogación de cada uno de ellos, en función de su estadio nuclear, en metafase II (M II), metafase I (M I), profase (P I), atrésico (A) o zona rota (ZR). En ocasiones, no pudo ser determinado el estadio nuclear y se procedió a catalogarlos en función

del aspecto de su complejo ovocito-corona-cúmulo en tipo I (suele corresponder a M II o M Im), tipo II (suele corresponder a M Ii) y tipo III (suele corresponder a P I).

Los ovocitos atrésicos o con la zona fracturada fueron desechados y los ovocitos inmaduros (M I y P I) fueron mantenidos en cultivo hasta su maduración o eliminación, para ser inseminados (FIV clásica) o microinyectados (ICSI) en caso favorable.

Todos los ovocitos en estadio M II fueron inseminados o microinyectados, en función de las características de la muestra seminal proporcionada ese mismo día. Se practicó una ICSI cuando el REM fue menor de 10 millones o la motilidad en fresco menor de 15%, cuando había antecedentes de fallo de fecundación y cuando sólo se dispuso de uno o dos ovocitos fecundables (M II). En el resto de los casos se practicó una FIV clásica.

En la FIV clásica, los espermatozoides previamente capacitados y en número aproximado de 100.000 se pusieron en contacto con los ovocitos colocados en la placa de Petri unas 2 horas después de la recuperación.

Para la práctica de la ICSI, se desnudó los ovocitos M II de las células del cúmulo, introduciéndolos en una solución de hialuronidasa y se les microinyectó un espermatozoide previamente capacitado.

Aproximadamente a las 17 horas de la inseminación o microinyección, fue valorada la fecundación, en función de la presencia o no de dos pronúcleos. Los preembriones existentes fueron mantenidos en cultivo hasta su transferencia o criopreservación.

### **Transferencia de preembriones**

Los preembriones existentes fueron clasificados según el número de sus blastómeras y su grado de fragmentación, de acuerdo con los criterios de Veeck, a las 36 o, en su caso, a las 60 horas de su FIV o ICSI (2º o 3º día). La clasificación utilizada ha sido, posteriormente, reconsiderada en función de los criterios de calidad embrionaria de ASEBIR (Asociación para el Estudio de la Biología de la Reproducción) en los cuatro grupos A,B,C y D, definidos en el año 2007 en Zaragoza.

Cuando se dispuso de varios preembriones, los dos considerados de mayor calidad morfológica y más adecuada cronobiología fueron seleccionados para ser transferidos; el resto fue cultivado hasta el estadio de blastocisto para ser criopreservado, en caso de evolución favorable.

La transferencia de preembriones se produjo a las 48 ó 72 horas de la punción folicular. Se transfirió entre 1 y 3 preembriones en función de las características del embrión y la edad de la paciente y, obviamente, de la disponibilidad de los mismos.

La transferencia fue intrauterina en todos los casos y se realizó mediante un catéter de Cook bajo control ecográfico.

### **Fase lútea**

Se apoyó la fase lútea mediante la administración de comprimidos de progesterona natural micronizada (Progeffik®, Laboratorios Effik; Utrogestán®, Laboratorios SEID) por vía vaginal a dosis de 400 mg/día. Se determinó los niveles en sangre de estradiol y progesterona los días 0 y +2.

### Diagnóstico de gestación

Se determinó los niveles séricos  $\beta$ -hCG dos semanas después de la transferencia. Niveles de  $\beta$ -hCG mayores de 20 mU/ml se consideraron indicativos de embarazo bioquímico (que no se contabilizó) y la paciente fue citada quince días después para una exploración por ultrasonidos.

El diagnóstico de gestación y el tipo de la misma (única, doble,...) se estableció cuando se observó al menos un saco embrionario con latido cardiaco por ultrasonografía.

### Resultados perinatales

Se obtuvo los datos de los embarazos desarrollados, mediante revisión de la historia clínica o mediante entrevista telefónica en la que se recogieron las siguientes variables:

- Edad gestacional en el momento del parto, aborto o interrupción voluntaria del embarazo.
- Número, sexo, peso y estado de los fetos nacidos o abortados
- Malformaciones fetales.

### Estudio coste-efectividad

Para realizar el estudio coste-efectividad se tuvieron en cuenta los siguientes parámetros, reflejados en la ley de tasas de la Generalitat Valenciana, Decreto legislativo 1/2005, publicada en el DOGV número 4971:



• Técnica de FIV:	1.680,00 €
• Técnica de ICSI:	1.980,52 €
• Día de estancia hospitalaria:	172,01 €
• Día de estancia en UCI de adultos:	926,60 €
• Cesárea sin complicaciones:	2.519,20 €
• Recién nacido normal:	764,35 €
• Prematuro sin problemas mayores:	3.415,20 €
• Neonatos de extrema inmadurez:	13.277,00 €

El cálculo del coste total de los tratamientos se realizó mediante la estimación del coste de los siguientes parámetros:

- a) Coste de los tratamientos supresores hipofisarios se realizó dividiendo el coste del fármaco por la dosis diaria administrada y multiplicándolo por el número de días en que se administró
  - El precio comercial de cinco dosis del antagonista Ganirelix, (Orgalutran®, Laboratorios Organón, Barcelona) es de 190,23 €; el precio diario resultante del antagonista es de 38,046€.
  - El precio comercial de 60 pulverizaciones del agonista Nafarelina (Synarel®; Laboratorios Seid. Barcelona) es de 122,05€. El precio diario resultante del agonista es de 4,06€.
  
- b) El coste de la hiperestimulación ovárica controlada mediante la administración Folitropina  $\beta$  (Puregón 900, (Orgalutran®, Laboratorios Organón, Barcelona) se estimó en base a su precio comercia de 448,45€,

por lo que el precio por Unidad Internacional es de 0,49€. Se multiplicó el coste por UI por el total de UI de FSH utilizadas en cada paciente.

- c) Coste del estudio básico de esterilidad, visitas hospitalarias en una unidad de reproducción humana, ecografías, determinaciones de estradiol, realización de una técnica de FIV/ICSI, en la que se incluye el coste de la captación de ovocitos, la fecundación con una u otra técnica, el cultivo y la transferencia de embriones, en base a la ley de tasas descrita anteriormente.

Para calcular los costes adicionales del tratamiento en cada uno de los grupos se tuvo en cuenta los siguientes parámetros, según la ley de tasas de la Generalitat Valenciana, Decreto legislativo 1/2005.

- La estancia hospitalaria por hiperestimulación ovárica
- La estancia hospitalaria en la UCI de adultos por hiperestimulación ovárica
- La finalización de la gestación mediante Cesárea o Parto vaginal
- La consecución de un recién nacido a término y sin complicaciones un recién nacido prematuro sin problemas mayores o recién nacido de extrema inmadurez.

### Análisis estadístico

La estructura del análisis estadístico fue

Descripción de las variables explicativas, de resultado y modificadoras de efecto: en variables cuantitativas con distribución normal se realizó por medio de la media y de la desviación estándar, y en las de distribución no normal a través de la mediana y del intervalo intercuartil. Las variables cualitativas se describieron mediante su distribución de frecuencias, aportando los correspondientes intervalos de confianza.

Evaluación de la normalidad de las distribuciones de las variables cuantitativas, mediante comparación de media y mediana, valoración de la dispersión, representación del histograma y aplicación de pruebas de normalidad (Kolmogorov-Smirnov).

Análisis univariado:

La asociación entre una variable cualitativa y otra cuantitativa de distribución normal se contrastó mediante la prueba t de Student si se trata de comparar dos medias o mediante ANOVA para más de dos medias.

La asociación entre una variable cualitativa y otra cuantitativa de distribución no normal se contrastó mediante la prueba U de Mann-Whitney para la comparación de dos medias o mediante la prueba de Kruskal-Wallis cuando se precisa comparar más de dos medias.

La asociación entre dos variables cualitativas se contrastó mediante la prueba  $\chi^2$ .

La asociación entre dos variables cuantitativas de distribución normal se contrastó por medio del coeficiente de correlación de Pearson, mientras que si una o

las dos variables no se comporta con normalidad, se aplica el coeficiente de correlación de Spearman.

Análisis bivariado: determinación de la posible modificación del efecto de las variables explicativas sobre la variable de resultado, por medio del análisis estratificado destinado a identificar interacción y confusión.

Determinación de la magnitud de efectos por medio del Riesgo Relativo (RR).

Para el análisis estadístico se utilizó el programa informático SPSS® versión 11.0 para Windows® y el programa informático Epidat 3.1.

## Capítulo IV RESULTADOS

---



## Descripción de las características basales de los individuos incluidos en la muestra

Las mujeres incluidas en el presente estudio habían consultado todas por esterilidad, lo que representa un sesgo debido a la naturaleza de la consulta a la que acudieron. En cuanto al resto de síntomas que suelen conformar el resto de características clínicas, presentaban:

- Sobrepeso y obesidad: 39,9%
- Trastornos menstruales: 56,8%
- Hiperandrogenismo: 41%
- Anovulación: 72,1%
- Asintomáticos: 19%

Con el fin de comprobar que ambos grupos, agonista y antagonista, eran homogéneos, fueron valorados y comparados distintos datos básicos, que se recogen en la Tabla 4. Se realizó un estudio de Kolmogorov-Smirnov y se observó que las distribuciones de cada una de las variables no seguía una curva normal. Para comparar ambos grupos se utilizó un test de U Mann-Whitney.

	Antagonista <sup>a</sup>	Agonista <sup>a</sup>	Total <sup>a</sup>	Valor de p <sup>b</sup>
<b>Edad paciente</b>	32(30-35)	32(29-34)	32(30-34)	0,081
<b>Edad pareja</b>	35(32-39)	35(31-38)	35(32-35)	0,512
<b>Años esterilidad</b>	5(4-7)	5(4-7)	5(4-7)	0,801
<b>IMC</b>	23,9(21,8-28,4)	23,8(21,1-26,7)	23(21-27)	0,176

Tabla.5 Características de las pacientes de ambos grupos (a: Mediana y rango intercuartil b: test U Mann-Withney)

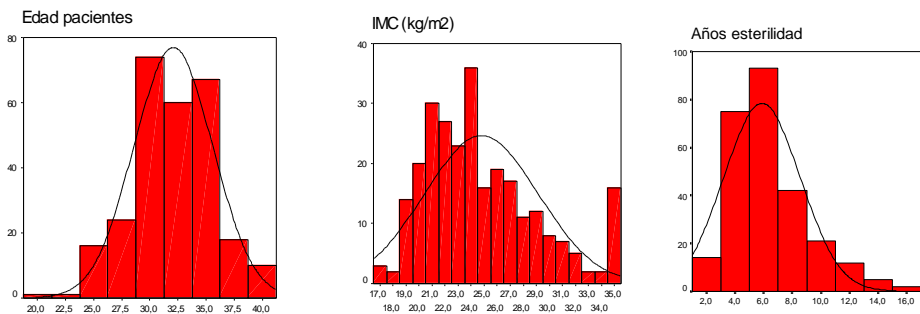


Figura 1 Histogramas de distribución de frecuencias



### Características seminales

Muestras de semen obtenidas por masturbación fueron obtenidas de todas las parejas y valoradas en fresco de acuerdo con los criterios de O.M.S. Para su comparación fueron establecidas cuatro categorías, aunque para el manejo clínico, es decir para tomar la decisión de practicar una FIV clásica o una microinyección espermática fueron utilizados otros criterios, como el recuento de espermatozoides móviles totales tras capacitación o la morfología. Cuando el en el recuento en fresco no se obtuvo espermatozoides, se recuperaron mediante aspiración testicular de espermas (TESA) La frecuencia de las cuatro categorías establecidas se recoge en la tabla 5 y en la figura.

El análisis comparativo mediante tabla de contingencia y test de  $\text{Chi}^2$  mostró la ausencia de diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos, con un valor de p de 0,690.

<b>Frecuencia</b>	<b>Normal (%)</b>	<b>Astenozoospermia (%)</b>	<b>Oligoastenozoospermia (%)</b>	<b>Azoospermia-TESA (%)</b>
<b>Antagonista</b>	22 (14,2)	65(41,9)	62 (40,0)	7 (4,5)
<b>Agonista</b>	10(8,1)	56 (46,2)	52 (42,9)	5 (4,1)
<b>Totales</b>	32 (11,5)	121 (43,5)	114 (41)	12 (4,3)

Tabla 6 Frecuencia (%) de cada una de las categorías seminales en cada uno de los grupos estudiados

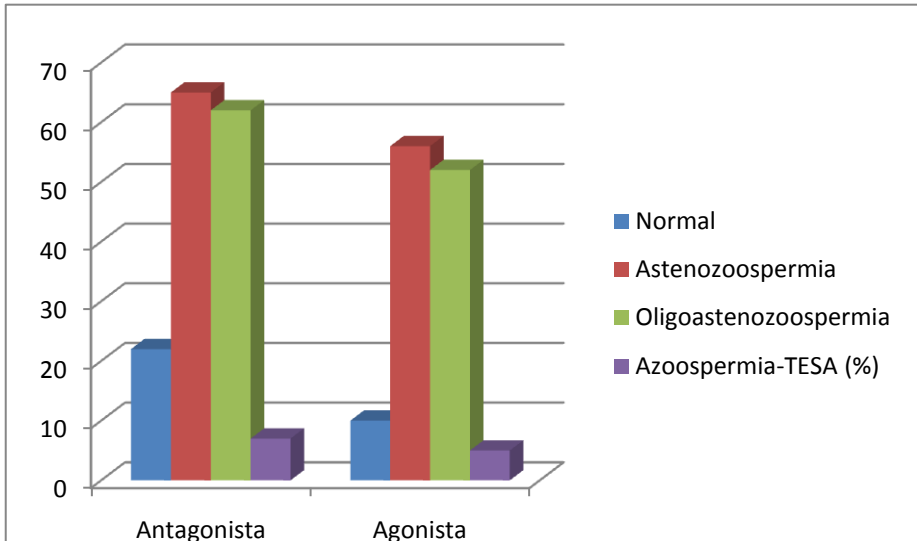


Figura 2 Diagnóstico seminal.

## Resultados de las variables estudiadas de la estimulación ovárica

Comenzaron la estimulación 278 pacientes, 123 en el grupo de los antagonistas y 155 en el grupo de los agonistas. Se cancelaron durante la hiperestimulación, por motivos que se expondrán más adelante 33 ciclos, 7 en el grupo de los antagonistas y 26 en el de los agonistas. Se puncionó para obtener ovocitos a 245 pacientes, 116 en el grupo de los antagonistas y 129 en el de los agonistas. Del total de pacientes puncionadas, no se produjo transferencia embrionaria en 21 pacientes, por los motivos que se describen en la tabla 23, 11 pacientes en el grupo de los antagonistas y 10 pacientes en el grupo de los agonistas. Por lo que finalmente se consiguió la transferencia de al menos un embrión en 223 pacientes, 105 en el grupo de los antagonistas y 118 en el de los agonistas. Se diagnosticó la gestación, mediante la observación ecográfica de un saco intrauterino en 76 pacientes, 34 en el grupo de los antagonistas y 42 en el grupo de los agonistas. Finalmente nacieron 61 niños vivos, 23 en el grupo de los antagonistas y 38 en el grupo de los agonistas.

	Antagonistas	Agonistas	Total
<b>Pacientes estimuladas</b>	123	155	278
<b>Estimulación cancelada</b>	7	26	33
<b>Punciones</b>	116	129	245
<b>Transferencia cancelada</b>	11	11	22
<b>Transferencia realizada</b>	105	118	223
<b>Gestaciones</b>	34	42	76
<b>Nacimientos</b>	28	38	66

Tabla 7. Resumen del ciclo

### Días de estímulo

Variable definida como días desde que comienza la administración de FSH. En el presente estudio se analizó los días de estímulo de las pacientes que finalizaron el ciclo. Entre las pacientes que iniciaron la estimulación ovárica, la mediana de días de estímulo fue 8 días. El rango intercuartil fue de 7-9 días.

En la tabla quedan recogidos la mediana y el rango intercuartil de los días de estímulo totales y en cada uno de los grupos.

Días de estímulo	Mediana	Rango intercuartil
Antagonistas	8	7 – 9
Agonistas	8	7 – 9
Total	8	7 – 9

Tabla 8. Días de estímulo.

La distribución de la variable se representa mediante el histograma de la figura 2. La dispersión se evaluó mediante el coeficiente de asimetría 0,983 y el coeficiente de Curtosis 0,828.

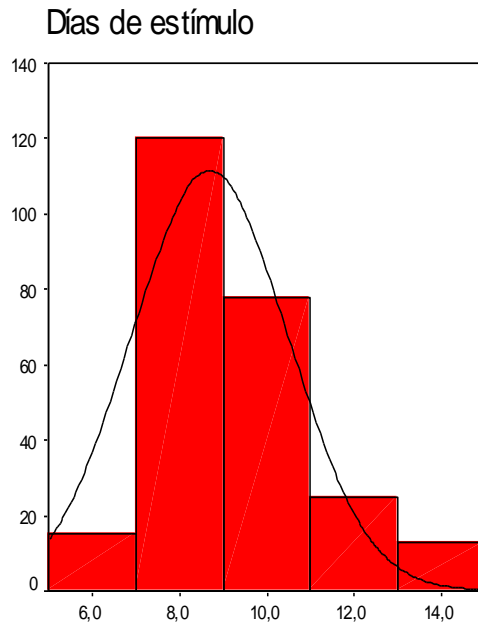


Figura 3. Histograma de días de estímulo.

Se evaluó la normalidad de la distribución de la variable aplicando la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov  $<0,001$  lo que indica que no sigue una distribución normal. Se realizó una prueba de U de Mann Withney para comparar ambos grupos. El resultado de la prueba dio un valor de p de 0,891 que indica que no existe diferencia estadísticamente significativa entre los grupos. Para medir el grado de asociación lineal se utilizó la correlación de Spearman que fue 0,210

### Dosis total FSH consumida (UI)

Esta variable describe la dosis total consumida por ciclo las pacientes que finalizaron el ciclo con punción folicular. La mediana de FSH empleada en el estímulo entre las pacientes que finalizaron la estimulación ovárica 1400 UI y el rango intercuartil 675

Consumo FSH (UI)	Mediana	Rango intercuartil
Antagonistas	1400	1200 – 1625
Agonistas	1400	1150 – 1681
Total	1400	1200 – 1650

Tabla 9. Dosis total de FSH (UI)

La distribución de las frecuencia de la variable se representa mediante el histograma de la figura 2. La dispersión se evaluó mediante el coeficiente de asimetría 1,298 y el coeficiente de Curtosis 2,742.

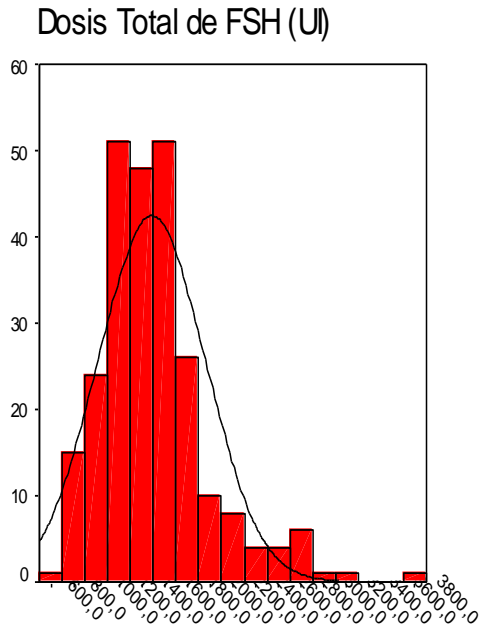


Figura 4. Histograma Dosis total de FSH (UI)

Se evaluó la normalidad de la distribución de la variable aplicando la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov  $<0,001$  lo que indica que no sigue una distribución normal. Se realizó una prueba de U de Mann Withney para establecer la asociación de ambos grupos. El resultado de la prueba dio un valor de p de 0,273 que indica que no existe diferencia estadísticamente significativa entre los grupos. Correlación de Spearman -0,069



### Estradiol el día -2

Esta variable se define como el nivel de estradiol en sangre dos días antes de la punción folicular obtenido de las pacientes que finalizaron la estimulación ovárica. La mediana de Estradiol obtenido fue 2064 pg/ml, con un rango intercuartil de 1465-2861.

Estradiol día -2 (pg/ml)	Mediana	Rango intercuartil
Antagonistas	1879	1400 – 2500
Agonistas	2399	1537 – 3028
Total	2064	1465 – 2861

Tabla 10. Estradiol el día -2 (pg/ml)

La distribución de las frecuencias de la variable se representa mediante el histograma de la figura 3. La dispersión se evaluó mediante el coeficiente de asimetría 0,112 y el coeficiente de Curtosis -1,095.

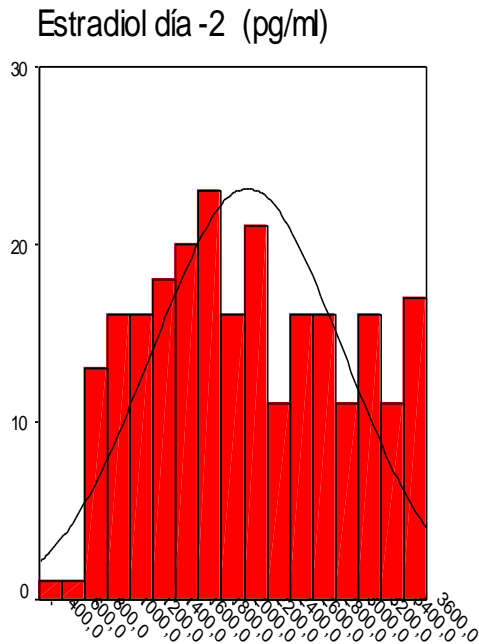


Figura 5. Histograma Estradiol día -2 (pg/ml)

Se evaluó la normalidad de la distribución de la variable aplicando la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov  $<0,001$  lo que indica que no sigue una distribución normal. Se realizó una prueba U de Mann-Withney para comparar ambos grupos y se obtuvo un valor de p 0,002, lo que indica que existe diferencia estadísticamente significativa. Correlación de Spearman 0,201

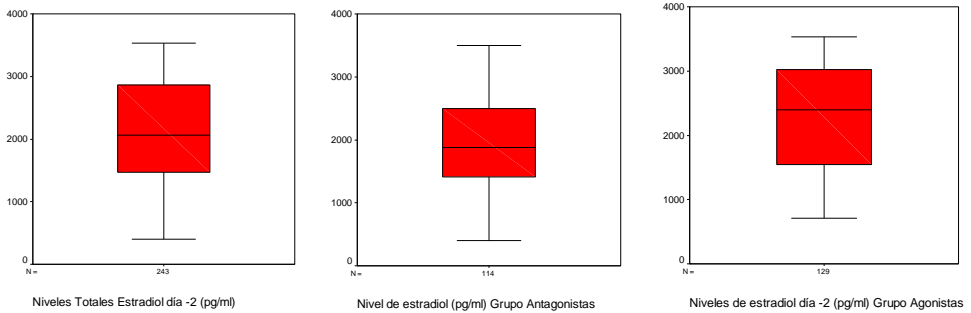


Figura 6. Diagrama de caja y bigotes. Estradiol el día -2 (pg/ml)

### Estradiol el día 0

Esta variable se define como el nivel de estradiol obtenido el día de la punción entre las pacientes que finalizaron la estimulación. La mediana de Estradiol el día de la punción folicular fue 1507 pg/ml, con un rango intercuartil 1059 – 1968 pg/ml

Estradiol día0 (pg/ml)	Mediana	Rango intercuartil
Antagonistas	1340	1030 – 1842
Agonistas	1609	1206 – 2006
Total	1507	1059 - 1968

Tabla 11. Estradiol el día 0 (pg/ml)

La distribución de las frecuencias de la variable se representa mediante el histograma de la figura 5. La dispersión se evaluó mediante el coeficiente de asimetría 0,861 y el coeficiente de Curtosis 0,850.

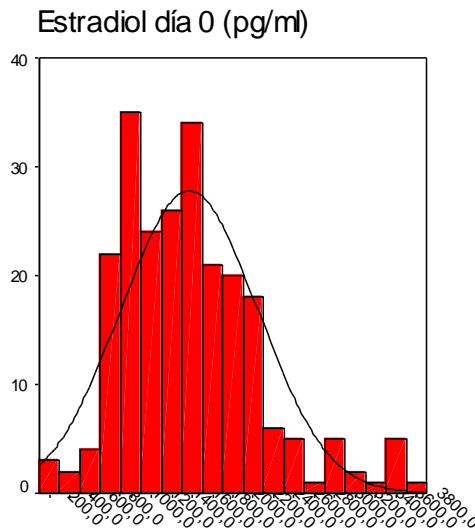


Figura 7. Histograma estradiol día 0 (pg/ml).

Se evaluó la normalidad de la distribución de la variable aplicando la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov  $<0,001$  lo que indica que no sigue una distribución normal. Se realizó una prueba U de Mann-Withney para la asociación en ambos grupos y se obtuvo un p-valor 0,020, lo que indica que existe diferencia estadísticamente significativa. Correlación de Spearman 0,161

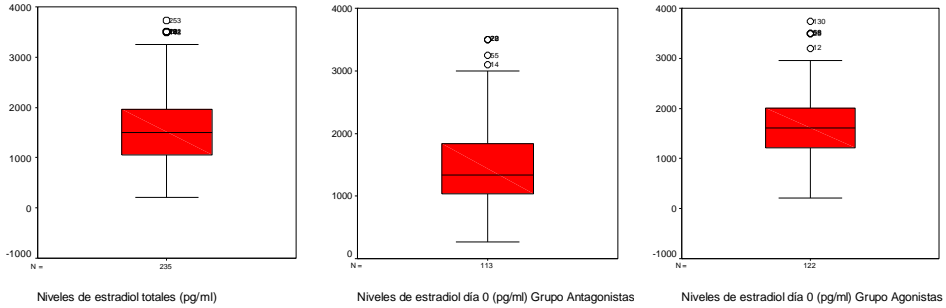


Figura 8. Diagrama de cubo y bigotes. Estradiol el día 0 (pg/ml)

### Estradiol el día +2

La variable se define como el nivel de estradiol medido en sangre dos días después de la punción entre las pacientes que finalizaron el ciclo de estimulación ovárica. La mediana de Estradiol fue 1122 pg/ml, con un rango intercuartil 825 – 1450.

Estradiol día +2 (pg/ml)	Mediana	Rango intercuartil
Antagonistas	1120	800 – 1450
Agonistas	1123	859 - 1454
Total	1122	825 - 1450

Tabla 12. Estradiol el día +2 (pg/ml)

La distribución de las frecuencia de la variable se representa mediante el histograma de la figura. La dispersión se evaluó mediante el coeficiente de asimetría 1,485 y el coeficiente de Curtosis 3,020.

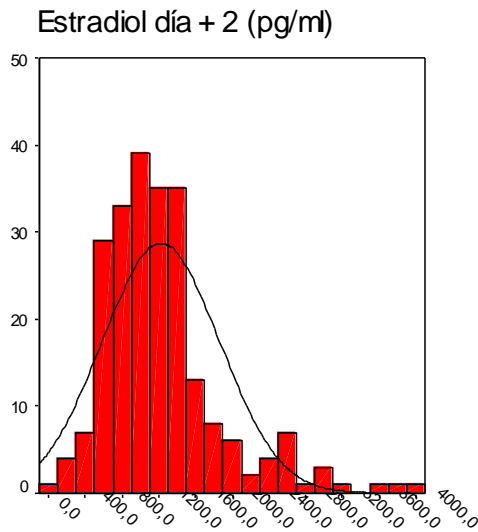


Figura 9. Histograma niveles de estradiol (pg/ml) día +2

Se evaluó la normalidad de la distribución de la variable aplicando la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov  $<0,001$  lo que indica que no sigue una distribución normal. Se realizó una prueba de U de Mann Withney para comparar las medias de los dos grupos y determinar si existen diferencias. El resultado fue un valor de p de 0,992 lo que indica que no existe diferencias estadísticamente significativas entre los grupos. Correlación de Spearman 0,001

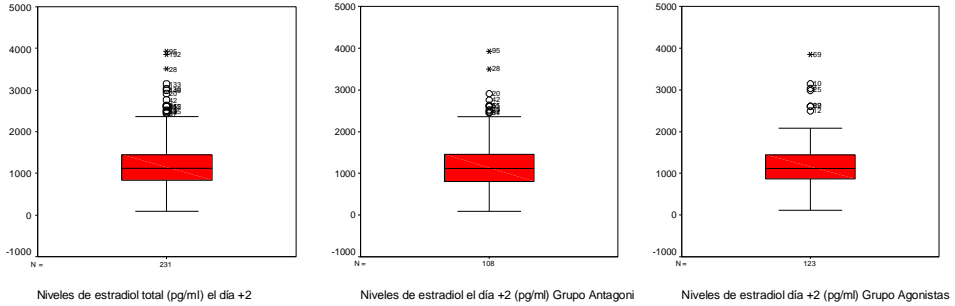


Figura 10. Diagrama de caja y bigotes Estradiol el día +2 (pg/ml)

En la tabla adjunta se representa la evolución de las medias de estradiol de ambos grupos.

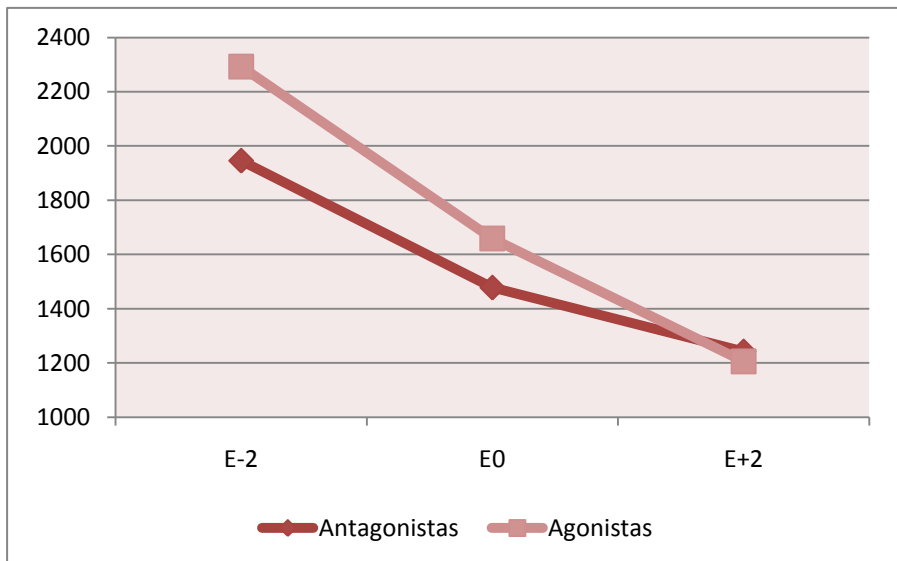


Figura 11 Evolución de los niveles de estradiol (pg/ml).

### Progesterona el día 0

Esta variable se define como la determinación de los niveles de progesterona en sangre el día de la punción (ng/ml). La media de progesterona en sangre el día de la punción (P0) fue 8,0 ng/ml, con un rango intercuartil 5,4 – 12,6 ng/ml.

Progesterona día 0 (ng/ml)	Mediana	Rango intercuartil
Antagonistas	9,6	6,0 – 15,5
Agonistas	7,4	5,2 – 10,1
Total	8,0	5,4 -12,6

Tabla 13. Progesterona el día de la punción (día 0)

La distribución de las frecuencia de la variable se representa mediante el histograma de la figura10. La dispersión se evaluó mediante el coeficiente de asimetría 1,303 y el coeficiente de Curtosis 2,085.



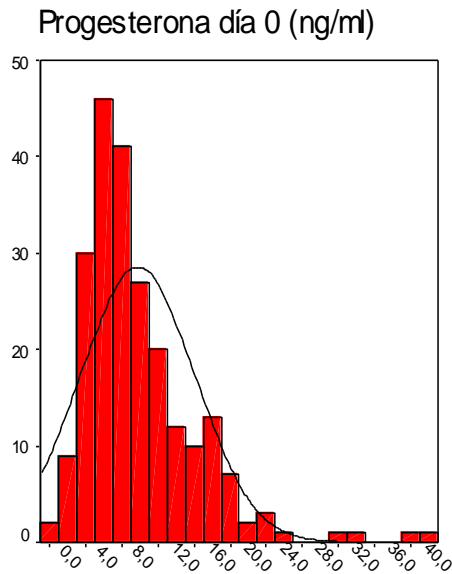


Figura 12. Histograma niveles de progesterona (ng/ml)

Se evaluó la normalidad de la distribución de la variable aplicando la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov  $<0,001$  lo que indica que no sigue una distribución normal. Se realizó una prueba de U de Mann Withney para comparar ambos grupos. El resultado de la prueba dio un valor de p de 0,014 que indica que existe diferencias estadísticamente significativas entre los grupos. Correlación de Spearman -0,189

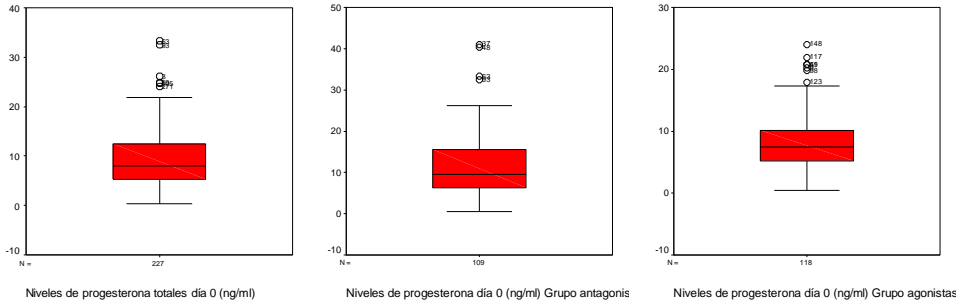


Figura 13. Diagrama de cajas y bigotes Progesterona el día 0 (ng/ml)

### Progesterona el día +2

La variable se define como los niveles de progesterona en sangre dos días después de la punción folicular, expresada en ng/ml. La mediana de progesterona en sangre fue 50,9 ng/ml, con un rango intercuartil 36,2 – 68,3 ng/ml.

Progesterona día +2 (ng/ml)	Mediana	Rango intercuartil
Antagonistas	49,9	37,2 – 71,1
Agonistas	51,2	35,5 – 68,0
Total	50,9	36,2 – 68,3

Tabla 14. Progesterona el día +2 (ng/ml)

La distribución de las frecuencia de la variable se representa mediante el histograma de la figura. La dispersión se evaluó mediante el coeficiente de asimetría 1,242 y el coeficiente de Curtosis 3,938.

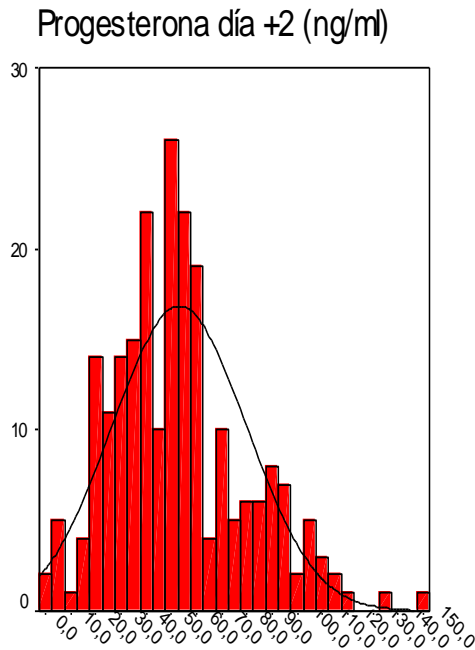


Figura 14. Histograma progesterona total (ng/ml)

Se evaluó la normalidad de la distribución de la variable aplicando la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov  $<0,001$  lo que indica que no sigue una distribución normal. Se realizó una prueba de U de Mann Withney para medir la asociación entre los grupos. El resultado de la prueba dio un p-valor 0,692 que indica que no existe diferencias estadísticamente significativas entre los grupos. Correlación de Spearman -0,26

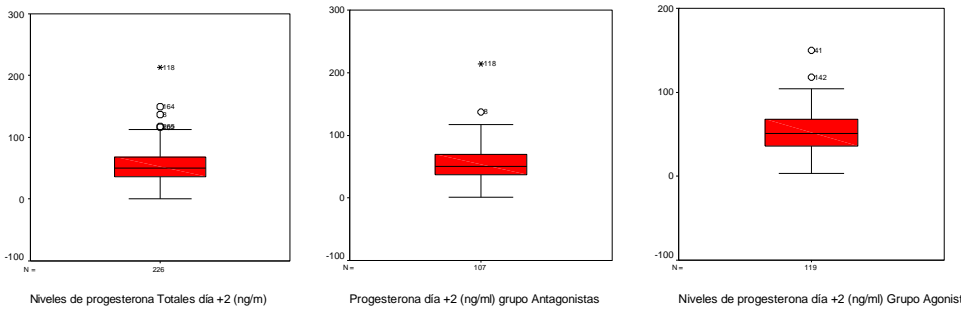


Figura 15. Diagrama de cajas y bigotes progesterona día 0 (ng/ml)

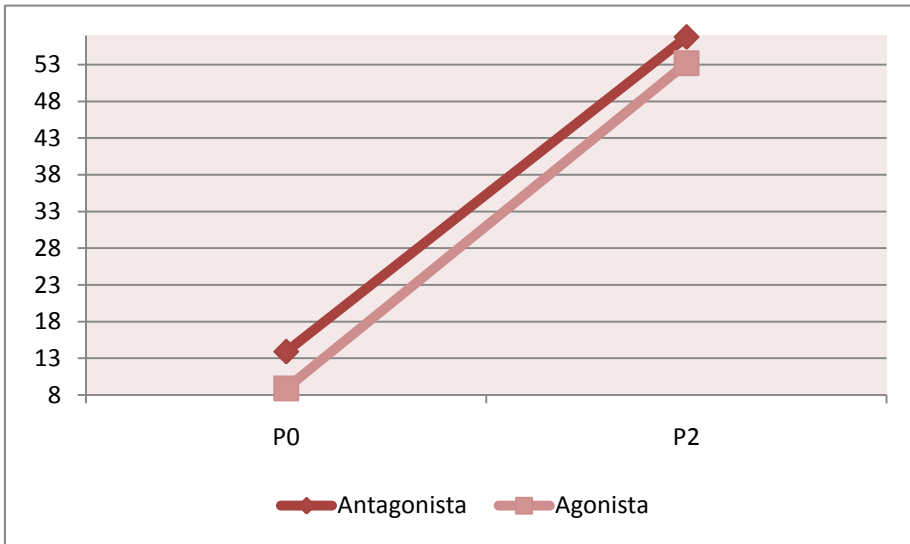


Figura 16. Evolución de los niveles de progesterona (ng/ml)

### Grosor de la línea endometrial el día de hCG

LA variable se define como el espesor máximo del endometrio medido por ecografía transvaginal en un corte sagital el día de la administración de la hCG. La mediana del grosor de la línea endometrial medida el día de la hCG fue 12 mm con un rango intercuartil 11 - 13 mm.

Espesor de la línea endometrial (mm)	Mediana	Rango intercuartil
Antagonistas	11	10 – 13
Agonistas	12	11 – 13
Total	12	11 – 13

Tabla 15. Grosor del endometrio el día de la hCG.

La distribución de las frecuencias de la variable se representa mediante el histograma de la figura 15. La dispersión se evaluó mediante el coeficiente de asimetría 0,113 y el coeficiente de Curtosis 0,514.

## Espesor de la línea endometrial (mm)

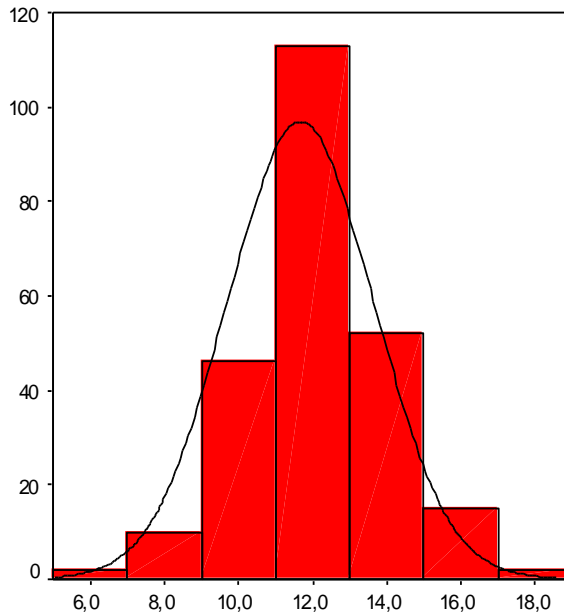


Figura 17 Histograma del grosor de la línea endometrial (mm)

Se evaluó la normalidad de la distribución de la variable aplicando la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov  $<0,001$  lo que indica que no sigue una distribución normal. Se realizó una prueba de U de Mann Withney para ambos grupos. El resultado de la prueba dio un valor de p de 0,282 que indica que no existe diferencias estadísticamente significativas entre los grupos. Coeficiente de Spearman 0,67

### Cancelación del ciclo

Siguiendo los criterios descritos anteriormente, el tratamiento fue cancelado en un total de 33 pacientes, 7 en el grupo de los antagonistas y 26 en el de agonistas.

En 3 pacientes del grupo tratado con agonistas se realizó “*coasting*” previo a la cancelación.

Cancelaciones totales	R. hiperestimulación	Falta respuesta	Total
<b>Antagonistas (%)</b>	2 (1,6)	5 (4,1)	7(5,7)
<b>Agonistas (%)</b>	21 (13,6)	5 (3,2)	26(16,7)
<b>Total (%)</b>	23 (8,3)	10 (3,6)	33(11,9)

Tabla 16. Cancelaciones totales

La tasa de cancelación en el grupo tratado con agonistas fue significativamente superior a la observada en el grupo de pacientes tratadas con antagonistas (16,7% vs 5,7%). La diferencia observada fue estadísticamente significativa con un valor de  $p < 0,001$ .

Particularmente interesante es que el porcentaje de ciclos cancelados por riesgo de hiperestimulación ovárica, de acuerdo con los criterios expuestos en el apartado de material y métodos, fue significativamente mayor en el grupo de ciclos en los que se utilizó agonistas para el bloqueo de la función hipofisaria que en el grupo en que fueron utilizados antagonistas con este fin (13,6% vs 1,6%; valor de  $p <$

0,001). Para medir el grado de significación estadística se empleo el test de Chi<sup>2</sup> de Pearson.

Cancel hiperestimulacion	Si	No	Total
Antagonistas (%)	2 (1,6)	121(98,4)	123
Agonistas (%)	21(13,6)	134(96,4)	155
<b>Total</b>	23	255	278

Tabla 17. Tratamiento Hiperestimulación por tratamiento

Mediante la estimación del coeficiente Phi valoramos el grado de asociación de las dos variables y obtuvimos un valor de 0,215 lo que indica una asociación débil.

Se utilizó la estimación del riesgo relativo (RR) para medir la magnitud de la diferencia entre las dos variables. El RR fue (9,41; IC95%: 2,18-41,28) que indica que el número de ciclos cancelados en el grupo agonistas fue 9,41 veces superior al grupo de los antagonistas y por tanto el tratamiento con Antagonistas es más seguro que el tratamiento con Agonistas. El número mínimo de sujetos a tratar (NNT) es 8. Es decir por cada 8 ciclos de tratamiento con antagonista se evita una cancelación por riesgo de hiperestimulación.

Cinco ciclos en cada uno de los grupos estudiados (3,2% vs 4,1%) fueron cancelados por no observarse respuesta a la estimulación gonadotropa, con los criterios que fueron expuestos en material y métodos. A este respecto, la diferencia observada no alcanzó significación estadística, valor de p de 0,705. El RR: 1,27; IC95%: 0,360-4,494



### Folículo preovulatorios el día de hCG

Esta variable se define como el número de folículos preovulatorios desarrollados el día de hCG mayores o iguales a 16 mm de diámetro. La mediana total fue 8 folículos con un rango intercuartil 6 - 12.

Folículos preovulatorios día hCG	Mediana	Rango intercuartil
Antagonistas	8	6 – 11
Agonistas	9	6 – 12
Total	9	6 – 12

Tabla 18. Folículos desarrollados el día de la hCG

La distribución de las frecuencias de la variable se representa mediante el histograma de la figura 18. La dispersión se evaluó mediante el coeficiente de asimetría 0,652 y el coeficiente de Curtosis 0,455.

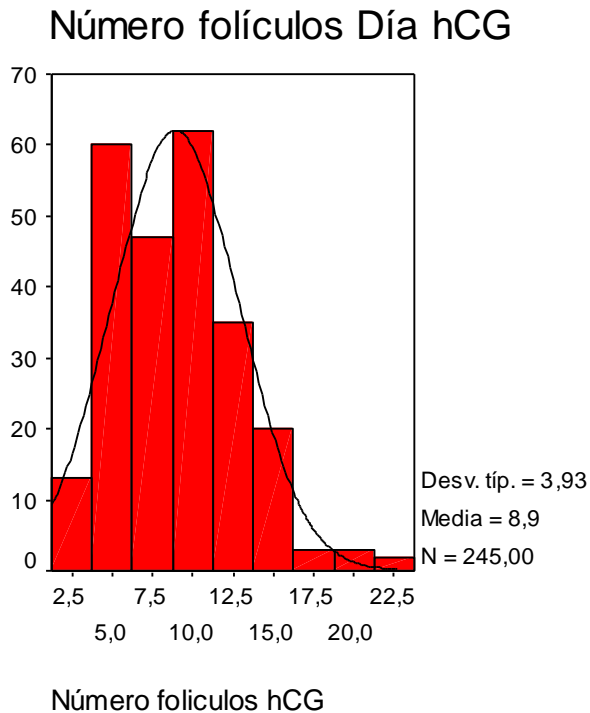


Figura 18. Histograma del número de folículos.

Se evaluó la normalidad de la distribución de la variable aplicando la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov  $<0,001$  lo que indica que no sigue una distribución normal. Se realizó una prueba de U de Mann Withney para comparar las medias de los dos grupos. El resultado de la prueba dio un p-valor 0,205 que indica que no existe diferencias estadísticamente significativas entre los grupos. Correlación de Spearman -0,22

### Diámetro del folículo mayor el día de hCG

Esta variable se define como el diámetro del folículo mayor en mm medido el día de la administración de hCG. La mediana del folículo mayor fue de 20 mm, con un rango intercuartil 19 - 21 mm. En la tabla siguiente se refieren los datos del diámetro del folículo mayor del total de las pacientes y de los grupos.

Diámetro del folículo mayor (mm)	Mediana	Rango intercuartil
Antagonistas	20	19 – 21
Agonistas	20	19 – 21
Total	20	19 - 21

Tabla 19. Diámetro del folículo mayor en el día de la hCG

La distribución de las frecuencia de la variable se representa mediante el histograma de la figura 17. La dispersión se evaluó mediante el coeficiente de asimetría 1,221 y el coeficiente de Curtosis 4,466.

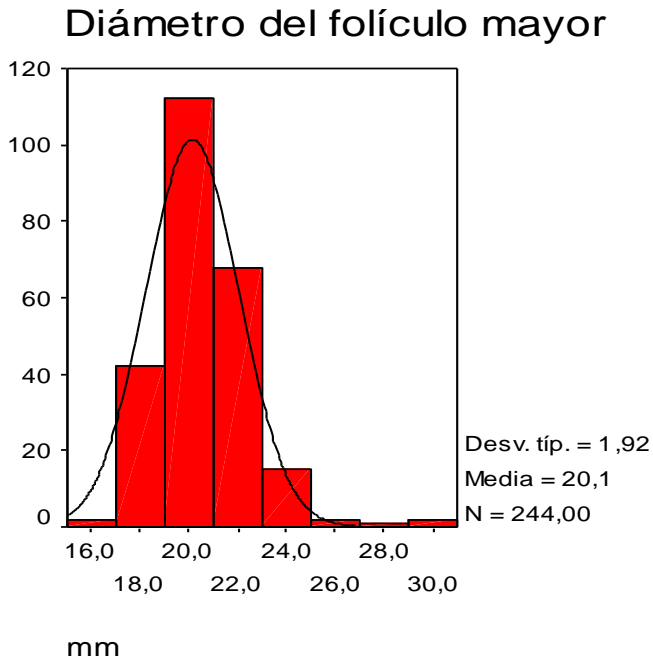


Figura 19. Histograma del diámetro del folículo mayor

Se evaluó la normalidad de la distribución de la variable aplicando la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov  $<0,001$  lo que indica que no sigue una distribución normal. Se realizó una prueba de U de Mann Withney para comparar las medias de los dos grupos. El resultado de la prueba dio un p-valor 0,227 que indica que no existe diferencia estadísticamente significativa entre los grupos. Correlación de Spearman

### Número de ovocitos obtenidos

El número total de ovocitos obtenidos fue 2739, con una media de  $11,2 \pm 5,6$  ovocitos por ciclo y una mediana de 12 ovocitos obtenidos con rango intercuartil 8 - 15. El número de ovocitos obtenidos en cada uno de los grupos, se describe en la tabla 18.

Número de ovocitos obtenidos	Mediana	Rango intercuartil
Antagonistas	11	8 – 16
Agonistas	13	8 – 15
Total	12	8 – 15

Tabla 20. Número de ovocitos obtenidos.

La distribución de las frecuencia de la variable se representa mediante el histograma de la figura 18.

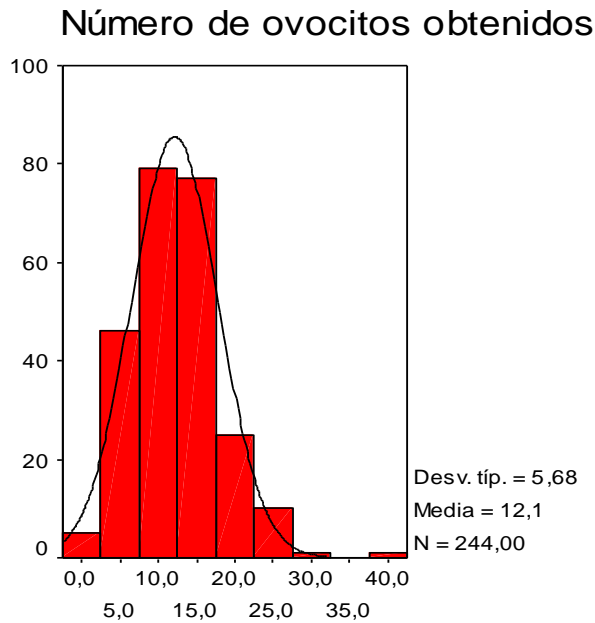


Figura 20. Histograma del número de ovocitos obtenidos.

Se evaluó la normalidad de la distribución de la variable aplicando la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov  $<0,001$  lo que indica que no sigue una distribución normal. Se realizó una prueba de U de Mann Withney para comparar las medias de los dos grupos. El resultado de la prueba dio un valor de  $p$  0,372 que indica que no existe diferencias estadísticamente significativas entre los grupos.

### Número de ovocitos metafase II

El número total de ovocitos metafase II obtenidos fue 1906, con una mediana de 8 ovocitos y un rango intercuartil 4 – 12 ovocitos obtenidos. El número de ovocitos obtenidos en cada uno de los grupos, se describe en la tabla.

Nº folículos metafase II	Mediana	Rango intercuartil
Antagonistas	8	4 – 12
Agonistas	8	5 – 12
Total	8	4 - 12

Tabla 21. Ovocitos metafase II

Se evaluó la normalidad de la distribución de la variable aplicando la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov  $<0,001$  lo que indica que no sigue una distribución normal. Se realizó un test U Mann-Withney para comparar ambos grupos, se obtuvo un valor de p de 0,422 lo que indica que no existe una diferencia estadísticamente significativa entre los grupos. Correlación de Spearman -0,34

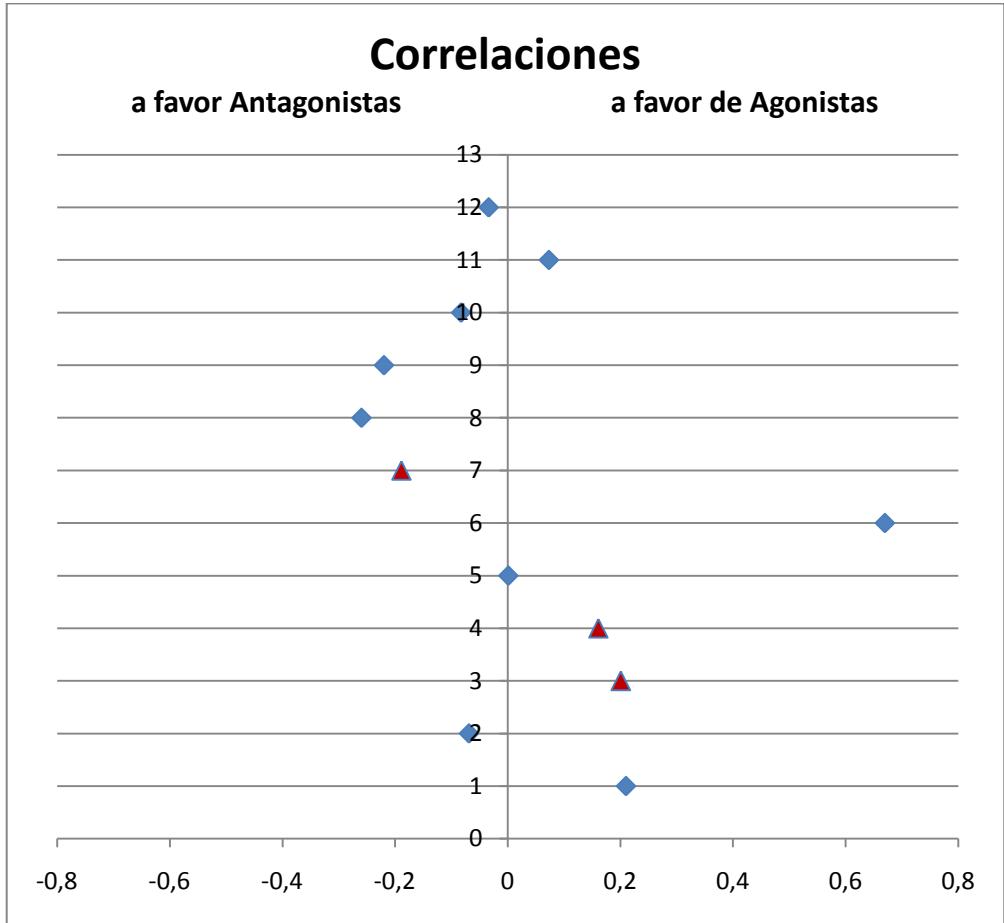
## Resumen de las variables estudiadas de la Hiperestimulación ovárica

	Antagonista	Agonista	Valor p	Magnitud asociación
Días de estímulo	8(7-9) <sup>a</sup>	8(7-9) <sup>a</sup>	0,891 <sup>c</sup>	0,210 <sup>e</sup>
Total FSH (UI)	1400(1200-1625) <sup>a</sup>	1400(1150-1681) <sup>a</sup>	0,273 <sup>c</sup>	-0,069 <sup>e</sup>
Estradiol -2 (pg/ml)	1879(1400-2500) <sup>a</sup>	2399(1537-3028) <sup>a</sup>	0,002 <sup>c</sup>	0,201 <sup>e</sup>
Estradiol 0 (pg/ml)	1340(1030-1842) <sup>a</sup>	1609(1206-2006) <sup>a</sup>	0,020 <sup>c</sup>	0,161 <sup>e</sup>
Estradiol +2 (pg/ml)	1120(800-1450) <sup>a</sup>	1123(859-1454) <sup>a</sup>	0,992 <sup>c</sup>	0,001 <sup>e</sup>
Grosor LE (mm)	11(10-13) <sup>a</sup>	12(11-13) <sup>a</sup>	0,282 <sup>c</sup>	0,670 <sup>e</sup>
Progesterona 0 (ng/ml)	9,6(6,0-15,5) <sup>a</sup>	7,4(5,2-10,1) <sup>a</sup>	0,014 <sup>c</sup>	-0,189 <sup>e</sup>
Progesterona +2 (ng/ml)	49,9(37,2-71,1) <sup>a</sup>	51,2(35,5-68,0) <sup>a</sup>	0,692 <sup>c</sup>	-0,260 <sup>e</sup>
Cancelación total ciclo	1,6 <sup>b</sup>	15,4 <sup>b</sup>	0,002 <sup>d</sup>	
R hiperestimulación	1,6 <sup>b</sup>	13,3 <sup>b</sup>	<0,001 <sup>d</sup>	9,410 <sup>f</sup>
Falta respuesta	0 <sup>b</sup>	3,2 <sup>b</sup>	0,709 <sup>d</sup>	1,270 <sup>f</sup>
Folículos ≥16mm	8(6-11) <sup>a</sup>	9(6-12) <sup>a</sup>	0,205 <sup>c</sup>	-0,220 <sup>e</sup>
Diámetro del folículo mayor (mm)	20(19-21) <sup>a</sup>	20(19-21) <sup>a</sup>	0,227 <sup>c</sup>	-0,083 <sup>e</sup>
Ovocitos obtenidos	11(8-16) <sup>a</sup>	13(8-15) <sup>a</sup>	0,372 <sup>c</sup>	0,073 <sup>e</sup>
Ovocitos Metafase II	8(4-12) <sup>a</sup>	8(5-12) <sup>a</sup>	0,422 <sup>c</sup>	-0,034 <sup>e</sup>

*a* mediana(rango intercuartil)    *b* %    *c* U-Mann Withney    *d* Chi<sup>2</sup>    *e* Correlación de Spearman    *f* RR

Tabla 22. Resumen de las variables estudiadas de la Hiperestimulación ovárica.





1 Días de estímulo 2 Consumo FSH (UI) 3 Estradiol día-2 (pg/ml) 4 Estradiol día 0 (pg/ml) 5 Estradiol día +2 (pg/ml) 6 Grosor LE (mm) 7 Progesterona día 0 (ng/ml) 8 Progesterona día +2 (ng/ml) 9 Folículos día hCG 10 Diámetro folículo mayor (mm) 11 Ovocitos obtenidos 12 Ovocitos metafase II.

Figura 21 Correlaciones de las variables de Hiperestimulación ovárica controlada.

Las variables cuyas diferencias resultaron estadísticamente significativas fueron niveles de Estradiol el día -2, y día 0 a favor de Agonistas y Progesterona día 0 y cancelaciones por riesgo de hiperestimulación a favor de antagonistas.

## Resultados de las variables estudiadas de la fecundación y transferencia embrionaria

### Tasa fecundación en FIV

En la tabla siguiente se expone la tasa de fecundación de los ovocitos sometidos a FIV total y en cada uno de los grupos.

Tasa de fecundación FIV	Fecundación Si	Fecundación No	Total
Antagonista (%)	266 (82,8)	55 (17,1)	321
Agonista (%)	266 (82,3)	57 (17,6)	323
Total (%)	532 (82,6)	112 (17,4)	644

Tabla 23. Tasas de fecundación en FIV

Se realizó una prueba de  $\text{Chi}^2$  y se obtuvo un valor de p de 0,207, lo que indica que no existe diferencia estadísticamente significativa entre los grupos.

### Tasa fecundación ICSI

En la tabla siguiente se expone la tasa de fecundación de los ovocitos sometidos a ICSI total y en cada uno de los grupos.

Se practicó una prueba  $\text{Chi}^2$  y se obtuvo un valor de p de 0,937, lo que indica que no existe diferencia estadísticamente significativa entre los grupos.

Tasa de fecundación FIV	Fecundación Si	Fecundación No	Total
Antagonista (%)	437 (72,2)	168 (27,8)	605
Agonista (%)	575 (75,2)	189 (24,7)	764
<b>Total (%)</b>	<b>1012 (73,9)</b>	<b>357 (26,1)</b>	<b>1369</b>

Tabla 24. Tasa de Fecundación en ICSI

### Ciclos no transferidos

En un total de 22 ciclos no llegó a realizarse la transferencia, bien por fallo total de la fecundación, bien por detención del desarrollo de los embriones obtenidos. En la tabla 23 se exponen las causas de no transferencia embrionaria total y en cada uno de los grupos estudiados. Las causas de no transferencia fueron Fallo de fecundación: 3 en el grupo antagonista y 7 en el agonista, detención del desarrollo 8 en el grupo antagonista y 4 en agonista.

No Transferencia	No transferencia	Transferencia	Total
Antagonistas (%)	11 (10,4)	94 (89,5)	105
Agonistas (%)	11 (9,3)	107 (90,6)	118
<b>Total (%)</b>	<b>22 (9,8)</b>	<b>201 (90,1)</b>	<b>223</b>

Tabla 25. Ciclos no transferidos

Se practicó una prueba  $\text{Chi}^2$  para determinar si existían diferencias entre los grupos y se obtuvo un valor de p de 0,741 lo que indica que no existe diferencia estadísticamente significativa entre los grupos. RR:1,160; IC95%: 0,481-2,796

### Ciclos transferidos

En la tabla siguiente se expone la tasa de ciclo transferido definido como ( $n^\circ$  de ciclos transferidos/ $n^\circ$  ciclos totales) x100

Ciclos transferidos	Transferido	No Transferidos	Total
Antagonista(%)	105(85,6)	18(14,6)	123
Agonista(%)	118(76,1)	37(23,9)	155
Total(%)	223(80,1)	53(19,9)	278

Tabla 26. Ciclos transferidos

Se realizó un test de  $\text{Chi}^2$  para comparar la tasa de transferencia por ciclo en cada uno de los grupos y se obtuvo un valor de p de 0,094 lo que indica que no existe diferencia estadísticamente significativa entre los grupos. RR:1,710; IC95%: 0,910-3,182

### Número de preembriones transferidos por paciente

El protocolo de actuación de la Unidad de Reproducción Humana del Hospital establece que serán transferidos dos embriones, cuando se disponga de ellos, de forma que, sólo en casos específicamente valorados, serán transferidos 3 embriones. En la tabla siguiente se muestra el número de pacientes a las que les fueron transferidos uno, dos o tres embriones. . A un total de 14 pacientes se les transfirió un solo embrión, a 204 pacientes se les transfirió 2 embriones y a 7 pacientes se les transfirió 3 embriones

Pacientes	1 embrión	2 embriones	3 embriones
<b>Antagonista</b>	6	96	3
<b>Agonista</b>	8	106	4
<b>Total</b>	14	202	7

Tabla 27. Número de preembriones transferidos por paciente

### Número total de preembriones transferidos

En la tabla siguiente se expone el número total de preembriones transferidos total y en cada uno de los grupos.

<b>Embriones</b>	<b>Mediana</b>	<b>Rango intercuartil</b>	<b>Total</b>
<b>Antagonista</b>	2	1-3	207
<b>Agonista</b>	2	1-3	232
<b>Total</b>	2	1-3	439

Tabla 28. Número de preembriones transferidos

### Calidad de los preembriones transferidos

En la clasificación de la calidad de los embriones se ha seguido los criterios de ASEBIR

Se realizó un test de  $\chi^2$  para comprobar si existe diferencias entre los grupos y se obtuvo un valor de p de 0,259, lo que indica que no existen diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la distribución de la calidad de los embriones transferidos en cada uno de los grupos.

<b>Embriones</b>	<b>A (%)</b>	<b>B (%)</b>	<b>C (%)</b>	<b>D (%)</b>	<b>Total</b>
<b>Antagonista</b>	60(28,7)	77(36,8)	55(26,3)	15(8,1)	207
<b>Agonista</b>	46(19,6)	101(42,9)	68(28,9)	17(8,5)	232
<b>Total</b>	106 (23,9)	178(40,1)	123(27,7)	32(8,3)	439

Tabla 29 Calidad de los preembriones transferidos

### Embriones transferidos de máxima calidad

En la tabla siguiente se exponen el número de ciclos en los que al menos se obtuvo y se transfirió un embrión de calidad A según los criterios ASEBIR.

Calidad embrionaria	Embriones A	Embriones no A	Total
Antagonista	42 (43,8)	54 (56,2)	96
Agonista	36 (31,6)	78 (68,4)	114
<b>Total</b>	78	132	210

Tabla 30. Embriones transferidos de máxima calidad

Se practicó una prueba  $\chi^2$  y se obtuvo un valor de p de 0,044, lo que indica que existe diferencia estadísticamente significativa en la obtención de al menos un embrión de buena calidad entre ambos grupos.

El RR de obtener un embrión clase A de ASEBIR con el tratamiento Antagonista es 1,685; IC95%: 0,958-2,963, y el NNT es 13 lo que indica que por cada 13 ciclos de tratamiento con antagonista obtenemos un embrión clase A más que en el ciclo con agonista.

### Calidad embrionaria en relación a la gestación

Se evaluó si existe alguna relación entre la calidad embrionaria y la tasa de gestación, se practicó un test de  $\text{Chi}^2$  y se obtuvo un valor de p de 0,384 lo que indica que no se aprecia una diferencia a favor de la transferencia de al menos un embrión de calidad A con la tasa gestación. En la tabla siguiente se muestran los ciclos en los que se transfirió al menos un embrión de calidad A y su relación con la gestación. El RR para obtener una gestación cuando se transfirió un embrión con calidad A fue 1,314; IC95% 0,723-2,36.

	No gestación (%)	Gestación (%)
<b>Embrión A</b>	49 (62,8)	29 (37,2)
<b>No embrión A</b>	153(76,5)	47(23,5)

Tabla 31. Calidad embrionaria en relación a la gestación.

### Calidad embrionaria en relación a la gestación por grupos

En la tabla siguiente se exponen los datos de gestación por grupos en las pacientes a las que se transfirió un embrión calidad A.



Transferencia Embrión A	Gestación	No Gestación	Total
Antagonista (%)	15 (35,7)	27(64,3)	42
Agonista (%)	14 (38,9)	22 (61,1)	36
Total	29	49	78

Tabla 32. Tabla de contingencia transferencia de embriones calidad A

Se evaluó si existe alguna diferencia con respecto a la gestación entre las pacientes a las que se transfirió al menos un embrión de calidad A y se obtuvo un p-valor de 0,772 que indica que no existe una diferencia significativa entre los grupos. El RR de gestación del grupo antagonista respecto al grupo agonista fue de 0,873; IC95% 0,348-2,192.

También se evaluó la diferencia estadística entre las que transfirió un embrión de calidad no A y se obtuvo un valor de p de 0,289 y no se constató diferencia.

Transferencia no A	Gestación	No Gestación	Total
Antagonista (%)	14(25,9)	40 (74,1)	54
Agonista (%)	27 (34,6)	51 (65,3)	78
Total	41	91	132

Tabla 33. Tabla de contingencia transferencia de embriones calidad no A.

Se realizó el cálculo del RR de gestación del grupo antagonista respecto al grupo agonista y fue 0,661;IC 95%: 0,307-1,423.

Se evaluó la tasa de gestación en función de la edad de las pacientes y no se obtuvo diferencias estadísticamente significativas. Los resultados se exponen en las tablas siguientes.

Edad	Tratamiento	Gestación Si	Gestación No	Total
<30	Antagonista	2	6	8
	Agonista	3	7	10
	Total	5	13	18
31-34	Antagonista	9	14	23
	Agonista	6	8	14
	Total	15	22	37
>35	Antagonista	4	7	11
	Agonista	5	7	12
	Total	9	14	23

Tabla 34. Gestación en función de la edad con la transferencia de al menos un embrión A.

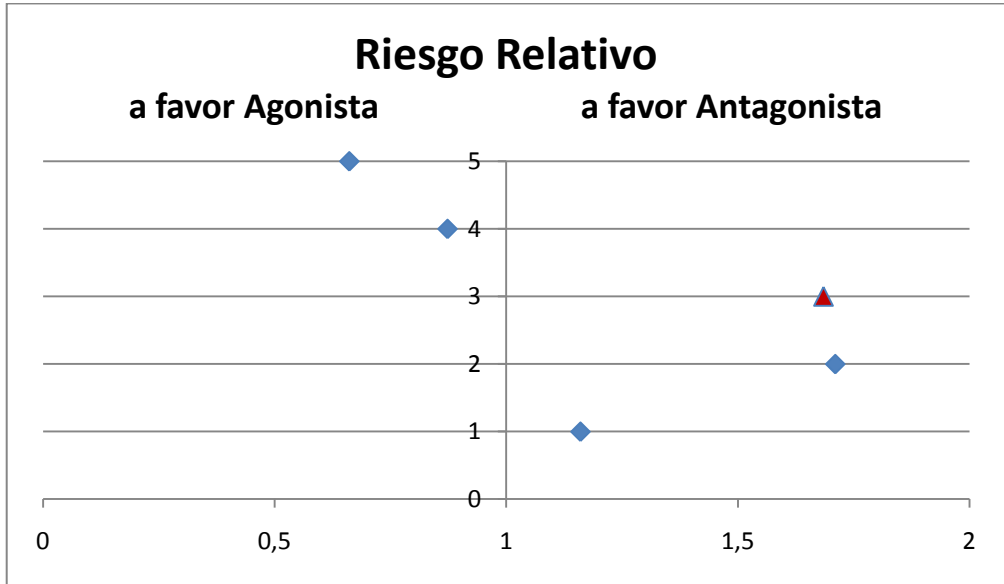
En el grupo <30 años la prueba p obtuvo un valor de 0,814, en el grupo de entre 31 y 34 años un valor de p de 0,823 y en >35 años un valor de p de 0,795 lo que indica que no hay diferencias estadísticamente significativas en cuanto a los grupos de edad.

**Resumen de las variables estudiadas de punción y transferencia**

	<b>Antagonista</b> (%)	<b>Agonista</b> (%)	<b>p-valor<sup>a</sup></b>	<b>RR</b>	<b>IC95%</b>
<b>Porcentaje fecundación FIV</b>	82,8	82,3	0,207		
<b>Porcentaje fecundación ICSI</b>	72,2	75,2	0,937		
<b>Ciclos no transferidos</b>	10,4	9,3	0,741	1,160	0,481- 2,796
<b>Porcentaje ciclo transferido</b>	85,6	76,1	0,094	1,710	0,910- 3,182
<b>Número de preembriones A transferidos/ciclo</b>	43,8	31,6	0,044	1,685	0,958- 2,963
<b>Gestación entre pacientes con embrión A</b>	35,7	38,9	0,772	0,873	0,348- 2,192
<b>Gestación entre pacientes con embrión no A</b>	25,9	34,6	0,289	0,661	0,307- 1,423

<sup>a</sup> Chi<sup>2</sup>

Tabla 35. Resumen de las variables estudiadas de la punción y transferencia



1 Ciclos no transferidos 2 Ciclos transferido 3 Preembriones A / ciclo 4 Gestación entre transferencia embriones A 5 Gestación entre transferencia de embriones No A.

Figura 23 Riesgos relativos Variables de punción y transferencia.

Solamente resultó estadísticamente significativa la diferencia en el número de embriones de calidad A obtenidos en el grupo antagonista.

## Resultados de las variables estudiadas de la gestación

### Tasa de gestación

La tasa de gestación por ciclo iniciado global fue de 27,3%. En el grupo Antagonista fue del 27,6% y en el grupo Agonista del 27,1%.

En la tabla siguiente se muestran los datos de la tasa de gestación clínica por ciclo iniciado, en total y por grupos.

Gestación	Si	No	Total
<b>Antagonista (%)</b>	34 (27,6)	89 (72,3)	123
<b>Agonista (%)</b>	42 (27,1)	113 (72,9)	155
<b>Total (%)</b>	76 (27,3)	202 (72,7)	278

Tabla 36. Tasa de gestación por ciclo iniciado

Se practicó una prueba  $\chi^2$  y se obtuvo un valor de p de 0,919, lo que indica que no existe diferencia estadísticamente significativa entre los grupo. Se estimó el riesgo relativo y de gestación entre el grupo de pacientes tratadas con antagonistas y las pacientes tratadas con Agonistas (1,028;IC 95% 0,605-1,747)

En la siguiente figura se describe las tasas de gestación por ciclo iniciado.

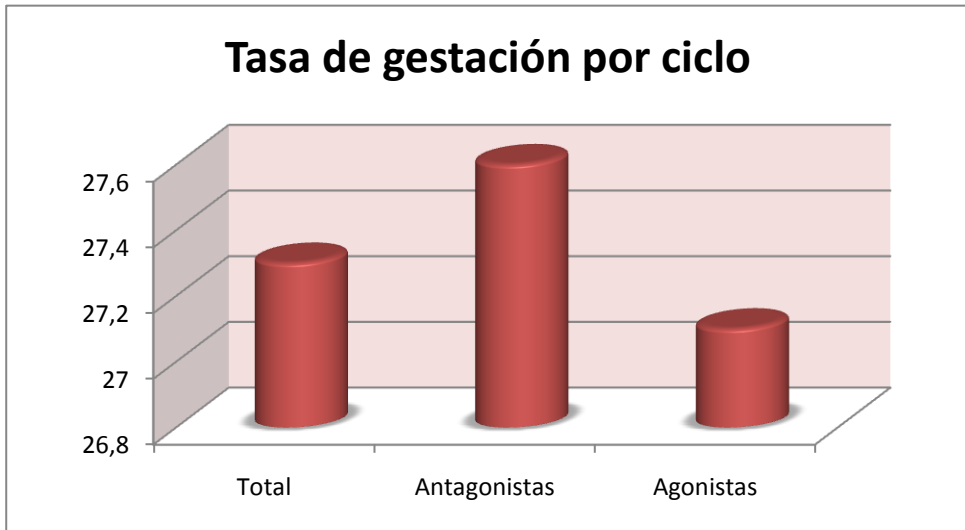


Figura 24. Tasa de gestación por ciclo.

### Tasa de implantación

En la tabla y figura siguientes se muestran los datos de la tasa de implantación total y por grupos, calculada como número de sacos/embriones transferidos.

Implantación	Si	No	Total
Antagonista (%)	40 (19,3)	167 (80,7)	207
Agonista (%)	53 (22,8)	179 (77,2)	232
<b>Total</b>	<b>93 (21,2)</b>	<b>346 (78,8)</b>	<b>439</b>

Tabla 37. Tasa de implantación

Se practicó una prueba  $\chi^2$  y se obtuvo un valor de p de 0,651, lo que indica que no existe diferencia estadísticamente significativa entre los grupos. El RR es de lograr una implantación en el grupo antagonista es 0,878; IC 95% 0,499-1,543. En la figura 25 se exponen las tasas de implantación en función del tratamiento.

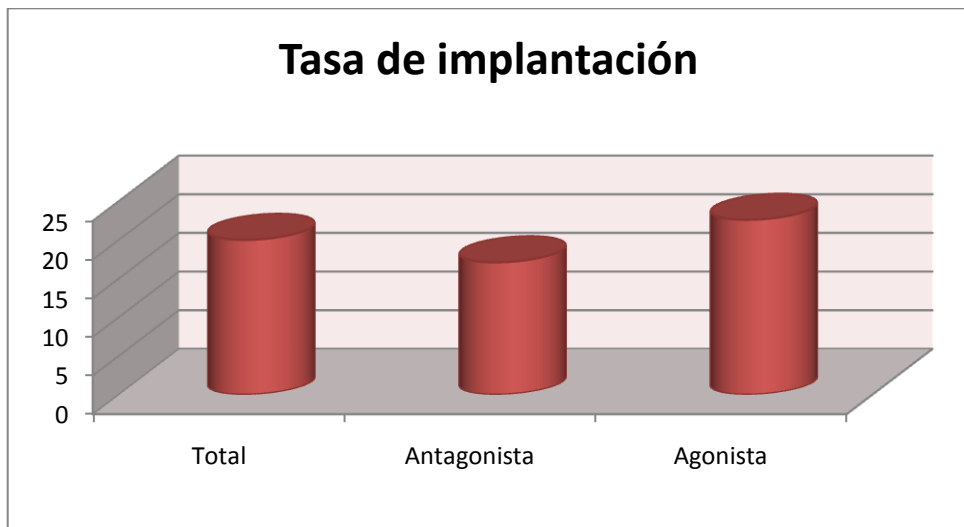


Figura 25. Tasa de implantación



### Tasa de aborto

En la tabla siguiente se muestran los datos de la tasa de aborto total y por grupos, calculada como gestaciones detenidas/total de sacos.

	Aborto Si	Aborto No	Total
<b>Antagonista (%)</b>	10 (25,0)	30 (75,0)	40
<b>Agonista (%)</b>	10 (18,9)	43 (81,1)	53
<b>Total (%)</b>	20 (21,5)	73 (78,5)	93

Tabla 38. Tasa de aborto

Se practicó una prueba  $\chi^2$  y se obtuvo un valor de p de 0,584, lo que indica que no existe diferencia estadísticamente significativa entre los grupos. El RR de aborto en el grupo antagonista es 1,385; IC95% 0,501-3,834

### Gestación múltiple

En la tabla siguiente se muestran los datos de la tasa de gestación múltiple total y por grupos, calculada como gestaciones con dos o más sacos / total de gestantes. Todas las gestaciones múltiples que se produjeron fueron dobles; no se observó ningún caso de gestación triple o de mayor orden.

Se practicó una prueba  $\chi^2$  y se obtuvo un valor de p de 0,356, lo que indica que no existe diferencia estadísticamente significativa entre los grupos. El RR de gestación múltiple en el grupo antagonista fue 0,573; IC 95%: 0,174-1,885

Gestación múltiple	Si	No	Total
Antagonista	5 (17,8)	23 (82,1)	28
Agonista	11 (27,5)	29 (72,5)	40
Total	16 (23,5)	52 (76,7)	68

Tabla 39. Gestación múltiple

### Tasa de recién nacido por ciclo

En la tabla siguiente se muestran los datos de la tasa de recién nacido por ciclo iniciado total y por grupos.

Recién nacido	Si	No	Total
Antagonista (%)	28 (22,8)	95 (77,2)	123
Agonista (%)	38 (24,5)	117 (75,5)	155
Total (%)	66 (23,7)	212 (76,2)	278

Tabla 40. Recién nacido por ciclo

Se practicó una prueba  $\chi^2$  y se obtuvo un valor de p de 0,686, lo que indica que no existe diferencia estadísticamente significativa entre los grupos. El RR

de obtener un recién nacido vivo entre el grupo antagonista es 0,884; IC 95%: 0,487-1,606

Durante la evolución de las gestaciones se diagnosticó en el grupo de los antagonistas, un feto muerto en la semana 28 de una gestación gemelar. El otro feto fue un recién nacido sano a término. En el grupo de los agonistas se diagnosticó una gestación ectópica, un feto con síndrome de Down y se interrumpió la gestación dentro del plazo legal. Además se diagnosticó un feto muerto en la semana 30. Ninguno de estos casos ha sido recogido como un aborto.

### Tasa de recién nacido sano a término por ciclo

En la siguiente tabla se muestran los datos de la tasa de recién nacido sano a término por ciclo iniciado. Se define recién nacido sano a término como aquél que alcanza las 37 semanas de gestación, pesa al nacer más de 2500 g y no muestra alteraciones congénitas.

Recién nacido sano a término	Si	No	Total
Antagonista (%)	23 (18,7)	100 (81,3)	123
Agonista (%)	26 (16,8)	129 (83,2)	155
Total (%)	49 (17,6)	229 (82,4)	278

Tabla 41. Tasa de recién nacido sano a término por ciclo iniciado

Se practicó una prueba  $\chi^2$  y se obtuvo un valor de p de 0,273, lo que indica que no existe diferencia estadísticamente significativa entre los grupos. El RR de tener un Recién nacido sano a término en el grupo antagonista es 1,021; IC 95%: 0,544-1,920. El NNT es 53, es decir por cada 53 ciclos con antagonista obtenemos un Recién nacido sano a término más que en el grupo agonista.

### Tasa de prematuridad por ciclo iniciado

En la tabla siguiente se muestran las tasas de prematuridad por ciclo iniciado, calculada como número de fetos vivos <37 semanas / ciclo iniciado

Prematuros	Si	No	Total
<b>Antagonista (%)</b>	5 (4,1)	118 (95,9)	123
<b>Agonista (%)</b>	12 (7,8)	143 (92,2)	155
<b>Total</b>	17 (6,1)	261 (93,9)	278

Tabla 42. Tasa de prematuridad por ciclo

Se practicó una prueba  $\chi^2$  y se obtuvo un valor de p de 0,597, lo que indica que no existe diferencia estadísticamente significativa entre los grupos. El RR de obtener un recién nacido prematuro en el grupo agonista frente al antagonista es 0,670; IC 95%: 0,151-2,974.

### Días de estancia hospitalaria por hiperestimulación ovárica

En el grupo de los antagonistas hubo un ingreso por hiperestimulación ovárica leve que requirió 4 días de hospitalización.

En el grupo de los agonistas hubo 3 ingresos por un cuadro de hiperestimulación ovárica leve, con una media de 3 días de estancia hospitalaria, un caso de hiperestimulación moderada con 15 días de estancia hospitalaria y un caso de hiperestimulación ovárica grave que requirió 15 días de estancia en UCI y 7 días en planta. En la tabla siguiente se muestran la tasa de días de ingreso hospitalario por hiperestimulación en relación a las pacientes, calculado como días de estancia hospitalaria / paciente

	n
<b>Total</b>	50
<b>Antagonista</b>	4
<b>Agonista</b>	46

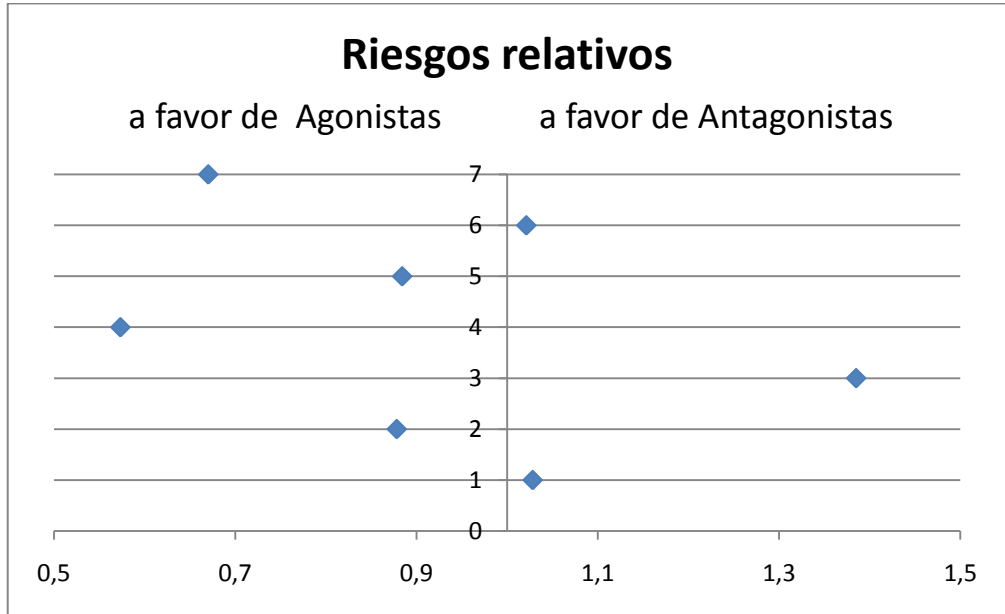
Tabla 43. Días de estancia hospitalaria por hiperestimulación ovárica

## Resumen de las variables estudiadas de la gestación

	Antagonistas (%)	Agonistas (%)	valor <sup>a</sup> p	RR	IC95%
Tasa de gestación	27,6	27,1	0,919	1,028	0,605-1,747
Tasa de implantación	19,3	22,8	0,651	0,878	0,499-1,543
Tasa de aborto	25,0	18,9	0,584	1,385	0,501-3,834
Tasa de gestación múltiple	17,8	27,5	0,356	0,573	0,174-1,885
Tasa de recién nacido	22,8	24,5	0,686	0,884	0,487-1,606
Tasa de recién nacido sano a término	18,7	16,8	0,273	1,021	0,544-1,920
Tasa de prematuridad	4,1	7,8	0,597	0,670	0,151-2,974

<sup>a</sup> Chi<sup>2</sup>

Tabla 44. Resumen de las variables estudiadas de la gestación.



1: Gestación; 2:Implantación; 3: Aborto; 4:Gestación múltiple; 5:Recién nacido; 6: Recién nacido a término; 7 Prematuro

Figura 26 Resumen de riesgos relativos de las variables estudiadas de la gestación.

## Estudio coste efectividad

### Coste del tratamiento supresor de la hipófisis

En la tabla se reflejan los costes medios totales por ciclo iniciado de cada uno de los tratamientos supresores de la función gonadotropa hipofisaria.

Coste del tratamiento supresor hipófisis (€)	Mediana	Rango intercuartil
Antagonistas	304,4	266,3 – 342,4
Agonistas	85,4	77,3 – 97,6
Total	109,8	109,8 – 304,4

Tabla 45. Coste del tratamiento con el fármaco supresor de la hipófisis

Se realizó una prueba de Kolmogorov-Smirnov y se comprobó que la variable no seguía una distribución normal. Se practicó una prueba U de Mann-Withney para pruebas no paramétricas y se obtuvo un valor de  $p < 0,0001$ , lo que indica que existe diferencia estadísticamente significativa entre los grupos. El coeficiente de correlación de Spearman es  $-0,862$ .



### Coste global del tratamiento

En las tablas 46 y 47 se detallan los costes totales por ciclo iniciado en el grupo de los antagonistas y en el de los agonistas.

	Coste en euros/ciclo	Total €
<b>Antagonista</b>	331,9±72,8	40823,4
<b>Folitropina beta</b>	650,6±210	80030,3
<b>Técnica FIV/ICSI</b>	1785,3±459,7	219428,6
<b>Estancia hospitalaria por hiperestimulación</b>	5,6±62,1	688,0
<b>Estancia en UCI de adultos</b>	0	0
<b>Cesárea sin complicaciones</b>	163,9±623,8	20153,6
<b>IVE</b>	0	0
<b>Recién nacido sin complicaciones</b>	111,9±288,4	13758,3
<b>Prematuro sin problemas mayores</b>	55,5±433,7	6830,4
<b>Neonato de extrema inmadurez</b>	0	0
<b>Total</b>	<b>3104,7±1232,5</b>	<b>381712,6</b>

Tabla 46. Estudio de costes del grupo de los antagonistas

	<b>Coste medio € /ciclo</b>	<b>Total €</b>
<b>Análogo</b>	87,4±20,4	13551,6
<b>Folitropina beta</b>	613,1±207	95034,4
<b>Técnica FIV/ICSI</b>	1597,7±711,4	247652,8
<b>Estancia hospitalaria por hiperestimulación</b>	124±1229,8	18018,0
<b>Estancia en UCI de adultos</b>	89,6±1108,1	13890,0
<b>Cesárea sin complicaciones</b>	227,5±724,4	35268,8
<b>IVE</b>	4,6	715,2
<b>Recién nacido sin complicaciones</b>	128,2±286,5	19873,1
<b>Prematuro sin problemas mayores</b>	198,3±1117,1	30736,8
<b>Neonato de extrema inmadurez</b>	170,7±2124,8	26454,0
<b>Total</b>	<b>3234,9±3433,1</b>	<b>501194,7</b>

Tabla 47. Estudio de costes del grupo de los agonistas

Se practicó una prueba U de Mann-Withney para comparar las medias del coste total por tratamiento y se obtuvo un p valor de 0,662 que indica que no existían diferencias entre ambos grupos.

### Coste total por niño

En la tabla 48 se reflejan los costes totales por niño nacido, resultado de dividir el coste total del tratamiento por ciclo iniciado en cada uno de los grupos, por el número de niños nacidos en cada grupo.

Coste niño	€
<b>Antagonista</b>	13632,6
<b>Agonista</b>	13189,3
<b>Total</b>	13377,4

Tabla 48. Tabla Coste total por niño

### Coste por niño sano a término

En la tabla 49 se muestran los costes en euros por recién nacido vivo sanos y a término por ciclo iniciado, calculado como coste total en cada grupo dividido por los niños sanos y a término nacidos en cada uno de los grupos.

Coste niño sano	€
<b>Antagonista</b>	16596,2
<b>Agonista</b>	19276,7
<b>Total</b>	18018,5

Tabla 49. Coste total por niño sano a término.

## Capítulo V DISCUSIÓN

---



En el presente estudio ha sido analizado un protocolo de estimulación para mujeres afectas de SOP, consistente en la administración de FSHr asociada, desde el principio de la estimulación, a la administración de un antagonista de GnRH (GnRHant) y para ello se han comparado los resultados obtenidos con este protocolo a los obtenidos con la administración de FSHr asociada a un análogo agonista de GnRH (GnRHa) en protocolo largo, que puede ser considerado el patrón oro, puesto que es el más generalizadamente utilizado.

Parece oportuno plantear la discusión de los resultados obtenidos con el desarrollo del presente estudio estructurándolos desde distintos aspectos:

- Limitaciones del estudio y aspectos metodológicos
- Inconvenientes y ventajas para la paciente
- Eficacia del protocolo de estimulación sometido a valoración
  - a) Valoración en términos de resultados de la estimulación
  - b) Valoración en cuanto a prevención del riesgo de hiperestimulación ovárica
  - b) Valoración en términos de tasas de gestación e implantación
  - c) Valoración en términos de salud neonatal
- Eficiencia del protocolo de estimulación propuesto: coste/beneficio

### Limitaciones del estudio y aspectos metodológicos

Obviamente, todo estudio de investigación clínica es susceptible de ser mejorado, con el fin de obtener mayor número de datos y, así, enriquecer los resultados. Sin embargo, por este camino se complican los estudios, se hacen interminables y, sobre todo, se encarecen y, además, con frecuencia no se llega a resultado alguno.

En este sentido, el estudio podría haber sido mejorado:

- Determinación del nivel circulante de LH y progesterona a lo largo de la estimulación. La hipótesis del presente protocolo parte de la premisa de que, en las pacientes afectas de SOP, se produce la expresión precoz de los receptores de LH en las células de la granulosa (23). En consecuencia, se aceptó que disminuir precoz e intensamente los niveles de esta hormona podría resultar beneficioso. Hubiera sido muy pertinente conocer los niveles de circulantes de LH durante la estimulación y al final de la misma, el día de la administración de hCG.

Sin embargo, tratándose de una primera evaluación del protocolo utilizado y existiendo otros parámetros relativos a eficacia del mismo, se decidió valorar los resultados en función de las intervenciones habituales del centro, dejando para posteriores eventuales estudios otras valoraciones, si los resultados actuales lo justifican.

- Estudios del endometrio destinados a valorar la receptividad endometrial. La experiencia generalizada es que el empleo de antagonistas conlleva una disminución en las tasas de gestación e implantación y se ha afirmado que esta diferencia no se debe a la calidad biológica de los embriones

transferidos (284) sino a la receptividad endometrial (240, 285), en la que se ha detectado una disminución de la expresión de la proteína HOXA 10 (286) y de la expresión de éste y otros genes relacionados con la implantación, así como la de otros genes relacionados con la receptividad asociada a un desfase positivo del endometrio (287), de acuerdo con los criterios de Noyes (288)

- Otros estudios. Obviamente, con la tecnología actual podría haberse ampliado el presente estudio valorando la calidad biológica de ovocitos y embriones pero también se consideró que era más procedente analizar antes estos resultados que, en principio, podrían ser considerados preliminares.

Debe señalarse que el presente estudio ha sido realizado en una unidad de reproducción humana asistida de un centro público de carácter asistencial y sin subvención alguna. Por otra parte, no se trataba de un ensayo clínico autorizado y las intervenciones debían ajustarse a las prácticas habituales del centro.

- Particulares dificultades conlleva el análisis de los costes de los tratamientos, tanto en lo que se refiere a calcular el coste de un tipo particular de tratamiento como en lo que se refiere a comparar con lo que, referente a costes, ha sido publicado.

La apreciación contable de los costes de los tratamientos utilizados en el estudio se ha basado, como se indicó en el apartado de material y métodos, en la valoración que la Consellería de Sanitat del gobierno valenciano publicó en su día en la Ley de Tasas para los distintos procedimientos.



Conviene señalar que esta valoración se hizo por procesos. En concreto, se da un coste para el proceso de FIV, por ejemplo, y ello incluye todos los epígrafes relativos a este proceso: estimulación y su control, punción, manejo de ovocitos y embriones y transferencia.

En consecuencia, a estos costes se ha sumado el gasto farmacéutico, distinto para cada uno de los grupos estudiados y otros costes diferenciales de uno y otro grupo de pacientes, como tratamiento del síndrome de hiperestimulación ovárica en los casos en que se produjo, las cesáreas practicadas, el tratamiento de prematuros, etc.

Es difícil así mismo establecer comparaciones con otros estudios porque, en general, cada autor calcula los costes de una forma distinta: calculados por ciclo de tratamiento, al parto, por nacido o por nacido sano.

Tampoco se ha encontrado la vía para calcular los costes derivados del abstencionismo laboral de las mujeres ingresadas por razones obstétricas o derivadas del tratamiento, como el síndrome de hiperestimulación.

En resumen, somos conscientes de que ni los cálculos son perfectos (probablemente están infravalorados en la Ley de Tasas, ni resultan comparables. No obstante, creemos que es un intento que debía ser realizado y que debe perfeccionarse en el futuro.

### Ventajas e inconvenientes para las pacientes

La práctica de la FIV supone una importante sobrecarga psíquica para las parejas que requieren tratamiento y, sobre todo, para la mujer. Esta sobrecarga se ve incrementada en el entorno de los centros públicos.

Circunscribiendo esta consideración a las mujeres y al ámbito de la sanidad pública, esta sobrecarga es común a todas las pacientes y se deriva del propio hecho de padecer esterilidad, de las dificultades para obtener un diagnóstico y acceder a un tratamiento, las listas de espera, la escasez de recursos y, en ocasiones, la precariedad de los existentes, etc.

El tratamiento necesario para la práctica de una FIV, en sí mismo, supone una serie de servidumbres y provoca determinadas incertidumbres que generan angustia.

Entre las incertidumbres cabe señalar las dudas que se plantean las pacientes sobre la respuesta ovárica, sobre si se producirá o no la fecundación, sobre si la calidad embrionaria permitirá o no la implantación, etc.

Entre las servidumbres es necesario comentar que el tratamiento supone que la paciente se administre medicación a lo largo de dos ciclos menstruales, acuda a diversos controles que suponen una alteración de su vida familiar, social y laboral, sufra exploraciones e intervenciones invasivas y asuma determinados riesgos, etc.

En el caso de que se concluyera que el protocolo propuesto en el presente estudio, estímulo con FSHr bajo supresión hipofisaria con GnRHant administrado simultáneamente a la FSHr, es eficaz y eficiente, las pacientes así tratadas verían reducido su tratamiento a un único ciclo menstrual y ello supone, aproximadamente

entre 6 y 12 días menos de administrarse medicación. Por otra parte, disminuye tanto el riesgo de desarrollar quistes ováricos, que pueden alterar los resultados del tratamiento e incluso impedirlo como el riesgo de hiperestimulación (245).

### Valoración en términos de resultados de la estimulación

Con el fin de valorar los resultados concernientes a la estimulación ovárica, han sido considerados una serie de parámetros:

- Días de estímulo y dosis de gonadotrofinas utilizada

Desde el inicio de la utilización de los GnRHant en fecundación in vitro fue inevitable comparar todos los parámetros habitualmente considerados para valorar tanto los efectos obtenidos, como los posibles beneficios y los eventuales efectos indeseables con los observados con el empleo de GnRHa.

De esta forma, Albano y cols compararon el resultado obtenido en 188 pacientes tratadas con GnRHant (0,25 mg/día de Cetorelix a partir del día 6 del ciclo) con el obtenido en 85 pacientes tratadas con 4 dosis/día de Buserelina. Observaron que el número de días de estimulación fue significativamente menor en el grupo de pacientes tratadas con Cetorelix; las tasas de fecundación, división y embarazo fueron similares en los dos grupos (266). Similares observaciones fueron publicadas por Cocía y cols después de llevar a cabo una revisión de la literatura (289) y por Hwang y cols (168), quienes propusieron un protocolo con antagonistas y hMG inmediatamente después de un ciclo de tratamiento con Diane 35®. También las pacientes tratadas por Moraroglu y cols requirieron menos días de estimulación (290).

Habiendo sido demostrado que, debido a la existencia de receptores de GnRH en las células granulosas humanas, esta neurohormona y sus análogos agonistas inhiben la producción de estradiol y progesterona. Considerando que la acción de los antagonistas podría ser distinta en este sentido, Lin y cols desarrollaron un estudio con el objetivo de valorar in vitro la acción de un agonista (Buserelina) y de un antagonista (Cetrorelix) sobre la granulosa luteinizada procedente de mujeres tratadas mediante FIV. Ambos grupos fueron tratados con hMG. Estos autores concluyeron que la función lútea se ve menos afectada por el tratamiento con antagonista que por el tratamiento con agonista(47). Estas observaciones fueron, más tarde, confirmadas por Mitwally y cols, autores que atribuyeron esta acción a una posible alteración de la expresión o la activación de los receptores de LH en las células granulosas (291).

Albano y cols, (como Grupo Europeo de Estudio de Cetrorelix) realizaron un estudio en el que fueron incluidas 188 mujeres que fueron tratadas con antagonista (0,25 mg/día a partir del 6º día de tratamiento) y 85 pacientes tratadas con Buserelina en protocolo largo. Todas estas mujeres eran menores de 39 años y mostraron niveles basales normales de FSH y fueron estimuladas con hMG (266). Se evidenció que las pacientes tratadas con antagonista requirieron dosis significativamente menores de hMG que las pacientes tratadas con Buserelina.

Por su parte, el Grupo Europeo de Estudio de Orgalutran, desarrollo un estudio multicéntrico prospectivo, en el que fueron incluidas 730 mujeres en tratamiento para FIV, randomizadas para recibir Orgalutran (0,25 mg/día) o Buserelina en protocolo largo. Ambos grupos fueron estimulados con FSHr, siendo las dosis totales medias necesarias para alcanzar la estimulación adecuada 1500 UI y

1800 UI, respectivamente. El periodo de bloqueo hipofisario fue de 5 días con el antagonista y de 26 días con el agonista (292).

Vlaisavljevic y cols desarrollaron un estudio prospectivo, randomizado, comparando los resultados de 224 pacientes tratadas con antagonista (Cetrorelix) y 236 pacientes tratadas con antagonista depot (Goserelina); ambos grupos fueron pretratados con un contraceptivo oral. Fueron administradas una dosis de 3 mg de antagonista cuando el diámetro medio folicular alcanzó 12 mm. El número medio de ampollas de FSH y la duración de la estimulación fueron significativamente menores en el grupo tratado con antagonista que los del grupo tratado con agonista (25,9 vs 34,5 ampollas y 9,6 vs 12,2 días, respectivamente) (293).

En el presente estudio, no han sido halladas diferencias significativamente estadísticas respecto a la duración del periodo de estimulación. Es posible que la diferencia se deba a que, en los estudios citados, la administración de GnRHant se inició en el curso de la estimulación (día 6 en el estudio de Albano), porque la administración de GnRHant se inició cuando se observó algún folículo de 14 o más milímetros de diámetro, en el caso de Moraroglu o, en ambos casos, porque la dosis de gonadotrofinas fue sensiblemente superior.

Tampoco en el presente estudio ha podido observarse una disminución de las dosis de FSH utilizadas para alcanzar el grado de estimulación deseado, mediana 1400 rango intercuartil (1200-1625) UI en el grupo de antagonistas y mediana 1400 rango intercuartil (1150-1681) UI en el grupo de agonistas al comparar los dos grupos estudiados. Muy verosíblemente esta discordancia con los estudios previamente citados se debe a que, en todos ellos, la administración del antagonista se inició en el sexto día de la estimulación gonadotropa mientras que, en el presente

estudio, la administración del antagonista se inició al mismo tiempo que la administración de las gonadotrofinas, en el día 2º o 3º del ciclo.

Kolibianakis y cols llevaron a cabo un estudio, incluyendo 63 mujeres de edad inferior a 39 años y con IMC entre 18 y 29 Kg/m<sup>2</sup>, siendo el SOP uno de los criterios de inclusión. Estas mujeres fueron estimuladas con una dosis constante de FSHr de 200 UI/día que se inició el día 2 del ciclo y a la que se asoció, desde el mismo día, una dosis de 0,25 mg/día de antagonista (Orgalutran). Este estudio no fue comparativo.

La dosis media de FSH utilizada fue de 1760 UI, muy similar a la utilizada en el presente estudio (260).

#### **Niveles de estradiol los días de hCG, punción ovárica y transferencia (-2, 0 y 2)**

En el presente estudio se ha comprobado que los niveles circulantes de estradiol en los días -2 y 0 (día de hCG y día de punción) fueron significativamente más elevados en el grupo de agonistas que en el grupo de antagonistas, mediana 1879 rango intercuartil (1400-2500) pg/ml vs 1340 (1030-1842) pg/ml y mediana 2399 rango intercuartil (1537-3028) pg/ml vs 1609 (1206-2006) pg/ml, respectivamente. Sin embargo, no se observó diferencia alguna en los niveles circulantes de estradiol observados en el día 2 (día de transferencia) en los dos grupos estudiados 1120 (800-1450) pg/ml vs 1123 (859-1454) pg/ml, respectivamente.

Ya en el estudio prospectivo de Albano y cols (266), en el que 181 pacientes tratadas con Cetrorelix y 77 pacientes tratadas con Buserelina alcanzaron el día -2, se señaló que, en este día, el nivel circulante medio de estradiol fue

significativamente superior en el grupo de pacientes que recibió Buserelina; no se hace mención de los niveles de estradiol en los días 0 y 2. Similares resultados fueron observados en distintos estudios prospectivos randomizados (292, 294).

En resumen, los datos referentes a los niveles circulantes de estradiol observados en el presente estudio que han podido ser contrastados concuerdan con los observados en la literatura.

#### Grosor endometrial el día de hCG (-2)

El endometrio ha sido objeto de interés y estudio en relación con los tratamientos de FIV en los que se ha utilizado antagonistas de GnRH para la supresión hipofisaria. Ello se debe a que, la experiencia generalizada ha constatado que la tasa de gestación es ligeramente inferior en estos casos, cuando se compara con los ciclos en los que se ha utilizado agonistas; en general, no de forma significativa aunque sí para algunos autores (285). Ésa ha sido también la experiencia de nuestro grupo (295, 296).

Determinados estudios fueron desarrollados con el fin de determinar la causa de esta diferencia en cuanto a tasas de implantación y gestación entre agonistas y antagonistas. El estudio de Bahçeci y cols (285) permitió a estos autores afirmar que la causa no es debida a una menor calidad biológica de los embriones sino a menor receptividad del endometrio; en efecto, comprobaron que existen diferencias significativas cuando se considera la transferencia en fresco (42,3% vs 32%) pero no cuando se considera la transferencia de embriones previamente congelados, en un ciclo natural o substituido (52,2% vs 52,4%). A simlares conclusiones llegaron Eldar-Geva y cols (284).

En relación con este tema, Orvieto y cols afirmaron, después de analizar 712 ciclos de tratamiento que las pacientes tratadas con agonistas muestran un mayor grosor endometrial que las tratadas con antagonistas (240), lo que no fue corroborado por Giannaris y cols, después de ajustar por edad (297).

En el presente estudio no se han confirmado los hallazgos de Orvieto y cols.

No obstante, es posible que el espesor endometrial, tal y como puede ser registrado mediante ecografías vaginales realizadas por distintos observadores no sea lo relevante que puede ser la biología de ese endometrio. En este sentido, cabe señalar que han sido realizados estudios de biología molecular que han señalado la existencia de diferencias en la expresión de distintos genes y proteínas entre endometrios de mujeres que han sido pretratadas con antagonistas respecto de las que han sido pretratadas con agonistas (286, 287).

- Rackow y cols valoraron mediante histoquimia la expresión de HOXA 10, un regulador de la receptividad endometrial en biopsias de endometrio tomadas 11 días después de la administración de hCG o del pico de LH ciclos naturales, tratados con agonistas y tratados con antagonistas. Observaron que la expresión de HOXA 10 está significativamente disminuida en las células del estroma endometrial en ciclos tratados con antagonista y en ciclos naturales, no existiendo diferencias en las células glandulares. Concluyeron que el uso de antagonistas podría afectar a la receptividad uterina (286).

- Considerando que un adelanto en la maduración endometrial superior a 3 días nunca se asocia a gestación evolutiva, fue analizada la expresión genética en endometrio humano el día de la punción, en ciclos estimulados con FSHr y antagonista. En el estudio fueron incluidas 47 pacientes a las que les fueron



transferidos 1 ó 2 embriones en día 3. El fechado endometrial se realizó de acuerdo con los criterios de Noyes (288) y se analizó la expresión genética.

Los endometrios mostraron un avance en la maduración (días +2 a +4) y las gestantes correspondieron a días +2 y +3. Al comparar los endometrios de día +2-3 con día +4 los resultados del microarray mostraron un aumento de la expresión de SERPINB6, FOXO3A, SOX17 and CDC42 y una disminución de la expresión de NRP1, HOXA10 and OSF2. Se concluyó que, en ciclos estimulados, la expresión genética endometrial el día de la punción discrimina entre mujeres con y sin avance de la maduración endometrial excediendo 3 días y apoya los criterios histológicos de Noyes (287).

### **Niveles de progesterona los días de punción y transferencia (0 y 2)**

Los niveles circulantes de progesterona observados en el presente estudio en el día de la punción ovárica fueron significativamente superiores en el grupo de pacientes tratadas con antagonista respecto al grupo tratado con agonista. No ha sido posible contrastar este hallazgo con otros similares en la literatura existente. No obstante, parece razonable que así sea, de acuerdo con las observaciones de Beckers y cols, quienes comprobaron que la recuperación hipofisaria después de la administración de antagonistas es inmediata, lo que conlleva un rápido incremento de los valores de progesterona, LH dependientes (298) unido a la acción de la hCG administrada, aunque sigue siendo necesario un tratamiento de soporte de la fase lútea.

Los niveles de progesterona obtenidos en el día 2 no muestran diferencias y, sin duda, reflejan, la acción de la hCG administrada en ambos grupos.

Sin duda este estudio se habría enriquecido si hubieran sido practicadas determinaciones de progesterona en el curso de la estimulación, en el día de administración de hCG, por ejemplo, A esta determinación se le ha dado importancia para valorar la efectividad de los antagonistas en la prevención de la luteinización precoz. Así, por ejemplo, Albano y cols señalaron que una elevación de progesterona se producía en el 1,6% de los casos por ellos estudiados (266); Felberbaun y cols observaron este mismo fenómeno en el 0,9% de sus casos (257). Algunos autores, como Bosch y cols marcaron un punto de corte en los niveles de progesterona (1,2 ng/mL) para determinar la frecuencia con que se observa la luteinización precoz en ciclos tratados con antagonistas; estos autores estimaron que la luteinización precoz se observa en el 38% de los casos, casos que cursan con tasas de implantación y gestación significativamente bajas (299). Sin embargo, un reciente metanálisis no ha encontrado relación alguna entre el nivel de progesterona medido en el día de administración de hCG y la probabilidad de que se establezca un embarazo (300).

Como ya se justificó, en el presente estudio, no se practicaron determinaciones extra de progesterona porque, con el fin de que no fuera considerado un ensayo clínico, todas las intervenciones se limitaron a los protocolos habituales del centro.

### Tasa de cancelación del tratamiento

No resulta fácil establecer paralelismos o diferencias en cuanto a la tasa de cancelación en distintas series de pacientes estimuladas con el fin de practicar una FIV porque aquella va a depender de distintos factores, como edad y causa de

esterilidad de las pacientes, protocolo de tratamiento y dosis inicial de gonadotrofinas, etc.

En el caso que nos ocupa, conviene señalar que se trata de dos grupos teóricamente homogéneos (mujeres diagnosticadas de SOP) y sin diferencias en cuanto a edad, IMC, etc. entre los grupos; no obstante podrían existir diferencias en aspectos que no han sido estudiados porque, desde la reunión de consenso de Rotterdam (33), han quedado fuera de los criterios diagnósticos, como la relación LH/FSH, por ejemplo, y estos aspectos podrían marcar diferencias.

Por otra parte, conviene hacer dos puntualizaciones:

- El manejo de las gonadotrofinas en este estudio se ha caracterizado por la administración de dosis iniciales muy bajas, con el fin de evitar las situaciones de riesgo de desarrollar un síndrome de hiperestimulación ovárica y, posiblemente, por esta causa, han sido cancelados 5 ciclos en cada uno de los grupos estudiados. Verosíblemente, durante el periodo de reclutamiento, en estos ciclos la dosis de FSHr administrada no superó el dintel necesario para inhibir los mecanismos intraovárica de regulación, produciéndose los fenómenos de selección y dominancia, lo que llevó a la cancelación.
- Los criterios de cancelación ante el riesgo de hiperestimulación han sido muy estrictos, no sólo porque ello forma parte de la conducta habitual en el centro sino, además, porque, en la época en la que se realizó el estudio, no se consideró nunca la posibilidad de llegar a la punción evitando la transferencia y vitrificando los embriones.

Ha sido cancelado un 11,9% de los ciclos, lo que supone una tasa de cancelación elevada, si se compara con el 3,8% que observaron Felberbaum y cols. (257) y el 1,6% que observaron Ludwig y cols. (301) en un grupo de 188 mujeres, aunque éstos se refirieron sólo a cancelaciones por riesgo de hiperestimulación y no se trataba de mujeres diagnosticadas de SOP. Como en el presente estudio, estos mismos autores observaron que el porcentaje de cancelaciones por riesgo de hiperestimulación era menor en el grupo tratado con antagonistas que en el grupo tratado con agonistas (1,6% y 5,9%, respectivamente).

Doldi y cols desarrollaron un estudio destinado a valorar el papel de la Metformina como tratamiento asociado a la FIV, incluyendo en el mismo 40 pacientes diagnosticadas de SOP; todas ellas fueron tratadas con antagonistas. De las 40 pacientes que iniciaron el tratamiento, 4 fueron canceladas, lo que supone un 10%. Este porcentaje de cancelaciones es superior al observado en el presente trabajo (5,7% en el grupo de antagonistas) (157).

Kolibianakis y cols no describen diferencias en las tasa de cancelación por riesgo de hiperestimulación en función del supresor hipofisario utilizado (302) Griesinger en un metanálisis en el que se describe un subgrupo de pacientes diagnosticados de SOP tampoco encuentra diferencias estadísticamente significativas aunque si se aprecia una ligera tendencia de cancelaciones por hiperrespuesta a favor del grupo agonista RR 0,73 IC95% 0,22-2,38 sin que sea estadísticamente significativa.

En general, se citan menores porcentajes de cancelación de la estimulación con el empleo de antagonistas en relación con el empleo de agonistas. Esto, al menos en el caso de las mujeres con baja respuesta podría estar en relación, como

sugieren Mahutte y cols (303) porque el empleo de antagonistas permite decidir iniciar o no la estimulación valorando en el mismo ciclo la “reserva ovárica” mediante el recuento de folículos antrales o cualquier otro método válido.

En contraposición con lo aquí observado, Moraroglu y cols no encontraron diferencias significativas al comparar los resultados de un grupo de pacientes tratadas con antagonistas (n= 45) con los de un grupo de pacientes tratadas con agonistas (n= 48). No obstante, se trataba de mujeres normorespondedoras, siendo criterios de exclusión el SOP, la edad superior a 38 años(250),

#### **Número de folículos desarrollados y diámetro folicular**

Desde la introducción de los antagonistas como tratamiento adyuvante en FIV, se constató que el número de folículos desarrollados obtenido con este tipo de protocolos era inferior (aunque no siempre de forma significativa, en dependencia del número de casos de las distintas series), con respecto al obtenido con agonistas en protocolo largo. En este sentido, Albano y cols llevaron a cabo un estudio en el que incluyeron 237 mujeres menores de 39 años con niveles de FSH y ecografía normal; 188 de ellas fueron tratadas con Cetorelix y 88 con Buserelina. Observaron que el número de folículos de 11 a 14 mm de diámetro era significativamente mayor en el grupo tratado con Buserelina, aunque las tasas de implantación y gestación no mostraron diferencias significativas (266). Similares observaciones obtuvieron Ludwig y cols (301), autores que relacionaron este hecho con la menor incidencia de cuadros de hiperestimulación ovárica.

En el mismo sentido, Borm y cols, en un estudio comparativo antagonistas/agonistas observaron que el número medio de folículos de diámetro

mayor de 11 mm fue, el día de hCG 10,7 en el caso de los antagonistas y 11,8 en el caso de los agonistas, ciclos en los que también fue mayor el nivel circulante de estradiol (1700 pg/mL vs 1190 pg/mL) (292).

Analizando este problema, De Jong y cols realizaron un estudio prospectivo destinado a determinar si la disminución del número de folículos desarrollados podía estar relacionada con la dosis de antagonista, es decir, si se trataba de un fenómeno dosis-dependiente. Incluyeron en el estudio 311 pacientes, que fueron randomizadas para recibir distintas dosis de antagonista. Se pudo comprobar que el número de folículos al término de la estimulación es independiente de la dosis de antagonista administrado (304).

Weiss y cols desarrollaron un estudio in vitro destinado a determinar si los antagonistas podrían afectar el sistema IGF en el ovario, alterando así la foliculogénesis y comprobaron que este sistema no se ve afectado por la acción de los antagonistas (305).

Fue comprobado que los resultados observados en cuanto a intensidad de la foliculogénesis no se modifican aunque se incremente la dosis de hMG o se adicione LHr al tiempo de iniciar la administración de antagonistas (306, 307).

Las discrepancias observadas entre los resultados aquí expuestos y los obtenidos por los autores citados se deben, verosímelmente, a que, en todos los estudios aquí comentados, la administración del antagonista se inició a partir del 6º día de la estimulación (protocolo fijo) o en dependencia del tamaño folicular, en general 14 mm (protocolo flexible), mientras que, en el presente estudio, la administración del antagonista se inició simultáneamente a la estimulación (día 2-3 del ciclo).

No nos ha sido posible encontrar los datos necesarios en la literatura a propósito del diámetro del mayor de los folículos medidos ecográficamente el día de hCG, a propósito del cual en este estudio no se han objetivado diferencias significativas entre los grupos estudiados, lo que parece razonable, puesto que la indicación de hCG se hizo siempre en función del tamaño folicular y con los mismos criterios en ambos grupos.

#### Número de ovocitos y ovocitos Metafase II obtenidos

En el presente estudio fue obtenido en la punción folicular una mediana de 11 rango intercuartil (8-16) ovocitos en el grupo de mujeres tratadas con antagonistas y de 13(8-15) ovocitos en el grupo de mujeres tratadas con agonistas. La mediana de ovocitos metafase II obtenido fue de 8 (4-12) en el grupo de antagonistas y 8 (5-12) en el grupo de agonistas. Las diferencias observadas no alcanzaron, en ninguno de estos dos parámetros, significación estadística.

Borm y cols compararon los resultados obtenidos en un grupo de 730 mujeres no seleccionadas que fueron randomizadas (2:1) y tratadas con FSHr y antagonista o con FSHr y agonista, respectivamente. El número de ovocitos obtenidos fue, respectivamente de 9,1 y 10,4, no observándose diferencias estadísticamente significativas (292). Estos valores, aunque correspondientes a mujeres no seleccionadas (las del presente trabajo son mujeres diagnosticadas de SOP) concuerdan con los aquí observados; probablemente, la razón es que las dosis de gonadotrofinas utilizadas aquí han sido muy bajas para evitar respuestas ováricas excesivas. Ludwig y cols tampoco encontraron diferencias estadísticamente significativas en cuanto al número de ovocitos obtenidos al comparar los resultados

de una serie de ciclos en que se utilizó antagonista con los de otra simultánea en la que se utilizó Buserelina (301).

Wikland y cols (308) desarrollaron un estudio randomizado con el fin de comparar el número de ovocitos obtenidos con dos dosis iniciales (150 UI/día, 60 mujeres y 225 UI/día, 60 mujeres) de FSHr asociada a múltiples dosis de antagonista en protocolo fijo (6° día). El número de ovocitos obtenidos fue  $9,1 \pm 4,4$  con la dosis baja y  $11 \pm 4,6$  con la dosis alta. Estos resultados son similares a los obtenidos en este trabajo. Cabe considerar que en el estudio de estos autores se trataba de mujeres no seleccionadas, mientras que en el presente estudio se trataba de mujeres diagnosticadas de SOP.

El interés de los investigadores se ha dirigido, en ocasiones, a disminuir el coste del tratamiento y a hacer el mismo más llevadero y con menos riesgo; por esta razón, algunos protocolos han recibido el apelativo de “*friendly stimulation*”. Una de las modalidades estudiadas ha sido la de iniciar la estimulación con citrato de clomifeno para continuarla con gonadotrofinas y asociar antagonista. Williams y cols (309), en un estudio retrospectivo evidenciaron que el número de ovocitos obtenidos en los ciclos estimulados con clomifeno era significativamente menor ( $4,8 \pm 2,6$ ) que en los ciclos estimulados con un protocolo largo de agonista ( $16,2 \pm 7,5$ ). No obstante el menor coste por ciclo del protocolo “amigable” o “suave”, Mansour y cols afirmaron que este tipo de tratamientos no es coste/efectivo porque obtener una gestación cuesta aproximadamente el doble si se compara con el coste del tratamiento mediante protocolo largo (261). Sin embargo, Polinder y cols desarrollaron un estudio muy interesante en el que compararon la relación coste-beneficio de una estimulación suave con transferencia de un solo embrión con el tradicional de agonista en protocolo largo con transferencia de dos embriones (430



pacientes, en total). A pesar de que en el primer supuesto fueron necesarios más ciclos para alcanzar una gestación, concluyeron que ésta era la estrategia más rentable en términos de coste-efectividad (8.333 € vs 10.745 €) y ello debido a las consecuencias de las gestaciones múltiples (310).

Vlaisavljevic y cols, llevaron a cabo un estudio prospectivo en el que fueron incluidas 236 pacientes en un grupo tratado con un agonista depot (Goserelina) y 224 pacientes que recibieron una dosis de 3 mg de antagonista cuando el folículo mayor alcanzó un diámetro de 12 cm. Unas y otras recibieron previamente contraceptivos. El número de ovocitos obtenidos en uno y otro grupo fue similar ( $6,7\pm 4,5$  vs  $7,2\pm 4,6$ ). Probablemente, ello se debió al pretratamiento con contraceptivos, que no ha sido utilizado en el presente estudio.

Algunos autores, como Mochtar y cols compararon el número de ovocitos obtenidos utilizando antagonista en protocolo fijo con el obtenido utilizando el antagonista en protocolo flexible; estos autores observaron que fueron obtenidos significativamente más ovocitos cuando se utilizó el protocolo fijo (277).

Li y cols (311) desarrollaron un estudio retrospectivo caso-control, en el que incluyeron 81 pacientes que fueron estimuladas en 105 ciclos con agonistas y en 88 ciclos con antagonista. Afirmaron que no se observaban diferencias significativas en cuanto al número de ovocitos obtenidos con uno u otro protocolo. A similares resultados llegaron Moraroglu y cols(250).

Sin embargo, un metanálisis realizado por Franco y cols (312) les llevó a concluir que el número de ovocitos obtenido tras estimular con gonadotrofinas asociadas a agonista en protocolo largo es significativamente mayor que el obtenido tras estimular con gonadotrofinas asociadas a antagonistas.

Respecto al número de ovocitos metafase II, Olivennes y cols, en un estudio prospectivo y randomizado cuyo objetivo fue valorar distintas dosis de antagonista, evidenciaron que el porcentaje de ovocitos maduros obtenido es independiente de la dosis de antagonista (258). Por su parte, Engel y cols, estimulando con clomifeno seguido de FSHr o hMG obtuvieron una media de  $6,34 \pm 4,4$  ovocitos en estadio MII (313), cifra inferior a la obtenida en el presente estudio lo que parece justificable por las diferencias en el protocolo de estimulación.

#### Tasas de Fecundación en FIV y en ICSI

En el presente estudio fueron observadas tasas de fecundación en FIV muy similares en ambos grupos: 82,8% en el grupo tratado con antagonistas y 82,3% en el grupo de pacientes tratadas con agonistas. Del mismo modo, también fueron muy similares las tasas de fecundación observadas tras la práctica de ICSI (72,2% en el grupo de antagonista y 75,2% en el de agonista). Obviamente, no se observaron diferencias significativas.

Por otra parte, las tasas de fecundación observadas fueron similares, cuando no superiores a las referidas por distintos autores.

Diedrich y cols, en 1994, analizaron los resultados de la estimulación con hMG realizada a 20 pacientes a las que se administró Cetorelix a partir del 7º día y señalaron que la tasa de fecundación era similar a la habitualmente observada en los ciclos en que se bloquea la hipófisis con agonistas (254). Resultados concordantes obtuvieron Albano y cols (266) al comparar los resultados obtenidos en el tratamiento de 188 pacientes normorespondedoras en las que se utilizó antagonista a

dosis diaria desde el 6º día con los observados en 85 pacientes en las que se utilizó Buserelina en protocolo largo.

Born y cols comunicaron tasas de fecundación similares en un estudio prospectivo que incluyó 730 mujeres en las que el bloqueo hipofisario se realizó randomizadamente con antagonista o con agonista: 62% en ambos grupos (292). Resultados similares fueron obtenidos por Vlaisavljevic y cols (293) y por Moraroglu y cols (250).

Felberbaum y cols estimularon 346 mujeres de función ovárica normal utilizando hMG y Cetrorelix en dosis diaria a partir del 6º día (257). Las tasas de fecundación obtenidas por estos autores fueron de 60% en FIV y 59% en ICSI.

### Calidad de ovocitos y embriones

No resulta fácil hacer comentarios a propósito de la calidad de ovocitos y embriones y comparar la misma entre dos grupos de pacientes a las que se ha practicado una FIV ya que los criterios de valoración no están perfectamente establecidos y, al menos en parte, son especulativos.

En efecto, para ello, se dispone para ambos (ovocitos y embriones) de criterios morfológicos, su aspecto microscópico, y de criterios funcionales: la capacidad de ser fecundados (para los ovocitos) y la capacidad de implantación (para los embriones). Sin embargo, por lo que respecta a los ovocitos, la fecundación no depende exclusivamente de la calidad ovocitaria, puesto que también el espermatozoide juega un papel y, por lo que respecta a la implantación, también juegan un papel la calidad espermática y la receptividad endometrial.

En otras palabras, la calidad de ovocitos y embriones sólo puede ser valorada parcial e indirectamente.

Por otra parte, este estudio ha sido desarrollado en el contexto de un programa de FIV asistencial y ni los ovocitos ni los embriones han sido sometidos a exploraciones especiales que quizás hubieran permitido una mejor valoración morfológica o funcional pero que hubieran requerido otro tipo de equipamiento de laboratorio o hubieran resultado deletéreas para el resultado clínico de la FIV.

Han sido hechos los comentarios oportunos a propósito del número de ovocitos y del número de ovocitos maduros y fecundables obtenidos en cada uno de los grupos, entre los que no se observaron diferencias significativas, de forma concordante, en general, con la literatura.

También se ha tratado las tasas de fecundación en FIV clásica y en ICSI, a propósito de las cuales tampoco se observaron diferencias significativas entre los grupos estudiados.

En los epígrafes siguientes se tratará de las tasas de gestación e implantación.

En consecuencia, el presente espacio se destinará a establecer algunos comentarios a propósito de la calidad embrionaria, desde el punto de vista morfológico. Este parece un aspecto particularmente interesante ya que, en general, la tasa de gestación tiende a ser inferior en los ciclos en que se utiliza antagonista, aunque, con frecuencia, sin que se alcancen diferencias estadísticamente significativas.

Esta ligeramente menor tasa de gestación podría ser atribuida a una menor calidad biológica de los embriones transferidos. Sin embargo, como se ha comprobado a través de la transferencia de embriones obtenidos bajo tratamiento con antagonistas, incluso a dosis elevadas, criopreservados y, ulteriormente transferidos (152, 207), no parece que la calidad biológica de ovocitos y embriones se vea afectada por la acción de los antagonistas.

Así parece ocurrir en el presente trabajo, en el que 60 embriones (28,7%) de tipo A y 77 (36,8%) de tipo B de la clasificación de ASEBIR fueron transferidos en el grupo de antagonista. Estas cifras son ligeramente superiores, aunque sin diferencias estadísticamente significativas, a las observadas en el grupo de agonistas: 19,6% y 42,9%, respectivamente.

Similares observaciones fueron comunicadas por Borm y cols (292), Vlasisavljevic y cols (293) y Takahashi y cols (314), entre otros autores cuyos resultados son concordantes con los aquí obtenidos.

### **Tasa de Gestación**

En este estudio ha sido considerada la tasa de gestación por ciclo iniciado, no siendo utilizadas las tasas por punción o por transferencia, considerando que aquélla refleja mejor la realidad de los resultados de la FIV.

En el total de los ciclos se produjeron 76 gestaciones clínicas, lo que supone una tasa de 27,3%: 34 de ellas, lo que supone una tasa de gestación de 27,6%, en el grupo de mujeres tratadas con antagonistas y las 42 restantes, lo que supone una tasa de gestación de 27,1% en el grupo de pacientes tratadas con agonistas, RR 1,028; IC 95% 0,605-1,747, ligera tendencia a favor del grupo antagonista.

Olivennes y cols publicaron un estudio que incluyó 17 mujeres tratadas con hMG y Cetorelix en el que la tasa de gestación por transferencia fue de 25% (315).

Las tasas de gestación observadas por Albano y cols (266), al comparar 188 casos tratados con antagonista y 85 casos tratados con agonista no mostraron diferencias entre ambos grupos.

Borm y cols randomizaron 730 pacientes en un estudio prospectivo, utilizando, para el bloqueo hipofisario, Buserelina y Ganirelix. Estas pacientes fueron estimuladas con FSHr. Las tasas de gestación clínica observadas fueron, respectivamente, 25,7% y 20,3%, sin observarse diferencias significativas (292). Tasas de gestación clínica similares (24%) fueron comunicadas por Felberbaum y cols (257). Olivennes y cols tampoco observaron diferencias significativas al comparar, en un estudio prospectivo randomizado, los resultados de un grupo de mujeres tratadas con Cetrotide® con los de un grupo tratado con Decapeptyl® (258). Similares resultados fueron comunicados por Akman y cols (294).

Ludwig y cols (265) llevaron a cabo un metanálisis en el que fueron analizados los resultados de los tratamientos realizados con antagonistas comparándolos con los realizados con agonistas en protocolo largo. Obtuvieron resultados discordantes para Ganirelix y Cetorelix, siendo este último más efectivo en disminuir la prevalencia del SHEO y produciendo tasas de gestación similares a las de los agonistas.

Algo distintos fueron los resultados de la revisión sistemática realizada por Al-Inani y cols (273), en la que se observó significativamente menos embarazos en los ciclos tratados con GnRHant (OR 0,79; 95% IC 0,63 – 0,99).

Respecto a las tasas de gestación obtenidas, resulta interesante el estudio de Bosch y cols, en el que se evidenció que son bajas cuando se observa luteinización prematura (25,8%) mientras que son significativamente más altas (54%) cuando la luteinización no se produce (299).

Sin embargo, Check y cols, comparando los resultados, en términos de tasa de gestación, entre ciclos en los que se utilizó Ganirelix y ciclos en los que se utilizó acetato de Leuprolide en protocolo largo, no observaron diferencias (316).

Kolibianakis y cols compararon, en un estudio prospectivo, los resultados entre dos grupos en uno de los cuales la administración de antagonista se inició el día 1 del ciclo mientras que en el otro se inició en día 6. La tasa de gestación fue similar en ambos grupos (152).

De particular interés es el estudio prospectivo desarrollado por Lainas y cols (170) en el que 78 pacientes de 18 a 39 años, diagnosticadas de SOP fueron randomizadas en dos grupos: un grupo de 26 mujeres fue tratado con antagonistas desde el día 1 del ciclo y el otro, de 52 mujeres, fue tratado con agonista en protocolo largo. En ambos grupos la dosis inicial de FSHr, en el día 2 del ciclo, fue de 150 UI. Las tasas de gestación clínica fueron 57,7% en el grupo de antagonistas y 61,5% en el grupo de agonistas; las tasas de síndrome de hiperestimulación ovárica moderado/severo fueron, respectivamente, 11,4% y 38,46%. Aunque superiores, estos resultados son concordantes con los observados en el presente estudio.

### **Tasa de implantación**

En el presente estudio fue observada una tasa de implantación global de 21,2%, 19,3% en el grupo de antagonistas y de 22,8% en el grupo de agonistas, no

siendo la diferencia observada estadísticamente significativa, RR 0,878; IC 95% 0,499-1,543, tendencia a favor del grupo agonista.

Borm y cols desarrollaron un estudio multicéntrico, randomizado comparando un grupo de ciclos en que se utilizó antagonista con otro en que se utilizó agonista (Buserelina), con un total de 730 ciclos. La estimulación se realizó con FSHr. Las tasas de implantación fueron de 15,7% y de 21,7% en los grupos de antagonista y agonista, respectivamente (292). Los resultados son concordantes con los aquí obtenidos.

En un estudio desarrollado por Felberbaum y cols que incluyó 346 mujeres (hMG y Cetorelix en pauta fija), de las que a 324 les fue practicada la punción ovárica, se comunicó una tasa de implantación evolutiva de 11,4% (257). Este parámetro no ha sido incluido en nuestro estudio.

El estudio desarrollado por Check y cols, comparando Ganirelix y acetato de leuprolide no mostró diferencias significativas en la tasa de implantación (316). Resultados similares fueron obtenidos por Barman y cols (317): 22,2% para el grupo de antagonista y 26,4% para el grupo de agonistas.

Pabuccu y cols valoraron específicamente las tasas de implantación en 246 ciclos de ICSI practicados a 246 mujeres diagnosticadas de endometrioma y clasificadas en función de la severidad. Las mujeres de cada grupo fueron randomizadas para recibir Triptorelina o Cetorelix. Concluyeron, con tasas de implantación que oscilaron, según los grupos, entre 12,5% y 22,6%, que las tasas de implantación pueden ser tan efectivas con antagonistas como con agonistas en pacientes afectas de endometriosis con antecedentes o no de cirugía ovárica (318).



Kurzawa y cols desarrollaron un estudio prospectivo randomizado que incluyó 70 pacientes no obesas diagnosticadas de SOP; de ellas, 33 recibieron antagonistas y 37 recibieron agonistas. La tasa de implantación fue similar en ambos grupos (319)

### Síndrome de hiperestimulación ovárica

Como ha sido señalado en la introducción, el síndrome de hiperestimulación ovárica es la complicación más temible de la estimulación ovárica con gonadotrofinas para FIV. Potencialmente mortal, evitarlo ha sido una preocupación constante, desde que se inició la práctica de la FIV.

No es éste el marco adecuado para tratar de este síndrome. Basta señalar que está en relación con la intensidad y persistencia de la acción de hCG y la masa de células granulosas luteinizadas, que las mujeres diagnosticadas de SOP y aquellas cuyo nivel de estradiol circulante supera los 4.000pg/mL antes de hCG son población que muestra un incremento del riesgo de desarrollar este síndrome tras FIV, como señalaron Navot y cols tras realizar una revisión de la literatura internacional (320) y Delvigne y cols tras analizar los resultados de un estudio multicéntrico en Bélgica (268). En este mismo trabajo, estos autores afirmaron que la mejor forma de prevenir el desarrollo de este síndrome es suspender el tratamiento, no administrando hCG.

Al margen de otras consideraciones, las consecuencias más directas del síndrome de hiperestimulación ovárica y de la prevención del mismo son la incidencia del síndrome y la cancelación de tratamientos como forma de prevenirlo.

En el presente estudio fueron cancelados por riesgo de hiperestimulación 2 ciclos en el grupo de antagonistas y 21 en el grupo de agonistas, siendo la diferencia observada estadísticamente significativa con un RR de 9,41; IC95%: 2,18-41,28 que indica que el número de ciclos cancelados en el grupo agonistas fue 9,41 veces superior al grupo de los antagonistas y por tanto el tratamiento con Antagonistas es más seguro que el tratamiento con Agonistas. El número mínimo de sujetos a tratar (NNT) es 8. Es decir por cada 8 ciclos de tratamiento con antagonista se evita una cancelación por riesgo de hiperestimulación.

Por otra parte, en el grupo de antagonistas se produjo una hiperestimulación leve que requirió 4 días de ingreso hospitalario, mientras que en el grupo de agonistas se produjeron 5 ingresos hospitalarios por síndrome de hiperestimulación que requirieron estancias marcadamente más prolongadas.

Salat-Baroux y cols afirmaron que el empleo de agonistas de GnRH no disminuye la frecuencia de desarrollo del síndrome de hiperestimulación ovárica (137); muy al contrario, probablemente porque la utilización de agonistas induce un aumento del reclutamiento folicular (321), se comprobó, en estudios prospectivos y randomizados que, si bien disminuye la tasa de cancelación, incrementa la incidencia del síndrome de hiperestimulación ovárica (246).

Por el contrario, se comprobó que la incidencia del síndrome de hiperestimulación ovárica se ve disminuido cuando la estimulación con gonadotrofinas para FIV se realiza bajo supresión hipofisaria con antagonistas (258).

Los resultados obtenidos en el presente estudio concuerdan con los observados previamente en la literatura (258), con la particularidad de que todas las

---

pacientes incluidas en el mismo habían sido previamente diagnosticadas de SOP (301). En concreto, la incidencia del síndrome de hiperestimulación ovárica en el grupo de antagonistas fue del 0,8%, muy similar a la observada por Felberbaum y cols (257), que fue del 0,6%, con la particularidad de que, en su estudio, se trataba de mujeres de función ovárica normal.

Particular interés tiene el hecho de que el antagonista utilizado en este estudio ha sido, como se expuso en material y métodos, Ganirelix, fármaco acerca del cual se había afirmado que, a diferencia de Cetrorelix, no disminuye la incidencia del síndrome de hiperestimulación. En el presente estudio ha sido evidenciado que sí lo hace.

Como describe Lainas (170), la ventaja de comenzar la supresión con antagonistas de la GnRH desde el inicio de estimulación ovárica supone una disminución precoz de los niveles de LH. La supresión precoz, mantenida, duradera y sin efecto flare up podría suponer dos ventajas para estas pacientes: por un lado produciría una correcta maduración folicular evitando la luteinización prematura del folículo, obteniendo más ovocitos metafase II y por otro evitaría las cancelaciones del ciclo por riesgo de hiperestimulación ovárica.

### Tasa de aborto

La tasa de aborto observada en este estudio ha sido de 21,5%, siendo de 25,0% en el grupo de antagonista y de 18,9% en el grupo de agonista, RR 1,385; IC95% 0,501-3,834. La diferencia hallada no mostró diferencias significativas.

En el estudio ya citado de Felberbaun, en el que la tasa de gestación clínica por transferencia fue de 24%, la tasa de aborto fue de 17%, ligeramente inferior a la aquí observada (257).

Olivennes y cols obtuvieron una tasa de aborto del 9% en el seguimiento de una serie de 68 gestaciones, fruto de un ensayo clínico; se produjo el nacimiento de 46 fetos únicos, 12 gemelares y 1 triple (10).

La tasa de aborto, sin embargo, se elevó hasta el 25% en un estudio llevado a cabo por Takahashi y cols, que incluyó 40 mujeres con fracasos previos de FIV o ICSI (314).

### Tasa de gestación múltiple

La tasa global de gestación múltiple observada en este estudio fue de 23,5%, siendo de 17,8 para el grupo tratado con antagonista y de 27,5% para el grupo tratado con agonista, RR 0,573; IC 95%: 0,174-1,885, ligera tendencia de la gestación múltiple hacia el grupo agonista. En todos los casos las gestaciones múltiples fueron dobles; no hubo caso alguno de gestación triple.

Es obvio señalar que la tasa de gestaciones múltiples de un programa de FIV está directamente relacionada con la política de transferencia seguida en el mismo. La legislación española permite la transferencia de hasta 3 embriones; en otros países es más restrictiva pero existen países, como U.S.A. en los que se permite la transferencia de 4 o más embriones.

En nuestro centro se transfiere, de forma rutinaria, hasta 2 embriones (cuando se dispone de ellos) y no se ha desarrollado todavía el programa de

transferencia de un solo embrión. Sólo excepcionalmente son transferidos tres embriones. De hecho, en los ciclos incluidos en el presente estudio, la transferencia de tres embriones se produjo sólo en un total de 7 casos (3 ciclos del grupo antagonista y 4 ciclos del grupo agonista).

A pesar de que recoger la información sobre gestación múltiple puede ser considerado un aspecto de importancia, puesto que puede comprometer e incluso malograr el resultados de la práctica de la FIV, son pocas las publicaciones en que se refleja la tasa de gestaciones múltiples.

Olivennes y cols obtuvieron 68 gestaciones de las que pudieron hacer el seguimiento en 67. Dieciséis de ellas fueron múltiples, cinco de las cuales triples (10). Esto supone una tasa de múltiples del 23,5%, muy similar a la observada en el presente estudio, aunque en este caso no se produjeron triples (16,2% de dobles y 7,4% de triples, en el estudio de Olivennes).

Bahçeci y cols (322) incluyeron en un estudio prospectivo y randomizado 129 mujeres diagnosticadas de SOP de acuerdo con los criterios de Rotterdam. Se trató de mujeres que no habían seguido previamente tratamiento de FIV, no siendo incluida en el estudio ninguna pareja en la que estuviera presente el factor masculino como causa de esterilidad. Todas las mujeres tomaron un contraceptivo oral en el ciclo menstrual previo. Para conseguir el bloqueo hipofisario en 59 de ellas se utilizó Cetorelix y el 70 se utilizó acetato de Leuprolide; las restantes fueron sacadas del estudio por razones diversas. Las tasas de gestación y de gestación múltiple obtenidas para los grupos de agonista y antagonista fueron, respectivamente: gestación 58,5% y 57,6%; gestación múltiple 53,6% y 58,8%. Obviamente, la diferencia no fue significativa.

Parece obvio insistir en que la tasa de gestación múltiple no está tan relacionada con la medicación utilizada para conseguir el desarrollo folicular múltiple necesario para la práctica de la FIV como con el número de embriones transferidos. Transferir múltiples embriones (se han vivido épocas en que se transfería hasta 6 embriones por ciclo) indudablemente mejora la tasa de gestación pero, simultáneamente, disminuye la tasa de nacido vivo y, sobre todo, la de nacido sano. Además, conlleva un enorme incremento de los gastos sanitarios y sociales debido al aumento de gasto generado por los ingresos hospitalarios de la gestante (amenaza de parto prematuro, rotura prematura de membranas, etc.) y las complicaciones médicas de la gestación (diabetes, hipertensión, etc.) y por el nacimiento de prematuros y grandes prematuros.

En la actualidad, además de las limitaciones legales que existen en algunos países, entre los centros de reproducción que aspiran a una calidad elevada, se ha desarrollado la idea de tomar serias medidas para evitar las gestaciones múltiples.

### **Tasas de recién nacido, de recién nacido sano y de prematuridad**

Como consecuencia de los tratamientos realizados, se produjo el nacimiento de 66 niños/as, 28 en el grupo de antagonistas y 38 en el grupo de agonistas, lo que, considerado por grupo iniciado, supone un 22,8% en el grupo tratado con antagonista y un 24,5% en el grupo tratado con agonista, RR 0,884; IC 95%: 0,487-1,606. Por lo que respecta a las tasas de recién nacido sano a término por ciclo iniciado, fueron de 18,7% en el grupo de antagonistas y de 16,8% en el grupo de agonistas. Las diferencias observadas entre los dos grupos no alcanzaron

significación estadística, aunque se observa una ligera tendencia a favor del grupo antagonista, RR1,021; IC 95%: 0,544-1,920.

De los nacidos en el grupo de antagonista, el 4,1% fue cronológicamente prematuro, cifra inferior aunque no estadísticamente significativa al 7,8%, RR 0,670;IC 95%: 0,151-2,974, observado en el grupo de agonista. Verosímilmente esta elevada tasa de prematuridad se relaciona con el incremento de las gestaciones múltiples observada en el grupo de agonista y se asocia a un elevado porcentaje de nacidos con peso inferior a los 2.500 g, concordando, como se señala más adelante, con las observaciones de Olivennes y cols (10). Por otra parte, como se comenta más adelante, prematuridad y bajo peso tienen como consecuencia un incremento de los ingresos hospitalarios de los neonatos, con frecuencia en la Unidad de Cuidados Intensivos, lo que incrementa considerablemente los costes del tratamiento.

Son relativamente escasas las publicaciones que incluyen en la información relativa a los resultados obtenidos la tasa de recién nacidos y, en consecuencia, este dato tampoco suele figurar en las revisiones de la literatura ni en los metanálisis. Probablemente, ello se debe a que, incluir los nacimientos supone alargar el plazo de publicación y, verosímilmente, en buena parte de las series de mujeres tratadas, perder parte de los datos. No obstante, puede obtenerse el dato, con suficiente aproximación, a partir de los datos incluidos en algunas publicaciones.

En la serie de 346 mujeres incluidas en un estudio de Felberbaum y cols (257), en el que 346 mujeres fueron estimuladas con hMG bajo bloqueo hipofisario con Cetorelix en multidosis y pauta fija, se produjeron 70 gestaciones y la tasa de gestación a término (calculada) por ciclo iniciado fue de 16,8%. No obstante, esta cifra no corresponde a la de nacidos por ciclo.

Con el objetivo de completar el análisis de los ensayos clínicos en fases II y III realizados utilizando el antagonista Cetorelix, Ludwig y cols recogieron la información relativa a los nacidos hasta marzo 99, como consecuencia de la hiperestimulación ovárica controlada para FIV en estudios prospectivos, bajo tratamiento con aquél (265). El estudio incluyó 209 nacidos tras transferencia en fresco y 18 nacidos tras transferencia de embriones criopreservados.

Estos nacidos fueron el fruto de del 76,2% de las gestaciones obtenidas en las series analizadas. En otras palabras, esa fue la tasa de parto y el resto, 23,8% correspondió a abortos, abortos inducidos y ectópicos. La tasa de malformaciones fue de 3,1%.

De las 333 pacientes randomizadas en un estudio multicéntrico con el objetivo de valorar el efecto de distintas dosis de Ganirelix fueron obtenidas 68 gestaciones (46 simples, 12 dobles y una triple), de las que a una no pudo serle realizado el seguimiento (10). Fueron observados siete abortos entre las 67 gestaciones seguidas y hubo, además, una muerte fetal intraútero en la semana 27 de gestación. En total hubo 73 nacidos (33 niños y 40 niñas), cuyo peso fue mayor de 2.500 g en 54 de los nacidos (91,3% de los fetos nacidos de gestaciones únicas y 45,8% de los fetos nacidos de gestaciones múltiples). Se recogió una malformación mayor.

En resumen, estos datos suponen una tasa de parto de 17,7%, una tasa de recién nacido de 21,9% y una tasa de recién nacido sano de 16,2%, todas ellas por ciclo iniciado. Se trata de resultados concordantes con los obtenidos en el presente estudio exclusivamente en el grupo de antagonistas, puesto que el estudio de



Olivennes y cols ahora comentado tan solo se refirió a ciclos en los que se utilizó antagonista.

Check y cols (316) valoraron los resultados de una serie de pacientes estimuladas con 300 UI de gonadotrofinas (FSH y hMG) que fueron randomizadas para recibir Ganirelix en pauta flexible (folículo de 14 mm de diámetro) o acetato de Leuprolide en protocolo largo. Como en el estudio aquí presentado, no hallaron diferencias significativas entre los dos grupos estudiados en cuanto a tasa de parto.

Vlaisavljevic y cols desarrollaron un estudio prospectivo, randomizado, en el que compararon la tasa de parto observada en un grupo de 236 pacientes tratadas con un agonista depot y 224 pacientes que recibieron una única dosis de 3 mg de Cetorelix cuando el mayor de los folículos superó los 12 mm de diámetro (293). La tasa de parto por punción fue más alta en el grupo de agonista que en el grupo de antagonista (31,9% vs 28,3%). Son tasas superiores a las observadas en el presente estudio, aunque estas se expresan en tasas por ciclo iniciado y no por ciclo. No informaron acerca de tasa de nacidos o de nacidos sanos.

Takahashi y cols (314) llevaron a cabo un estudio prospectivo en el que incluyeron 40 pacientes que habían fracasado en intentos previos de dar nacimiento a un hijo tras transferencia de embriones y ulterior transferencia de blastocistos después de estimulación bajo tratamiento con agonistas en protocolo largo. Estas mujeres fueron estimuladas con citrato de clomifeno, a dosis de 100 mg/día (5 días) y gonadotrofinas a partir del día 4 del ciclo; además, se les administró Cetorelix (0,25 mg/día) a partir de que fuera observado un folículo de diámetro igual o mayor de 14 mm. Blastocistos pudieron ser transferidos en 38 pacientes. Se produjo un embarazo en 16 de las mujeres (40% por ciclo iniciado); en el momento de la

publicación, 7 mujeres habían parido (17% de tasa de parto) 9 nacidos (22,5% nacidos por ciclo iniciado), aunque 5 gestaciones seguían en curso. Los datos son incompletos pero las tasas señaladas son concordantes con las observadas en este estudio.

En un estudio prospectivo y randomizado destinado a determinar si incrementar la dosis de FSHr en el momento de iniciar la administración de antagonistas llevado a cabo por Propst y cols (323) fueron incluidas 60 mujeres (excluidas mujeres SOP obesas y mujeres con FSH elevada). Independientemente de que se observó que el incremento de las dosis de FSH no mejoró los resultados, la tasa de nacidos vivos no mostró diferencias entre los grupos de control y de incremento de dosis: 56,7% y 60% por ciclo, respectivamente.

Uno de los aspectos que ha sido discutido a propósito de los ciclos estimulados con FSHr bajo supresión hipofisaria con antagonistas es si la asociación de LHR podría mejorar la tasa de recién nacido por ciclo iniciado o realizado. La razón de esta discusión es la marcada inhibición (más marcada que la que se obtiene con los agonistas) de la liberación de LH endógena que se produce con la administración de antagonistas de GnRH. En este contexto, Cedrin-Durnerin y cols incluyeron en un estudio multicéntrico randomizado en el que incluyeron 218 pacientes estimuladas con FSHr bajo control hipofisario con una dosis de 3 mg de Cetorelix en pauta flexible (307). De ellas, 114 recibieron una dosis diaria de 75 UI de LHR a partir del día en que se inició la administración del antagonista; otras 104 no la recibieron. No observaron diferencias significativas entre los dos grupos en ningún parámetro, excepto en el pico de estradiol, que fue superior en el grupo tratado con LHR.

Estas observaciones serían, mas tarde, corroboradas por Kolibianakis y cols, quienes llevaron a cabo un metanálisis en el que fueron incluidos 22 ensayos clínicos randomizados que incluían 3176 ciclos en los que se informaba acerca de recién nacidos vivos o los mismos pudieron ser calculados a partir de los datos incluidos en la publicación o esta información pudo ser obtenida a través de conversación con los autores (170). El análisis de estas publicaciones llevó a los autores a concluir que la tasa de nacido vivo no depende del tipo de población estudiada, ni del tipo de análogo de GnRH (agonista o antagonista) utilizado, ni del tipo de protocolo de antagonista utilizado. Estos resultados serían concordantes con los obtenidos en el estudio aquí realizado.

Sin embargo, la revisión realizada por Mochtar y cols, que incluyó 2.612 mujeres, llevó a estos autores a afirmar que, aunque sin evidencia científica, quizás por el escaso número de casos en los que se utilizó antagonista, existen tendencias que sugieren que la mujeres con mal pronóstico por baja respuesta puedan beneficiarse con la asociación de LHr (277).

### Análisis de costes

El análisis de los costes, aunque encierra grandes dificultades, merece especial atención, sobre todo, desde el punto de vista de la medicina pública. Ya han sido comentadas, al tratar de las limitaciones que este estudio presenta, que básicamente son:

- Es muy difícil, cuando no imposible llegar a establecer las repercusiones que sobre un determinado tratamiento tienen la amortización del centro hospitalario (que básicamente depende de sus años de servicio) o los sueldos del personal de los servicio de mantenimiento, infraestructura, informática, etc.)
- Es difícil establecer los límites de los costes indirectos de un tratamiento: las consecuencias de una FIV pueden ser varios ingresos de la gestante (amenaza de parto prematuro, metrorragias, etc.), ectópicos, cesáreas que no se hubieran practicado, estancias prolongadas del nacido en intensivos neonatales, etc...

Los datos que se presentan pueden recibir y aceptar muchos tipos de críticas. No obstante, ha sido comentado en el apartado de material y métodos la metodología del cálculo de costes que aquí se ha realizado, basado en la Ley de Tasas de la Generalitat Valenciana que, cómo no, es muy criticable.

En el presente estudio se ha llegado a la conclusión de que el coste estricto de un ciclo realizado bajo tratamiento supresor con antagonista fue de 2.767,9±538,5 €, mientras que el coste de un tratamiento en que se utilizó agonista fue de 2.297,2±749,3 €, siendo la diferencia estadísticamente significativa.

Obviamente, esta es una forma de hacer los cálculos, incluyendo sólo los costes estrictos de la realización de la FIV. Sin embargo, es igualmente correcto y así se hace en otros estudios (324), incluir en los cálculos los costes adicionales, directamente derivados de la práctica de la FIV. Calculados así los costes, el tratamiento mediante FIV bajo bloqueo hipofisario con antagonista ascendería, en el presente estudio a  $3.104,7 \pm 1232,5$  € y el de el mismo tratamiento bajo bloqueo hipofisario con agonista ascendería a  $3.234,9 \pm 3433,1$  €. La diferencia observada no alcanzó significación estadística.

Probablemente, los costes están considerablemente infravalorados en la apreciación reflejada en la antes mencionada Ley de Tasas y esa puede ser la razón de que otros autores hayan estimado el coste de un ciclo de FIV convencional en el que se utilizan agonistas incluyendo a 404 pacientes, en 8,745 €. Este coste resultó ser 2.412 € menos costoso que el tratamiento con antagonista, aunque hay que señalar que el protocolo de antagonista utilizado lo fue con una estimulación “moderada” asociada a la transferencia de un solo embrión (324).

Si, utilizando los mismos parámetros, se calcula los costes por recién nacido, resultan ser de 13.189 € en la serie de pacientes tratadas con agonista y de 13.632,6 € en la serie de mujeres tratadas con antagonista. Ello se debe al mayor número de recién nacidos en el grupo de los agonistas.

Ha sido repetidamente defendido que el objetivo de la FIV es el nacimiento de fetos sanos y a término con los menores riesgos posibles para la mujer. En este contexto, ha sido defendido que el coste “global” de los tratamientos incluidos en un estudio o realizados por un centro de reproducción deben ser calculados como

coste/nacimiento de un feto sano y a término. Esta perspectiva contempla que otros resultados son complicaciones.

En el presente estudio se ha calculado que el coste del nacimiento de un feto sano a término es 16.596,2 € en los ciclos en que se utilizó antagonista y de 19.276,7 € en los ciclos en que se utilizó agonista. Ello se debe, sin duda, al mayor porcentaje de gestaciones dobles en el grupo de agonistas.



## Capítulo VI CONCLUSIONES

---





## Conclusiones

En función de los resultados obtenidos en el estudio y de las preguntas que la hipótesis de trabajo planteaba, se puede concluir

1. La estimulación de mujeres SOP con FSHr bajo bloqueo hipofisario con un antagonista de GnRH administrado simultáneamente a la FSHr representa un protocolo eficaz que proporciona tasas de gestación e implantación similares al bloqueo hipofisario con agonistas en protocolo largo.
2. El protocolo de empleo de antagonista utilizado es seguro tanto para la madre como para el nacido. En particular disminuye el riesgo de que se produzca un síndrome de hiperestimulación ovárica como consecuencia del tratamiento respecto a los protocolos en que se utiliza agonista en protocolo largo.
3. El uso de antagonista de GnRH desde el inicio de la estimulación no anula pero sí resulta efectivo en la prevención del síndrome de hiperestimulación ovárica
4. El coste de un ciclo de FIV es ligeramente más económico utilizando antagonistas que utilizando agonistas en protocolo largo. El coste de obtener un recién nacido sano a término (no así el de obtener un recién nacido) es sensiblemente menor utilizando antagonista simultáneamente a las gonadotrofinas que utilizando agonista en protocolo largo.



## **BIBLIOGRAFÍA**

---



1. Franks S. Polycystic ovary syndrome. *N Engl J Med.* 1995;333:853-61.
2. Chambers G, Sullivan E, Ishihara O, Chapman M, Adamson G. The economic impact of assisted reproductive technology: a review of selected developed countries. *Fertil Steril.* 2009;91(6):2281-94.
3. Dunaif A, Thomas A. Current concepts in polycystic ovarian syndrome *annu Rev Med.* 2001;52:401-19.
4. Goldzieher J, Green J. The polycystic ovary: clinical and histologic features. *J Clin Endocrinol Metab.* 1962;22:325-8.
5. Yen S. The polycystic ovary syndrome. *Clin Endocol.* 1980;12:177-207.
6. Kousta E, White D, Cela E, McCarthy M, Franks S. The prevalence of polycystic ovaries in women with infertility. *Hum Reprod.* 1999;14:2720 – 3.
7. Lechmann F, Baban N, Webber B. Ovarian stimulation for in-vitro fertilization. *Hum Reprod.* 1988;3(Suppl 2):11 – 21.
8. Edelstein M, Brzyski R, Jones G, Simonetti S, Muasher S. Equivalency of human menopausal gonadotropin and follicle stimulating hormone stimulation after gonadotropin-releasing hormone agonist suppression. *Fertil Steril.* 1990;53:103 - 6.
9. Albano C, Smitz J, Camus M, Riethmüller-Winzen H, Van Steirteghem A, Devroey P. Comparison of different doses of gonadotropin-releasing hormone antagonist Cetrorelix during controlled ovarian hyperstimulation. *Fertil Steril.* 1997;May;67(5):917-22.
10. Olivennes F, Mannaerts B, Struijs M, Bonduelle M, Devroey P. Perinatal outcome of pregnancy after GnRH antagonist (ganirelix) treatment during ovarian stimulation for conventional IVF or ICSI: a preliminary report. *Hum Reprod.* 2001;16:1588 – 91.

11. Rebar R, Judd H, Yen S, Rakoff J, Vandenberg G, Naftolin F. Characterization of the inappropriate gonadotropin secretion in polycystic ovary syndrome. *J Clin Invest.* 1976;57:1320-9.
12. Yen S, Vela P, Rankin J. Inappropriate secretion of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone in polycystic disease. *J Clin Endocrinol Metab.* 1970;30:435-42.
13. Goldzieher J, Axelrod L. Clinical and biochemical features of polycystic ovarian disease. *Fertil Steril.* 1963;14:631-53.
14. Burghen C, Givens J, Kitabchi A. Correlation of hyperandrogenism with hyperinsulinism in polycystic ovarian disease. *J Clin Endocrinol Metab.* 1980;50:113 - 6.
15. Naranjo F, Martín A, Antonio P, Esteve J, Monzó A, Romeu A. Insulinosecrección basal y estimulada por la glucosa en mujeres hirsutas. *Revista Iberoamericana de Fertilidad.* 1993;10:35-9.
16. Gougeon A. Dynamics of human follicular growth: morphologic, dynamic, and functional aspects. In: Leung P, Adashi E, editors. *The ovary.* Amsterdam: Elsevier Academic Press; 2004. p. 25 - 43.
17. Oktay K, Briggs D, Gosden R. Ontogeny of follicle-stimulating hormone receptor gene expression in isolated human ovarian follicles. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997;82:3748 – 51.
18. Durlinger A, Visser J, Themmen A. Regulation of ovarian function: the role of anti-Müllerian hormone. *Reproduction.* 2002;124:601 - 9.
19. Chun S, McGee E, Hsu S, Minami S, LaPolt P, Yao H. Restricted expression of wtl messenger ribonucleic acid in immature ovarian follicles:

uniformity in mamlian and avian species and maintenance during reproductive senescence. *Biol Reprod.* 1999;60:365-73.

20. Weiss D, Richards C, Dunaif A. Increased prevalence of polycystic ovarian disease in hispanic women. *Clin Res.* 1987;35:796A.

21. Magoffin D. Regulation of differentiated functions in ovarian theca cells. *Seminars Reprod Endocrinol.* 1991;9:321 - 31.

22. Eppig J, O'Brien M, Pendola F, Watanabe S. Factors affecting the developmental competence of mouse oocytes grown in vitro: follicle stimulating hormone and insulin. *Biol Reprod.* 1998;59:1445 - 53.

23. Willis D, Watson H, Mason H, Galea R, Brincat M, Franks S. Premature response to luteinizing hormone of granulosa cells from anovulatory women with polycystic ovary syndrome: relevance to mechanism of anovulation. *J Clin Endocrinol Metab.* 1998;83:3984-91.

24. Franks S, Mason H, Willis D. Follicular dynamics in the polycystic ovary syndrome *Moll Cell Endocrinol.* 2000;163:3984-91.

25. Albano C, Smitz J, Camus M, Riethmüller-Winzen, Siebert-Weigel M, Diedrich K, et al. Hormonal profile during the follicular phase in cycles stimulated with a combination of human menopausal gonadotrophin and gonadotrophin-releasing hormone antagonist (Cetrorelix). *Hum Reprod.* 1996;11:2114 - 8.

26. Olivennes F, Cuhna-Filho J, Fanchin R, Bouchard P, Frydman R. The use of GnRH antagonists in ovarian stimulation. *Hum Reprod Update.* 2002;8:279 – 90.

27. Chabbert-Buffet N, Olivennes F, Bouchard P. GnRH antagonists. *Clin Obstet Gynecol.* 2003;46:254 – 64.

28. Stein I, Leventhal M. Amenorrhea associated with bilateral polycystic ovaries. *Am J Obstet Gynecol.* 1935;29:181 - 91.



29. Zawadski J, Dunaif A. Diagnostic criteria for polycystic ovary syndrome. Towards a rational approach. In: Dunaif A, Givens J, Haseltine F, Merriam G, editors. Polycystic ovary syndrome Current issues in Endocrinology and Metabolism. Boston: Blackwell Scientific; 1992. p. 377 - 84.
30. Lubahn D, Joseph D, Sullivan P, Willard H, French F, Wilson E. Cloning of human androgen receptor complementary DNA and localization to the X chromosome. *Science*. 1988;240:327 - 30.
31. Lobo R, Goebelsmann U, Horton R. Evidence for the importance of the peripheral tissue events in the development of hirsutism in the polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 1983;57:393 - 7.
32. Polson D, Wadsworth J, Adams J, Franks S. Polycystic ovaries a common finding in normal women. *Lancet*. 1988;2:870-2.
33. Rotterdam ESHRE/ASRM-sponsored PCOS Consensus Workshop Group. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod*. 2004;19:41 - 7.
34. Azziz R, Carmina E, Dewailly D, Diamanti-Kandarakis E, Escobar-Morreale H, Futterweit W, et al. The Androgen Excess and PCOS Society criteria for the polycystic ovary syndrome: the complete task force report. *Fertil Steril*. 2009;91(2) 456-88.
35. Azziz R, Carmina E, Dewailly D, Diamanti-Kandarakis E, Escobar-Morreale H, Futterweit W, et al. Positions statement: criteria for defining polycystic ovary syndrome as a predominantly hyperandrogenic syndrome: an Androgen Excess Society guideline. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006;91(11):4237-45.

36. Farkhar C, Birdsall M, Manning P, al e. The prevalence of polycystic ovaries on ultrasound scanning in a population of randomly selected women. *Aust NZ J Obstet Gynecol.* 1994;34:67 - 72.
37. Jacobs H. Polycystic ovaries and polycystic ovary syndrome. *Gynecol Endocrinol.* 1987;1:113 - 31.
38. Michelmore K, Balen A, Dunger D, Vessey M. Polycystic ovaries and associated clinical and biochemical features in young women. *Clin Endocrinol (Oxf).* 1999;51:779 - 86.
39. Asunción M, Calvo R, San Millán J, Sancho J, Ávila S, Escobar-Morreale H. A prospective study of the prevalence af the polycystic ovary syndrome in unselected caucasian women from Spain. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000;85:2434-48.
40. Diamanti-Kandarakis E, Kouli S, Tsianateli T. A survey of PCOS in Greek Population. 79th annual meeting of the Endocrine Society. 1997;Minneapolis.
41. Knochenhauer E, Key T, Kahsar-Miller M, Waggoner W, Boots L, Azziz R. Prevalence of the polycystic ovary syndrome in unselected black and white women of the Southeastern United States. A prospective study. *J Clin Endocrinol Metab.* 1998;83:3078 - 82.
42. Marcondes J, Hayashida S, Barcellos C, Rocha M, Maciel G, Baracat E. Metabolic syndrome in women with polycystic ovary syndrome: prevalence, characteristics and predictors. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2007;51:972 - 9.
43. Cooper H, Spellacy W, Prem K, Cohen W. Hereditary factors in the Stein-Leventhal syndrome. *Am J Obstet Gynecol.* 1968;100:371-87.
44. Ferriman D, Purdie A. The inheritance of polycystic ovarian disease and a possible relationship to premature balding. *Clin Endocrinol.* 1979;11:291 - 300.

45. Lunde O, Magnus P, Sandvik L, al e. Familial clustering in the polycystic ovarian syndrome. *Gynecol Obstet Invest.* 1989;28:23 - 30.
46. Givens J. Familial polycystic ovarian disease. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 1988;17:771 - 83.
47. Franks S, Gharani N, Gilling-Smith C. Polycystic ovary syndrome: evidence for a primary disorder of ovarian steroidogenesis. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 1999;69:269-72.
48. Jahanfar S, Eden J, Warren F, al e. A twin study of polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril.* 1995;63:478 - 86.
49. Stanhope R, Adams J, Brook C. Evolution of polycystic ovaries in a girl with delayed menarche. A case report. *J Reprod Med.* 1988;33:482 - 4.
50. Watworth D, Bennett S, Gharani N, McCarthy M, Hague S, Batty S, et al. Linkage and association of insulin gene VNTR regulatory polymorphism with polycystic ovary syndrome. *Lancet.* 1997;349:986 - 90.
51. Ibañez L, de Zegher F, Potau N. Anovulation after precocious pubarche: early markers and time course in adolescence. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999;84:2691 - 5.
52. Ibañez L, Potau N, Marcos M, de Zegher F. Corticotropin-releasing hormone: a potent androgen secretagogue in girls with hyperandrogenism after precocious pubarche. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999;84:4602 - 6.
53. Vuguin P, Linder B, Rosenfeld R, Saenger P, DiMartino-Nardi J. The roles of insulin sensitivity, insulin-like growth factor I (IGF-I), and IGF-binding protein-1 and -3 in the hyperandrogenism of African-American and Caribbean Hispanic girls with premature adrenarche. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999;84:2037 - 42.

54. Ibañez L, Potau N, Marcos M, De Zegher F. Adrenal hyperandrogenism in adolescent girls with a history of low birthweight and precocious pubarche. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2000;53:523 - 7.
55. Ibañez L, Valls C, Potau N, Marcos M, de Zegher F. Polycystic ovary syndrome after precocious pubarche: ontogeny of the low-birthweight effect. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2001;55:667 - 72.
56. Ibañez L, Aulesa C, Potau N, Ong K, Dunger D, de Zegher F. Plasminogen activator inhibitor-1 in girls with precocious pubarche: a premenarcheal marker for polycystic ovary syndrome? *Pediatr Res*. 2002;51:244 - 8.
57. Ward A, Syddall H, Wood P, Chrousos G, Phillips D. Fetal programming of the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis: low birth weight and central HPA regulation. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89:1227 - 33.
58. Sir-Petermann T, Hitchensfeld C, Maliqueo M, Codner E, Echiburú B, Gazitúa R, et al. Birth weight in offspring of mothers with polycystic ovarian syndrome. *Hum Reprod*. 2005;20:2122 - 6.
59. de Zegher F, Ibañez L. Prenatal growth restraint followed by catch-up of weight: a hyperinsulinemic pathway to polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril*. 2006;86 Suppl 1:S4 - 5.
60. Kousta E. Premature adrenarche leads to polycystic ovary syndrome? Long-term consequences. *Ann N Y Acad Sci*. 2006;1092:148 - 57.
61. Pfab T, Slowinski T, Godes M, Halle H, Priem F, Hocher B. Low birth weight, a risk factor for cardiovascular diseases in later life, is already associated with elevated fetal glycosylated hemoglobin at birth. *Circulation*. 2006;114:1687 - 92.

62. Phillips D, Jones A, Goulden P. Birth weight, stress, and the metabolic syndrome in adult life. *Ann N Y Acad Sci.* 2006;1083:28 - 36.
63. Luque Ramírez M, Escobar Morreale H. Capítulo 2: Aspectos Genéticos. In: Checa Vizcaíno M, Espinós Gómez J, Matorras Weining R, editors. *Síndrome del Ovario Poliquístico 1ed.* Madrid: Médica Panamericana 2005. p. 27-8.
64. Maclaren N, Gujral S, Ten S, Motagheti R. Childhood obesity and insulin resistance. *Cell Biochem Biophys.* 2007;48:73 - 8.
65. Rosenfield R. Identifying Children at Risk for Polycystic Ovary Syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007;92:787 - 96.
66. Wang X, Cui Y, Tong X, Ye H, Li S. Glucose and lipid metabolism in small-for-gestational-age infants at 72 hours of age. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007;92:681 - 4.
67. Villarroel A, Echiburú B, Riesco V, Maliqueo M, Cárcamo M, Hitschfeld C, et al. Síndrome de ovario poliquístico (SOP) y embarazo: Experiencia clínica. *Rev Med Chil.* 2007;135:1530 - 8.
68. Channing C, Tsai V, Sachs D. Role of insulin, thyrosin and cortisol in luteinization of porcine granulosa cells grown in chemically defined media. *Biol Reprod.* 1976;15:235 - 7.
69. Barbieri R, Makris A, Ryan K. Effects of insulin on steroidogenesis in culture porcine ovarian theca. *Fertil Steril.* 1983;40:237-41.
70. Chang R, Nakaruma R, Judd H, Kaplan S. Insulin resisitance in nonobese patients with polycystic avarian disease. *J Clin Endocrinol Metab.* 1983;57:356-9.
71. Garzo V, Dorrington J. Aromatase activity in human granulosa cells during follicular development and the modulation by follicle stimulating hormone and insulin. *Am J Obstet Gynecol.* 1984;148:657 - 62.

72. Poretsky L, Smith D, Seibel M, Pazianos A, Moses A, Flirt J. Specific insulin binding sites in human ovary. *J Clin Endocrinol Metab.* 1984;59:809 - 11.
73. Diammond M, Webster B, Carr R. Human follicular fluid insulin concentrtrions. *J Clin Endocrinol Metab.* 1985;61:990-2.
74. Geffner M, Kaplan S, Bersch N, Golde DW, Landaw EM, Chang RJ. Persistence of insulin resistance in polycystic ovarian disease after inhibition of ovarian steroid secretion. *Fertil Steril.* 1986;45:327 - 33.
75. Nestler JM, D, Barlascini C, Steingold K, Plymate S, CLore J. Suppression of serum insulin by diazoxide reduces serum testosterone levels in obese women with pycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 1989;68:1027-32.
76. Nestler J, Singh R, Matt D, CLore J, Blackward W. SUPpression of serum insulin by diazoxide does not alter serum testosterone or sex hormone-binding globulin levels in healthy non obeses women. *Am J Obstet Gynecol.* 1990;163:1243-6.
77. Plymate S, Matej L, Jones R, Friedl K. Inhibition of sex hormone binding globulin production in the humean hepatoma (hep G2) cell line by insulin and prolactin. *J Clin Endocrinol Metab.* 1988;67:460-3.
78. Meirow D, Yossepowitch O, Rösler A, Brezinski A, Schenker J, Laufer N, et al. Insulin resistant and non-resistant polycystic ovary syndrome represent two clinical and endocrinological subgroups. *Hum Reprod.* 1995;10:1951 - 6.
79. Presencia G. Sensibilidad gonadotropa e insulinos secreción en la enfermedad poliquística del ovario. Valencia: Universidad de Valencia; 1996.
80. Beutler B. Innate immunity: an overview. *Mol Immunol.* 2004;40:845 - 59.
81. Munford R. Statins and the acute phase response. *N Engl J Med.* 2001;344:2016 - 8.

82. Juhan-Vague I, Thompson S, Jespersen J. Involvement of the hemostatic system in the insulin resistance syndrome. A study of 1500 patients with angina pectoris. The ECAT Angina Pectoris Study Group. *Arterioscler Thromb.* 1993;13:1865 - 73.
83. Festa A, D'Agostino RJ, Howard G, Mykkanen L, Tracy R, Haffner S. Chronic subclinical inflammation as part of the insulin resistance syndrome: the Insulin Resistance Atherosclerosis Study (IRAS). *Circulation.* 2000;102:42 - 7.
84. Fernandez-Real J, Ricart W. Insulin resistance and chronic cardiovascular inflammatory syndrome. *Endocr Rev.* 2003;24:278 - 301.
85. Kahaleh M, Fan P. Effect of cytokines on the production of endothelin by endothelial cells. *Clin Exp Rheumatol.* 1997;15:163 - 7.
86. Brasier A, Li J, Wimbish K. Tumor necrosis factor activates angiotensinogen gene expression by the Rel A transactivator. *Hypertension.* 1996;27:1009 - 17.
87. Zinman B, Hanley A, Harris S, Kwan J, Fantus I. Circulating tumor necrosis factor- $\alpha$  concentrations in a native Canadian population with high rates of type 2 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999;84:272 - 8.
88. Fernandez-Real J, Vayreda M, Richart C, Gutierrez C, Broch M, Vendrell J, et al. Circulating interleukine 6 levels, blood pressure and insulin sensitivity in apparently healthy men and women. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86:1154 - 9.
89. Fernandez-Real J, Ricart W. Insulin resistance and inflammation in an evolutionare perspective. The contribution of cytokine genotype/phenotype to thriftiness. *Diabetologia.* 1999;42:1367 - 74.

90. Fernandez-Real J, Broch M, Vendrell J, Ricart W. Interleukin 6 gene polymorphism and lipid abnormalities in healthy subjects. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000;85:1334 - 9.
91. Bates G, Whitworth N. Effect of body weight reduction on plasma androgens in obese, infertile women. *Fertil Steril.* 1982;38:406-9.
92. Harlass F, Plymate S, Fariss B, Belts R. Weight loss is associated with correction of gonadotropin and sex steroid abnormalities in the obese anovulatory female. *Fertil Steril.* 1984;42:649-52.
93. Dunaif A, Mandeli J, Fluhr H, Dobrjansky A. The impact of obesity and chronic hyperinsulinemia on gonadotropin release and gonadal steroid secretion in the polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 1988;66:131-9.
94. Kirschner M, Samojlik E, Drejka M, Snheider G, Ertel N. Androgen-estrogen metabolism in women with upper body versus lower body obesity. *J Clin Endocrinol Metab.* 1990;70:473.
95. Kissebah A, Vydelingum N, Murray R, Evans D, Hartz A, Kalkhoff R, et al. Relation of body weight distribution to metabolic complications of obesity. *J Clin Endocrinol Metab.* 1982;54:254.
96. Dale P, Tanbor T, Vaaler S, Abylhom T. Body weight, hyperinsulinemia and gonadotrophin levels in the polycystic ovary syndrome: evidence of two distinct populations. *Fertil Steril.* 1992;58:487-91.
97. Hotamisligil G, Shargill N, Spiegelman B. Adipose expression of tumor necrosis factor-alpha: direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science.* 1993;259:87 - 91.
98. Hotamisligil G. The role of TNF-a and TNF receptors in obesity and insulin resistance. *J Intern Med.* 1999;245:621 - 5.



99. Hirosumi J, Tuncman G, Chang L, Gorgun C, Uysal K, Maeda K, et al. A central role for JNK in obesity and insulin resistance. *Nature*. 2002;420:333 - 6.
100. Shulman G. Cellular mechanism of insulin resistance. *J Clin Invest*. 2000;106:171 - 6.
101. Ducluzeau P, Cousin P, Malvoisin E, Bornet H, Vidal H, Laville M, et al. Glucose-to-insulin ratio rather than sex hormone-binding globulin and adiponectin levels is the best predictor of insulin resistance in nonobese women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003;88:3626 - 31.
102. Orio F, Palomba S, Cascella T, Milan G, Mioni R, Pagano C. Adiponectin levels in women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003;88:2619-23.
103. Panidis D, Kourtis A, Farmakiotis D, Mouslech T, Rousso D, Koliakos G. Serum adiponectin levels in women with polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod*. 2003;18:1790 - 6.
104. Spranger J, Mohlig M, Wegewitz U, Ristow M, Pfeiffer A, Schill T, et al. Adiponectin is independently associated with insulin sensitivity in women with polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2004;61:738 - 46.
105. Tan B, Chen J, Digby J, Keay S, Kennedy C, Randeve H. Upregulation of adiponectin receptor 1 and 2 mRNA and protein in adipose tissue and adipocytes in insulin-resistant women with polycystic ovary syndrome. *Diabetologia*. 2006;49:2723-8.
106. Rajala M, Obici S, Scherer P, Rossetti L. Adipose-derived resistin and gut-derived resistin-like molecule-beta selectively impair insulin action on glucose production. *J Clin Invest*. 2001;111:225 - 30.

107. Stepan C, Bailey S, Bhat S, Brown E, Banerjee R, Wright C, et al. The hormone resistin links obesity to diabetes. *Nature*. 2001;409:307 - 12.
108. Carmina E, Orio F, Palomba S, Longo R, Cascella T, Colao A. Evidence of the altered adipocyte function in polycystic ovary syndrome. *Eur j Endocrinol* 2005;152:389-94.
109. Carmina E, Orio F, Palomba S, Longo R, Cascella T, Colao A. Endothelial dysfunctions in PCOs: role of obesity and adipose hormones. *Am J Med*. 2006;119:356e1-6.
110. Kunnari A, Ukkola O, Paivansalo M, Kesaniemi Y. High plasma resistin level is associated with enhanced highly sensitive C-reactive protein and leukocytes. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006;91:2755 - 60.
111. Mlinar B, Marc J, Janez A, Pfeifer M. Molecular mechanisms of insulin resistance and associated diseases. *Clin Chim Acta*. 2007;375:20 - 35.
112. Netter A, Lambert A, Hakeles M. Syndrome de Stein-Leventhal. À propos de 4 cas. *Compt Rend Soc Franc Gyn*. 1958;28:127 - 31.
113. Netter A. Dystrophie polykystique des ovaires. In: Netter A, editor. *Gynécologie*. Paris: Ed. Médicales Flammarion; 1954. p. 609 - h.
114. Zander J, Holzmann H. trastornos del ciclo menstrual y su tratamiento. In: Käser O, Friedberg V, Ober K, Thomsen K, Zander J, editors. *Las funciones sexuales específicas de la mujer y sus trastornos*. Barcelona: Salvat Editores, S.A.; 1971. p. 299 - 432.
115. Yen S. Polycystic ovary syndrome (hyperandrogenic chronic anovulation). In: Yen S, Jaffe R, Barbieri R, editors. *Reproductive endocrinology Physiology, pathophysiology and clinical management*. Philadelphia: W.B Saunders Co; 1999. p. 436-78.

116. Speroff L, Fritz MA. Capítulo 2: Neuroendocrinología. In: Speroff L, Fritz MA, editors. *Endocrinología ginecológica clínica y esterilidad* 7ed. Barcelona: Lippincott Williams and Wilkins; 2006. p. 146.
117. Balen A. Polycystic ovaries and their relevance to assisted conception. In: Brinsden P, editor. *Textbook of in vitro fertilization and assisted reproduction*. London and New York: Taylor and Francis; 2005. p. 189 - 215.
118. Gysler M, March C, Mishell D, Bailey E. A decade's experience with an individualized clomiphene treatment regimen including its effects on postcoital test. *Fertil Steril*. 1982;37:161 - 7.
119. Lobo R, Gysler M, March C, Goebelmann D, Mishell D. Clinical and laboratory predictors of clomiphene response. *Fertil Steril*. 1982;37:168 - 74.
120. Polson D, Wadsworth J, Franks S. Polycystic ovaries a common finding in the polycystic ovary syndrome. *Lancet*. 1988;1:870-2.
121. Thomson L, Barratt C, Thornton S, Bolton A, Cooke I. The effects of clomiphene citrate and cyclofenil on cervical mucus volume and receptivity over the periovulatory period. *Fertil Steril*. 1993;59:125-9.
122. Eden J, Place J, Carter G, Jones J, Alagband-Zadeh J, Pawson M. The effect of clomiphene citrate on follicular phase increase in endometrial thickness and uterine volume. *Obstet Gynecol*. 1989;73:187-90.
123. Rogers P, Polson D, Murphy C, Hosie M, Sullivan B, Leoni M. Correlation of endometrial histology, morphometry, and ultrasound appearance after different stimulations protocols for in vitro fertilization. *Fertil Steril*. 1991;55:583-7.
124. Kokia E, Bider D, Lunenfeld B, Blankstein J, Mashiach S, Ben-Rafael Z. Additions of exogenous to improve cervical mucus following clomiphene citrate medication. Patient selection. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 1990;69:139-42.

125. Lobo R, Paul W, March C, Granger L, Kletzky O. Clomiphene and dexamethasone in women unresponsive to clomiphene alone. *Obstet Gynecol.* 1982;60:497 - 501.
126. Murakawa H, Hasegawa I, Kurabayashi T, Tanaka K. Polycystic ovary syndrome-Insulin resistance and ovulatory responses to clomiphene citrate. *J Reprod Med.* 1999;44:23-7.
127. Velázquez E, Mendoza S, Hamer T, Sosa F, Glueck C. Metformin therapy in polycystic ovary syndrome reduces hyperinsulinemia, insulin resistance, hiperandrogenemia and systolic blood pressure, while facilitating normal menses and pregnancy. *Metabolism.* 1994;43:647-54.
128. Glueck C, Wang P, Fontaine R, Tracy T, Sieve-Smith L. Metformin-reduced resumption of normal menstruation in 39 of 43 (91 %) previously amenorrheic women with the polycystic ovary syndrome. *Metabolism.* 1999;48:511-9.
129. Fleming R, Hopkinson Z, Wallace A, Greer I, Sattar N. Ovarian function and metabolic factors in women with oligomenorhea treated with metformin in a randomized double-blind, placebo controlled trial. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002;87:569-74.
130. Haas D, Carr B, Attia G. Effects of metformin on body mass index, menstrual cyclicity, and ovulation induction in women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril.* 2003;79:469-81.
131. Lord J, Flight I, Norman R. Metformin in polycystic ovary syndrome: systematic review and meta-analysis. *Br Med J.* 2003;327:25.
132. Nestler J, Jakowich D, Evans W, Pasquali R. Effects of metformin on spontaneous and clomiphene induced ovulation in the polycystic ovary syndrome. *N Eng J Med.* 1998;338:1876-80.

133. EI-Biely M, Habba M. The use of metformin to augment the induction of ovulation in obese infertile patients with polycystic ovary syndrome. *Middle East Fertil Soc J.* 2001;6:43-9.
134. Legro R, Barnhart H, Schlaff W, Carr B, Diamond M, Carson S, et al. Clomiphene, metformin, or both for infertility in the polycystic ovary syndrome. *N Engl J Med.* 2007;8;356(6):551-66.
135. Farhi J, Homburg R, Lemer A. The choice of treatment for anovulation following failure to conceive with clomiphene. *Hum Reprod.* 1993;8:1367-71.
136. Homburg R, Howles C. Low-dose FSH therapy for anovulatory infertility associated with polycystic ovary syndrome: rationales, results, reflections and refinements. *Hum Reprod Update.* 1999;5:493-9.
137. Salat-Baroux J, Alvarez S, Antoine J, Cornet D, Tibi C, Plachot M, et al. Results of IVF in the treatment of polycystic ovary disease. *Hum Reprod.* 1988;3:331 – 3.
138. Cummins J, Yovich J, Edirisinghe W, Yovich J. Pituitary down-regulation using leuprolide for the intensive ovulation management of poor prognosis patients having in vitro fertilization (IVF)-related treatments. *J In Vitro Fertil Embryo Transf.* 1989;6:345 - 52.
139. Hamilton-Fairley D, Kiddy D, Patson H, et al. Association of moderate obesity with a poor pregnancy outcome in women with polycystic ovary syndrome treated with low dose gonadotropin. *Br J Obstet Gynaecol.* 1992;99:128 - 31.
140. MacDougall M, Tan S, Jacobs H. In-vitro fertilization and the ovarian hyperstimulation syndrome. *Hum Reprod.* 1992;7:597 – 600.

141. Homburg R, Berkovitz D, Levy T, Feldberg D, Ashkenzi J, Ben -Rafel Z. In vitro fertilization and embryo transfer for the treatment of infertility associated with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril*. 1993;80:858-63.
142. Homburg R, Levy T, Berkovitz D, Farchi D, Ashkenazi J, Z BR. Gonadotropin-releasing hormone agonist reduce the miscarriage rate for pregnancies achieved in women with polycystic ovarian syndrome. *Fertil Steril*. 1993;59:527-31.
143. MacDougall M, Tan S, Balen A, Jacobs H. A controlled study comparing patients with and without polycystic ovaries undergoing in-vitro fertilization. *Hum Reprod*. 1993;8:233 – 7.
144. Kodama H, Fukuda J, Kanube H, Matsui T, Shimizu Y, Tanaka T. High incidence of embryo transfer cancellations in patients with polycystic ovarian syndrome. *Hum Reprod*. 1995;10:1962 - 7.
145. Hasegawa Y, Yamamoto Y, Kato R, Oda K, Tamura M, Yahata T. Results of in vitro fertilization-embryo transfer in women with polycystic ovarian syndrome. *Jpn J Fertil Steril*. 1996;41:8-12.
146. Damario M, Barmat L, Liu H, Davis O, Rosenwaks Z. Dual suppression with oral contraceptives and gonadotrophin releasing-hormone agonists improves in-vitro fertilization outcome in high responders patients. *Hum Reprod*. 1997;12:2359 - 65.
147. Yamaguchi S, Yamabe S, Mochizuki M, Hayashi K. Suitable ovarian stimulation for IVF programme in patients with ovarian dysfunction. Comparison between short protocol and long protocol. *Jpn J Fertil Steril*. 1997;42:16 – 23.
148. Delvigne A, Rozenberg S. Epidemiology and prevention of ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS): a review. *Hum Reprod Update*. 2002;8:559-77.

149. Stadtmauer L. Impact of metformin therapy on ovarian stimulation and outcome in "coasted patients" with polycystic ovary syndrome undergoing in-vitro fertilization. *Reprod Biomed Online*. 2002;5:112 – 6.
150. Olmo I, Ródenas J, Monzó A, Desco F, Micó M, Romeu A. Trombosis del territorio venoso superior tras episodio de hiperestimulación ovárica. *RIF*. 2002;19:439 - 43.
151. Kolibianakis E, Zikopoulos K, Albano C, Camus M, Tournaye H, Van Steirteghem A, et al. Reproductive outcome of polycystic ovarian syndrome patients treated with GnRH antagonists and recombinant FSH for IVF/ICSI. *Reprod Biomed Online*. 2003;Oct;7(3):313-8.
152. Griesinger G, Diedrich K, Devroey P, Kolibianakis E. GnRH agonist for triggering final oocyte maturation in the GnRH antagonist ovarian hyperstimulation protocol: a systematic review and meta-analysis. *Human Reproduction Update*. 2006;12:159-68.
153. Hetinen F, Elikermans M, Hughes E, Laven J, Marklan N, Fauser B. A meta-analysis of outcomes of conventional IVF in women with polycystic ovary syndrome. *Human Reprod Update*. 2005;12:13 - 21.
154. La Marca A, Volpe A. Anti-Müllerian hormone (AMH) in female reproduction: is measurement of circulating AMH a useful tool? *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2006;64:603 - 10.
155. Wang J, Nakhuda G, Guarnaccia M, Sauer M, Lobo R. Müllerian inhibiting substance and disrupted folliculogenesis in polycystic ovary syndrome. *Am J Obstet Gynecol*. 2007;196:77.e1 - 5.
156. Eldar-Geva T, Margalioth E, Gal M, Ben-Chetrit A, Algur N, Zylber-Haran E, et al. Serum anti-Mullerian hormone levels during controlled ovarian

hyperstimulation in women with polycystic ovaries with and without hyperandrogenism. *Hum Reprod.* 2005;20:1814 - 9.

157. Doldi N, Persico P, Di Sebastiano F, Marsiglio E, Ferrari A. Gonadotropin-releasing hormone antagonist and metformin for treatment of polycystic ovary syndrome patients undergoing in vitro fertilization-embryo transfer. *Gynecol Endocrinol.* 2006;22:235 - 8.

158. Griesinger G, Diedrich K, Tarlatzis B, Kolibianakis E. GnRH-antagonists in ovarian stimulation for IVF in patients with poor response to gonadotrophins, polycystic ovary syndrome, and risk of ovarian hyperstimulation: a meta-analysis. *Reprod BioMed Online.* 2006;13: 628-38.

159. Pellicer A, Albert C, Mercader A, Bonilla-Musoles F, Remohí J, Simón C. The pathogenesis of ovarian hyperstimulation syndrome: in vivo studies investigating the role of interleukin-1 $\beta$ , interleukin-6, and vascular endothelial growth factor. *Fertil Steril.* 1999;71:482 - 9.

160. Neulen J, Raczek S, Pogorzelski M, Grunwald K, Yeo T, Dvorak H, et al. Secretion of vascular endothelial growth factor/vascular permeability factor from human luteinized granulosa cells is human chorionic gonadotrophin dependent. *Mol Hum Reprod.* 1998;4:203 - 6.

161. Agrawal R. What's new in the pathogenesis and prevention of ovarian hyperstimulation syndrome? *Hum Fertil.* 2000;3:112 – 5.

162. Romeu A, Balasch J, Ruiz Balda J, Barri P, Daya S, Auray J, et al. Cost-effectiveness of recombinant versus urinary follicle-stimulating hormone in assisted reproduction techniques in the Spanish public health care system. *J Assist Reprod Genet* 2003 20(8):294-300. .



163. Olivennes F, Franchin R, Bouchard P, Taieb J, Frydman R. Triggering of ovulation with GnRH agonist in patients treated with a GnRH antagonist during the stimulation cycle. *Contracept Fertil Sex.* 1995;23:S18.
164. Engmann L, Siano L, Schmidt D, Nulsen J, Maier D, Benadiva C. GnRH agonist to induce oocyte maturation during IVF in patients at high risk of OHSS. *Reprod Biomed Online.* 2006;13:639 - 44.
165. Lubin V, Charbonnel B, Bouchard P. The use of gonadotrophin-releasing hormone antagonists in polycystic ovarian disease. *Bailliere's Clin Obstet Gynaecol.* 1998;12(4):607-18.
166. Kolibianakis E, Albano C, Kahn J, Camus M, Tournaye H, Van Steirteghem A. Exposure to high levels of luteinizing hormone and estradiol in the early follicular phase of gonadotropin-releasing hormone antagonist cycles is associated with a reduced chance of pregnancy. *Fertil Steril.* 2003;79:873-80.
167. Kolibianakis E, Albano C, Camus M, Tournaye H, Van Steirteghem A, Devroey P. Initiation of gonadotropin-releasing hormone antagonist on day 1 as compared to day 6 of stimulation: effect on hormonal levels and follicular development in in vitro fertilization cycles. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;Dec;88(12):5632-7.
168. Hwang J, Seow K, Lin Y, Huang L, Hsieh B, Tsai Y, et al. Ovarian stimulation by concomitant administration of cetrorelix acetate and HMG following Diane-35 pre-treatment for patients with polycystic ovary syndrome: a prospective randomized study. *Hum Reprod.* 2004;19:1993 - 2000.
169. Griesinger G, Diedrich K, Tarlatzis B, Kolibianakis E. GnRH-antagonists in ovarian stimulation for IVF in patients with poor response to gonadotrophins,

polycystic ovary syndrome, and risk of ovarian hyperstimulation: a meta-analysis. *Reprod Biomed Online*. 2006;13(5):628-38.

170. Lainas T, Petsas G, Zorzovilis I, Iliadis G, Lainas G, Cazlaris H, et al. Initiation of GnRH antagonist on Day 1 of stimulation as compared to the long agonist protocol in PCOS patients. A randomized controlled trial: effect of hormonal levels and follicular development. *Hum Reprod*. 2007;22(6):1540-46.

171. Segal S, Glatstein I, McShane P, Hotamisligil S, Ezcurra D, Carson R. Premature luteinization and in vitro fertilization outcome in gonadotropin/gonadotropin-releasing hormone antagonist cycles in women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril*. 2008.

172. Erickson G, Chung D-G, Sit A, DePaolo L, Shimasaki S, Ling N. Follistatin concentrations in follicular fluid of normal and polycystic ovaries. *Hum Reprod*. 1995;10:2120 - 4.

173. Barreca A, Del Monte P, Ponzani P, Artini P, Genazzani A, Minuto F. Intrafollicular insulin-like growth factor-II levels in normally ovulating women and in patients with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril*. 1996 65:739-45.

174. Dealon J, Dempsey R, Miller K. Serum from women with polycystic ovary syndrome inhibits fertilization and embryonic development in the murine in vitro fertilization model. *Fertil Steril*. 1996;65:1224 - 8.

175. Sharara F, Prough S. Endometrial fluid collection in women with PCOS undergoing ovarian stimulation for IVF, A report of four cases. *J Reprod Med Obstet Gynecol*. 1999;44:299 - 302.

176. Fallat M, Siow Y, Marra M, Cook C, Carrillo A. Mullerian-inhibiting substance in follicular fluid and serum: a comparison of patients with tubal factor

infertility, polycystic ovary syndrome, and endometriosis. *Fertil Steril*. 1997;67:962 - 5.

177. Agrawal R, Conway G, Sladkevicius P, Tan S, Engmann L, Payne N, et al. Serum vascular endothelial growth factor and Doppler blood flow velocities in in vitro fertilization: relevance to ovarian hyperstimulation syndrome and polycystic ovaries. *Fertil Steril*. 1998;70:651 - 8.

178. Pinkas H, Mashiach R, Rabinerson D, Avrech O, Royburt M, Rufas O, et al. Doppler parameters of uterine and ovarian stromal blood flow in women with polycystic ovary syndrome and normally ovulating women undergoing controlled ovarian stimulation. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 1998;12:197 - 200.

179. Volpe A, Coukos G, D'Ambrogio G, Artini P, Genazzaani A. Follicular fluid steroid and epidermal growth factor content and in vitro estrogen release by granulosa-luteal cells from patients with polycystic ovaries in an IVF/ET program. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 1991;42:195 – 9.

180. Foong S, Abbott D, Zschunke M, Lesnick T, Phy J, Dumesic D. Follicle luteinization in hyperandrogenic follicles of polycystic ovary syndrome patients undergoing gonadotropin therapy for in vitro fertilization. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006;91:2327 - 33.

181. Sauer M, Paulson R, Lobo R. Oocyte donation to women of advanced reproductive age: pregnancy results and obstetrical outcomes in patients 45 years and older. *Hum Reprod*. 1996;11:2540 - 3.

182. Barri P, Coroleu B, Martinez F, Veiga A. Stimulation protocols for poor responders and aged women. *Moll Cell Endocrinol*. 2000;166:15 – 20.

183. Erenus M, Zouves C, Rajamahendran P, al e. The effect of embryo quality on subsequent pregnancy rates after in vitro fertilization. *Fertil Steril*. 1991;56:707 – 10.
184. Hardy K, Robinson F, Paraschos T, Wicks R, Franks S, Winston R. Normal development and metabolic activity of preimplantation embryos in vitro from patients with polycystic ovaries. *Hum Reprod*. 1995;10:2125-35.
185. Ahkenazi J, Farhi J, Orvieto R, Homburg R, Dekel A, Feldberg D. Polycystic ovary syndrome patients as oocyte donors: the effect of ovarian stimulation protocol on the implantation rate of the recipient. *Fertil Steril*. 1995;64:564-7.
186. Sengoku K, Tamate K, Takuma N, Yoshida T, Goishi K, Ishikawa M. The chromosomal normality of unfertilized oocytes from patients with polycystic ovarian syndrome. *Hum Reprod*. 1997;12:474- 7.
187. Ludwig M, Finas D, Al-Hasani S, Diedrich K, Ortmann O. Oocyte quality and treatment outcome in intracytoplasmic sperm injection cycles of polycystic ovarian syndrome patients. *Hum Reprod*. 1999;14:354 – 8.
188. Teissier M, Chable H, Paulhac S, Aubard Y. Comparisson of follicle steroidogenesis from normal and polycystic ovaries in women undergoing IVF: relationship between steroid concentrations, follicle size oocyte quality and fecundability. *Human Reprod*. 2000;15:2471 –7.
189. Franks S, Robert R, Hardy K. Gonadotropin regimens and oocyte quality in women with polycystic ovaries. *Reprod Biomed Online*. 2003;6:181-4.
190. Plachot M, Belaisch-Allart J, Mayenga J, Chouraqui A, Tesquier A, Serkine A, et al. [Oocyte and embryo quality in polycystic ovary syndrome]. *Gynecol Obstet Fertil*. 2003;31:350 - 4.

191. Bokal E, Vrtovec H, Virant Klun I, Verdenik I. Prolonged HCG action affects angiogenic substances and improves follicular maturation, oocyte quality and fertilization competence in patients with polycystic ovarian syndrome. *Hum Reprod.* 2005;20:1562 - 8.
192. Ciepiela P, Baczkowski T, Brelik P, Antonowicz A, Safranow K, Kurzawa R. Biotechnological and clinical outcome of in vitro fertilization in non-obese patients with polycystic ovarian syndrome. *Folia Histochem Cytobiol.* 2007;45 Suppl 1:S65 - 71.
193. Sahu B, Ozturk O, Raniერი M, Serhal P. Comparison of oocyte quality and intracytoplasmic sperm injection outcome in women with isolated polycystic ovaries or polycystic ovarian syndrome. *Arch Gynecol Obstet.* 2008;277:239 - 44.
194. Wood J, Dumesic D, Abbott D, Strauss J. Molecular abnormalities in oocytes from women with polycystic ovary syndrome revealed by microarray analysis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007;92:705-13.
195. Patel S, Carr B. Oocyte quality in adult polycystic ovary syndrome. *Semin Reprod Med.* 2008;26:196 - 203.
196. Veeck L, Wortham JJ, Witmyer J, Sandow B, Acosta A, Garcia J, et al. Maturation and fertilization of morphologically immature human oocytes in a program of in vitro fertilization. *Fertil Steril.* 1983;39:594 - 602.
197. Veeck L. Extracorporeal maturation: Norfolk, 1984. *Ann N Y Acad Sci.* 1985;442:357 - 67.
198. Tsafiriri A, Pomerantz S. Oocyte maturation inhibitor. *Clin Endocrinol Metab.* 1986;15:157 - 70.
199. Feng H, Catt K, Knecht M. Transforming growth factor-beta stimulates meiotic maturation of the rat oocyte. *Endocrinology.* 1988;122:181-6.

200. Toth T, Baka S, Veeck L, Jones HJ, Muasher S, Lanzendorf S. Fertilization and in vitro development of cryopreserved human prophase I oocytes. *Fertil Steril.* 1994;61:891 - 4.
201. Baka S, Toth T, Veeck L, Jones HJ, Muasher S, Lanzendorf S. Evaluation of the spindle apparatus of in-vitro matured human oocytes following cryopreservation. *Hum Reprod.* 1995;10:1816 - 20.
202. Vlaisavljević V, Krizancić Bombek L, Vokac N, Kovacic B, Cizek-Sajko M. How safe is germinal vesicle stage oocyte rescue? Aneuploidy analysis of in vitro matured oocytes. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2007;134:213 - 9.
203. Buckett W, Chian R, Holzer H, Dean N, Usher R, Tan S. Obstetric outcomes and congenital abnormalities after in vitro maturation, in vitro fertilization, and intracytoplasmic sperm injection. *Obstet Gynecol.* 2007;110:885 - 91.
204. Durinzi K, Saniga E, Lanzendorf S. The relationship between size and maturation in vitro in the unstimulated human oocyte. *Fertil Steril.* 1995;63:404 - 6.
205. Barnes F, Kausche A, Tiglias J, Wood C, Wilton L, Trounson A. Production of embryos from in vitro-matured primary human oocytes. *Fertil Steril.* 1996;65:1151 - 6.
206. Plachot M. Maturation ovocitaire in vitro à l'espèce humaine. *Contracept Fertil Sex.* 1999;27:434 - 9.
207. Cha K, Han S, Chung H, Choi D, Lim J, Lee W. Pregnancies and deliveries after in vitro maturation culture followed by in vitro fertilization and embryo transfer without stimulation in women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril.* 2000;73:2950-6.
208. Roberts R, Frank S, Hardy K. Culture environment modulates maturation and metabolism of human oocytes. *Hum Reprod.* 2002;17:2950-6.

209. Roberts R, Stark J, Iatropouo A. Energy substrate metabolism of mouse cumulus-oocyte complexes: response to follicle-stimulating hormone is mediated by the phosphatidylinositol 3-kinase pathway and associated with oocyte maturation. *Biol Reprod.* 2004;71:199-209.
210. Söderström-Anttila V, Mäkinen S, Tuuri T, Suikkari A. Favourable pregnancy results with insemination of in vitro matured oocytes from unstimulated patients. *Hum Reprod.* 2005;20:1534 - 40.
211. Li Y, Feng H, Cao Y, Zheng G, Yang Y, Mullen S. Confocal microscopic analysis of the spindle and chromosome configurations of human oocytes matured in vitro. *Fertil Steril.* 2006;85:827-32.
212. Piquette G. The in vitro maturation (IVM) of human oocytes for in vitro fertilization (IVF): is it time yet to switch to IVM-IVF? *Fertil Steril.* 2006;85:833 - 5.
213. Vlaisavljević V, Cizek-Sajko M, Kovac V. Multinucleation and cleavage of embryos derived from in vitro-matured oocytes. *Fertil Steril.* 2006;86:487 - 9.
214. Ge H, Huang X, Zhang W, Zhao J, Lin J, Zhou W. Exposure to human chorionic gonadotropin during in vitro maturation does not improve the maturaton rate and developmental potential of immature oocytes from patients with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril.* 2008;89:98-103.
215. Zhang Z, Zhao J, Wei Z, Cong L, Zhou P, Cao Y. Human umbilical cord blood serum in culture medium on oocyte maturation in vitro. *Arch Androl.* 2007;53:303-7.
216. Grøndahl C. Oocyte maturation. Basic and clinical aspects of in vitro maturation (IVM) with special emphasis of the role of FF-MAS. *Dan Med Bull.* 2008;55:1 - 16.

217. Schally A, Kastin A, Arimura A. Hypothalamic follicle-stimulating hormone (FSH) and luteinizing hormone (LH) regulating hormone: structure, physiology, and clinical studies. *Fertil Steril*. 1971;22:703 - 21.
218. Carmel P, Araki S, Ferin M. Pituitary stalk portal blood collection in rhesus monkeys: evidence for pulsatile release of gonadotropin releasing hormone. *Endocrinology*. 1976;99:243 - 8.
219. Knobil E. The neuroendocrine control of the menstrual cycle. *Rec Prog Horm Res*. 1980;36:53-88.
220. Jeffcoate S, Greenwood R, Holland D. Blood and urine clearance of luteinizing hormone releasing hormone in man measured by radioimmunoassay. *J Endocrinol*. 1974;60:305 - 14.
221. Schally V, Vilchez-Martinez S. Los más recientes trabajos bioquímicos, fisiológicos y clínicos sobre la hormona liberadora de la hormona luteinizante y sus análogos. *Acta Ginecológica*. 1975;26:625 - 43.
222. Jaramillo C, Charro-Salgado A, Perez-Infante V, Lopez del Campo G, Botella-Llusiá J, Coy D, et al. Clinical studies with D-Trp6 luteinizing hormone-releasing hormone in anovulatory women. *Fertil Steril*. 1978;29:418 - 23.
223. Tcholakian R, de la Cruz A, Chowdhury M, Steinberger A, Coy D, Schally A. Unusual anti-reproductive properties of the analog (D-Leu6, DES Gly-NH2 10)luteinizing hormone-releasing hormone anthylamide in male rats. *Fertil Steril*. 1978;30:600 - 5.
224. Knobil E. The discovery of the hypothalamic gonadotropin-releasing hormone pulse generator and of its physiological significance. *Endocrinology*. 1992;131(3):1005-6.



225. Oltra D. Investigaciones fisiopatológicas del eje hipotálamo-hipófiso-ovárico: perfusión Lh-RH. Valencia: Valencia; 1982.
226. Howles C, Macnamee M, Edwards R. Short term use of an LHRH agonist to treat poor responders entering an in-vitro fertilization programme. *Hum Reprod.* 1987;2:655 - 6.
227. Porter R, Smith W, Craft I, Abdulwahid N, Jacobs H. Induction of ovulation for in vitro fertilization using busorelin and gonadotropins. *Lancet.* 1984;2:1284 –.
228. Wildt L, Diedrich K, van der Ven H, al Hasani S, Hübner H, Klasen R. Ovarian hyperstimulation for in-vitro fertilization controlled by GnRH agonist administered in combination with human menopausal gonadotrophins. *Hum Reprod.* 1986;1:15 - 9.
229. Flemming R, Black W, Coutts J. Effects of LH supression in polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol.* 1985;23:683-7.
230. Crosignani P, Edwards R. Current treatments with LHRH and its analogues. Recommendations of the ESHRE workshop. Anacapri, September 20, 1986. *Hum Reprod.* 1987;2(2)::95-7.
231. Tarlatzis B, Grimbizis G, Poumaropoulos F, Bonti J, Lagos S, Spanos E. The prognostic value of basal luteinizing hormone: follicle-stimulating hormone ratio in the treatment of patients with polycystic ovarian syndrome by assisted reproduction techniques. *Hum Reprod.* 1995;10:2545-9.
232. Parinaud J, Beaur A, Bourreau E, Vieitez G, Pontonnier G. Effect of a luteinizing hormone–releasing hormone agonist (Busereline) on steroidogenesis of cultured human preovulatory granulosa cells. *Fertil Steril.* 1988;50:597 – 602.

233. Meldrum D, Wisot A, Hamilton F, Gutlay A, Kempton W, Huynh D. Routine pituitary suppression with leuprolide before ovarian stimulation for oocyte retrieval. *Fertil Steril*. 1989;51:455 – 9.
234. Ron-El R, Herman A, Golan A, et al. The comparison of early follicular and midluteal administration of long-acting gonadotropin-releasing hormone agonist. *Fertil Steril*. 1990;54:233 – 7.
235. Dirnfeld M, Gonen Y, Lissak A, Goldman S, Koifman M, Sorokin Y, et al. A randomized prospective study on the effect of short and long buserelin treatment in women with repeated unsuccessful in vitro fertilization (IVF) cycles due to inadequate ovarian response. *J In Vitro Fert Embryo Transf*. 1991;8:339 - 43.
236. 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*. 1991;8:254 - 9.
237. Ron-El R, Herman A, Golan A, Soffer Y, Nachum H, Caspi E. Ultrashort gonadotropin -releasing hormone agonist (GnRH-a) protocol in comparison with the long acting GnRH-a protocol and metropine alone. *Fertil Steril*. 1992;58:1164-8.
238. Muasher S. Use of gonadotrophin-releasing hormone agonists in controlled ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization. *Clin Ther*. 1992;14 Suppl A:74 - 6.
239. Surrey E, Minjarez D, Schoolcraft W. The incidence of aberrant endometrial alphavbeta(3) vitronectin expression in a high risk infertility population: could prolonged GnRH agonist therapy play a role? *J Assist Reprod Genet*. 2007;24:553 - 6.

240. Orvieto R NR, Rabinson J, Gemer O, Anteby EY, Meltzer S. Ultrashort flare GnRH agonist combined with flexible multidose GnRH antagonist for patients with repeated IVF failures and poor embryo quality. *Fertil Steril*. 2008;Aug 1.
241. Orvieto R, Meltzer S, Rabinson J, Zohav E, Anteby E, Nahum R. GnRH agonist versus GnRH antagonist in ovarian stimulation: the role of endometrial receptivity. *Fertil Steril*. 2008;90:1294-6.
242. Raga F, Casañ E, Kruessel J, Wen Y, Bonilla-Musoles F, Polan M. The role of gonadotropin-releasing hormone in murine preimplantation embryonic development. *Endocrinology*. 1999;140(8):3705-12.
243. Surrey E, Silverberg K, Surrey M, Schoolcraft W. Effect of prolonged gonadotropin-releasing hormone agonist therapy on the outcome of in vitro fertilization-embryo transfer in patients with endometriosis. *Fertil Steril*. 2002;78:699 - 704.
244. Sallam H, Garcia-Velasco J, Dias S, Arici A. Long-term pituitary down-regulation before in vitro fertilization (IVF) for women with endometriosis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2006;25(1):CD004635.
245. Ron-El R. Complications of ovulation induction. In: Evers J, editor. *Ovulation induction: the difficult patient*. London Ballière Tindall; 1993. p. 435-53.
246. Smitz J, Ron-El R, Tarlatzis B. The use of gonadotrophin-releasing hormone agonist for in vitro fertilization and other assisted procreation techniques: experience from three centres. *Hum Reprod*. 1992;7(suppl 1):49-66.
247. Kotz H, Herrmann W. A review of the endocrine induction of human ovulation. VI. Gonadotropins. *Fertil Steril*. 1961;12:375-94.

248. Howles C, MacNamee M, Edwards R, Goswamy R, Steptoe P. Effect of high tonic levels of luteinizing hormone on outcome in vitro fertilization. *Lancet*. 1986;2:521 - 2.
249. Fraser H, Bouchard P. Control of the preovulatory luteinizing hormone surge by gonadotropin-releasing hormone antagonists: prospects for clinical application. *Trends Endocrinol Metab*. 1994;5:87 - 93.
250. Moraloglu O, Kilic S, Karayalçin R, Yuksel B, Tasdemir N, Işık A, et al. Comparison of GnRH agonists and antagonists in normoresponder IVF/ICSI in Turkish female patients. *Adv Ther*. 2008;25(3):266-73.
251. Monahan M, Amoss M, Anderson H, Vale W. Synthetic analogs of the hypothalamic luteinizing hormone releasing factor with increased agonist or antagonist properties. *Biochemistry*. 1973;Nov 6;12(23):4616-20.
252. Hahn D, McGuire J, Vale W, Rivier J. Reproductive/endocrine and anaphylactoid properties of an LHRH-antagonist, ORF 18260 [Ac-DNAL1(2), 4FDPh2,D-Trp3,D-Arg6]-GnRH. *Life Sci*. 1985;Aug 12;37(6):505-14.
253. Bajusz S, Kovacs M, Gazdag M. Highly potent antagonist of LH-RH free of edematogenic effects. *Proc Natl Acad Sci*. 1988;85:1637-41.
254. Diedrich K, Diedrich C, Santos E, Zoll C, al-Hasani S, Reissmann T, et al. Suppression of the endogenous luteinizing hormone surge by the gonadotrophin-releasing hormone antagonist Cetrorelix during ovarian stimulation. *Hum Reprod*. 1994; May;9(5):788-91.
255. Millar R, Lu Z, Pawson A, Flanagan C, Morgan K, Maudsley S. Gonadotropin-releasing hormone receptors. *Endocr Rev*. 2004;Apr;25(2):235-75.
256. Leroy I, D'Acremont M, Brailly-Tabard S, Frydman R, De Mouzon J, Bouchard P. A single injection of a gonadotropin-releasing hormone (GnRH)

antagonist (Cetrorelix) postpones the luteinizing hormone (LH) surge: further evidence for the role of GnRH during the LH surge. *Fertil Steril.* 1994;62:461 - 7.

257. Felberbaum R, Albano C, Ludwig M, Riethmüller-Winzen H, Grigat M, Devroey P, et al. Ovarian stimulation for assisted reproduction with HMG and concomitant midcycle administration of the GnRH antagonist cetrorelix according to the multiple dose protocol: a prospective uncontrolled phase III study. *Hum Reprod.* 2000;15:1015 - 20.

258. Olivennes F, Belaisch-Allart J, Empeiraire J, Dechaud H, Alvarez S, Moreau L, et al. Prospective, randomized, controlled study of in vitro fertilization-embryo transfer with a single dose of a luteinizing hormone-releasing hormone (LH-RH) antagonist (cetrorelix) or a depot formula of an LH-RH agonist (triptorelin). *Fertil Steril.* 2000;73:314 - 20.

259. Ludwig M, Katalinic A, Banz C, Schröder A, Löning M, Weiss J. Tailoring the GnRH antagonist cetrorelix acetate to individual patients' needs in ovarian stimulation for IVF: results of a prospective, randomized study. *Hum Reprod.* 2002;17:2842-5.

260. Kolibianakis E, Albano C, Camus M, Tournaye H, Van Steirteghem A, Devroey P. Prolongation of the follicular phase in in vitro fertilization results in a lower ongoing pregnancy rate in cycles stimulated with recombinant follicle-stimulating hormone and gonadotropin-releasing hormone antagonist. *Fertil Steril.* 2004;82:102-7.

261. Al-Inany H, Aboulghar A, Mansour R, Serour G. Optimizing GnRH antagonist administration: meta-analysis of fixed versus flexible protocol. *Reprod BioMed Online.* 2005 10.:567-70.

262. Hughes E, Robertson D, Handelsman D, Hayward S, Healy D, de Kretser D. Inhibin and estradiol responses to ovarian hyperstimulation: effects of age and predictive value for in vitro fertilization outcome. *J Clin Endocrinol Metab.* 1990;Feb;70(2):358-64.
263. Olivennes F, Diedrich K, Frydman R, Felberbaum R, Howles C. 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.* 2003;Jun;6(4):432-8.
264. Al-Inany H, Abou-Setta A, Aboulghar M. Gonadotrophin-releasing hormone antagonists for assisted conception: a Cochrane review. *Reprod Biomed Online.* 2007;May;14(5):640-9.
265. Ludwig M, Katalinic A, Diedrich K. Use of GnRH antagonists in ovarian stimulation for assisted reproductive technologies compared to the long protocol. Meta-analysis. *Arch Gynecol Obstet.* 2001; Nov;265(4):175-82.
266. Albano C, Felberbaum R, Smitz J, Riethmüller-Winzen, Engel J, Diedrich K, et al. Ovarian stimulation with HMG: results of a prospective randomized phase III European study comparing the luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH)-antagonist cetrorelix and the LHRH-agonist buserelin. *Hum reprod.* 2000;15:526 - 31.
267. Cardone V. GnRH antagonists for treatment of polycystic ovarian syndrome. *Fertil Steril.* 2003;Jul;80 Suppl 1:25-31.
268. Delvigne A, Carlier C, Rozenberg S. Is coasting effective for preventing ovarian hyperstimulation syndrome in patients receiving a gonadotropin-releasing hormone antagonist during an in vitro fertilization cycle? *Fertil Steril.* 2001;Oct;76(4):844-6.

269. Bodri D, Guillén J, Polo A, Trullenque M, Esteve C, Coll O. Complications related to ovarian stimulation and oocyte retrieval in 4052 oocyte donor cycles. *Reprod Biomed Online*. 2008;Aug;17(2):237-43.
270. Emperaire J, Ruffié A, Audebert A. Ovulation induction by endogenous LH released by the administration of an LHRH agonist after follicular stimulation for in vitro fertilization. *J Gynecol Obstet Biol Reprod* 1992;21(5):489-94.
271. Itskovitz–Eldor J, Kol S, Mannaerts B. Use of a single bolus of GnRH agonist triptorelin to trigger ovulation after GnRH antagonist ganirelix treatment in women undergoing ovarian stimulation for assisted reproduction, with special reference to the prevention of ovarian hyperstimulation syndrome: preliminary report. *Hum Reprod*. 2000;15:1965 – 8.
272. Van der Meer S, Gerris J, Joostens M, Tas B. Triggering of ovulation using a gonadotrophin-releasing hormone agonist does not prevent ovarian hyperstimulation syndrome. *Hum Reprod*. 1993;Oct;8(10):1628-31.
273. Al-Inany H, Aboulghar M. GnRH antagonist in assisted reproduction: a Cochrane review. *Hum Reprod*. 2002;Apr;17(4):874-85.
274. Fauser B, Devroey P. Why is the clinical acceptance of gonadotropin-releasing hormone antagonist cotreatment during ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization so slow? *Fertil Steril*. 2005;Jun;83(6):1607-11.
275. Homburg R, Levy T, Ben Rafel Z. A comparative prospective study of conventional regimen with chronic low dose administration of follicle stimulating hormone for anovulation associated with polycystic ovulating syndrome. *Fertil Steril*. 1995;63:729-33.

276. Martin K, Hall J, Adams J, Cronley WJr. Comparison of exogenous gonadotropins and pulsatile GnRH for induction of ovulation in hypogonadotropic amenorrhea. *Fertil Steril.* 1993;63:729-33.
277. Mochtar M. Dutch Ganirelix Study Group. The effect of an individualized GnRH antagonist protocol on folliculogenesis in IVF/ICSI. *Hum Reprod* 2004;19:1713 - 8.
278. Elkind-Hirsch K, Webster B, Brown C, Vernon M. Concurrent ganirelix and follitropin beta therapy is an effective and safe regimen for ovulation induction in women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril.* 2003;Mar;79(3):603-7.
279. Mladovsky P, Sorenson C. Public Financing of IVF: A Review of Policy Rationales. *Health Care Anal.* 2009;3.
280. Chambers G, Sullivan E, Ishihara O. The economic impact of assisted reproductive technology: a review of selected developed countries. *Fertil Steril.* 2009;91(6):2281-94.
281. Bouwmans C, LIntsen B, EijKemans M. A detailed cost analysis of in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection treatment. *Fertil Steril.* 2008;89(2): 331-41.
282. Ledger W, Wiebinga C, Anderson P. Costs and outcomes associated with IVF using recombinant FSH. *Reprod Biomed Online.* 2009;19(3):337-42.
283. Revelli A, Poso F, Gennarelli G, Moffa F, Grassi G, Massobrio M. Recombinant versus highly-purified, urinary follicle-stimulating hormone (r-FSH vs. HP-uFSH) in ovulation induction: a prospective, randomized study with cost-minimization analysis. *Reprod Biol Endocrinol.* 2006;18:4:38.



284. Eldar-Geva T, Zylber-Haran E, Babayof R, Halevy-Shalem T, Ben-Chetrit A, Tsafrir A, et al. Similar outcome for cryopreserved embryo transfer following GnRH-antagonist/GnRH-agonist, GnRH-antagonist/HCG or long protocol ovarian stimulation. *Reprod Biomed Online*. 2007;14:148 - 54.
285. Bahçeci M, Ulug U, Erden H, Tosun S, Ciray N. Frozen-thawed cleavage-stage embryo transfer cycles after previous GnRH agonist or antagonist stimulation. *Reprod Biomed Online*. 2009;18:67 - 72.
286. Rackow B, Kliman H, Taylor H. GnRH antagonists may affect endometrial receptivity. *Fertil Steril*. 2008;89:1234 - 9.
287. Van Vaerenbergh I, Van Lommel L, Ghislain V, In't Veld P, Schuit F, Fatemi H, et al. In GnRH antagonist/rec-FSH stimulated cycles, advanced endometrial maturation on the day of oocyte retrieval correlates with altered gene expression. *Hum Reprod*. 2009;1:1 - 7.
288. Noyes R, Haman J. Accuracy of endometrial dating. *Fertil Steril*. 1954;4:504 - 11.
289. Coccia M, Comparetto C, Bracco G, Scarselli G. GnRH antagonists. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2004;115 Suppl 1:S44 - 5.
290. Moraloglu O, Kilic S, Karayalçin R, Yuksel B, Tasdemir N, Işık A, et al. Comparison of GnRH agonists and antagonists in normresponder IVF/ICSI in Turkish female patients. *Adv Ther* 2008 Mar 14. 2008.
291. Mitwally M, Casper R. Effect of in vivo GnRH agonist and GnRH antagonist on hCG and insulin-stimulated progesterone production by human granulosa-lutein cells in vitro. *J Assist Reprod Genet*. 2002;19:384 - 9.
292. Borm G, Mannaerts B. Treatment with the gonadotrophin-releasing hormone antagonist ganirelix in women undergoing ovarian stimulation with

recombinant follicle stimulating hormone is effective, safe and convenient: results of a controlled, randomized, multicentre trial. The European Orgalutran Study Group. *Hum Reprod.* 2000;15:1490 - 8.

293. Vlasisavljevic V, Reljic M, Lovrec V, Kovacic B. Comparable effectiveness using flexible single-dose GnRH antagonist (cetrotorelix) and single-dose long GnRH agonist (goserelin) protocol for IVF cycles--a prospective, randomized study. *Reprod Biomed Online.* 2003;7:301 - 8.

294. Akman M, Erden H, Tosun S, Bayazit N, Aksoy E, Bahceci M. Comparison of agonistic flare-up-protocol and antagonistic multiple dose protocol in ovarian stimulation of poor responders: results of a prospective randomized trial. *Hum Reprod.* 2001;16:868 - 70.

295. Marín M, Rubio J, Sánchez-Gutiérrez M, Urgal A, Monzó A, Romeu A. Tratamiento de pacientes con pronóstico de baja respuesta: comparación de dos protocolos de supresión hipofisaria. *Rev Iberoam Fert.* 2005;22:123 - 30.

296. Sanchez M, Bañó B, Marín M, Romeu M, Duque C, Monzó A, et al. Los antagonistas de la GnRH, administrados desde el primer día de la estimulación ovárica para FIV, una buena alternativa en pacientes con síndrome de ovario poliquístico. *Rev Iberoam Fert.* 2006;en prensa.

297. Giannaris D, Zourla A, Chrelas C, Loghis C, Kassanos D. Ultrasound assessment of endometrial thickness: correlation with ovarian stimulation and pregnancy rates in IVF cycles. *Clin Exp Obstet Gynecol.* 2008;35:190 - 3.

298. Beckers N, Macklon N, Eijkemans M, Ludwig M, Felberbaum R, Diedrich K, et al. Nonsupplemented luteal phase characteristics after the administration of recombinant human chorionic gonadotropin, recombinant luteinizing hormone, or gonadotropin-releasing hormone (GnRH) agonist to induce final oocyte maturation

in in vitro fertilization patients after ovarian stimulation with recombinant follicle-stimulating hormone and GnRH antagonist cotreatment. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88:4186 - 92.

299. Bosch E, Valencia I, Escudero E, Crespo J, Simón C, Remohí J, et al. Premature luteinization during gonadotropin-releasing hormone antagonist cycles and its relationship with in vitro fertilization outcome. *Fertil Steril.* 2003;80:1444 - 9.

300. Venetis C, Kolibianakis E, Papanikolaou E, Bontis J, Devroey P, Tarlatzis B. Is progesterone elevation on the day of human chorionic gonadotrophin administration associated with the probability of pregnancy in in vitro fertilization? A systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update.* 2007;13:343 - 55.

301. Ludwig M, Felberbaum R, Devroey P, Albano C, Riethmüller-Winzen H, Schüller A, et al. Significant reduction of the incidence of ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS) by using the LHRH antagonist Cetrotide (Cetrorelix) in controlled ovarian stimulation for assisted reproduction. *Arch Gynecol Obstet.* 2000;Jul;264(1):29-32.

302. Kolibianakis E, Collins J, Tarlatzis B, 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.* 2006 12(6):651-71.

303. Mahutte N, Arici A. Role of gonadotropin-releasing hormone antagonists in poor responders. *Fertil Steril.* 2007;87:241 - 9.

304. de Jong D, Macklon N, Eijkemans M, Mannaerts B, Coelingh Bennink H, Fauser B. Ganirelix Dose-Finding Study Group. Dynamics of the development of multiple follicles during ovarian stimulation for in vitro fertilization using

recombinant follicle-stimulating hormone (Puregon) and various doses of the gonadotropin-releasing hormone antagonist ganirelix (Orgalutran/Antagon). *Fertil Steril*. 2001;75:688 - 93.

305. Weissman A, Shoham Z. Favourable pregnancy outcome after administration of a long-acting gonadotrophin-releasing hormone agonist in the mid-luteal phase. *Hum Reprod*. 1993;Mar;8(3):496-7.

306. Al-Inany H, Aboulghar M, Mansour R, Serour G. Optimizing GnRH antagonist administration: meta-analysis of fixed versus flexible protocol. *Reprod BioMed Online*. 2005;10: 567-70.

307. Cédric-Durnerin I, Grange-Dujardin D, Laffy A, Parneix I, Massin N, Galey J, et al. Recombinant human LH supplementation during GnRH antagonist administration in IVF/ICSI cycles: a prospective randomized study. *Hum Reprod*. 2004;19:1979 - 84.

308. Wikland M, Bergh C, Borg K, Hillensjö T, Howles C, Knutsson A, et al. A prospective, randomized comparison of two starting doses of recombinant FSH in combination with cetrorelix in women undergoing ovarian stimulation for IVF/ICSI. *Hum Reprod*. 2001;16:1676 - 81.

309. Dourron N, Williams D. Prevention and treatment of ovarian hyperstimulation syndrome. 1996. 1996;14(4):355-65.

310. Polinder S, Heijnen E, Macklon N, Habbema J, Fauser B, Eijkemans M. Cost-effectiveness of a mild compared with a standard strategy for IVF: a randomized comparison using cumulative term live birth as the primary endpoint. *Hum Reprod*. 2008;23:316 - 23.

311. Bouwmans C, Lintsen B, Eijkemans M, Habbema J, Braat D, Hakkaart L. A detailed cost analysis of in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection treatment. *Fertil Steril* 2008;89(2):331-41.
312. Franco JJ, Baruffi R, Mauri A, Petersen C, Felipe V, Cornicelli J, et al. GnRH agonist versus GnRH antagonist in poor ovarian responders: a meta-analysis. *Reprod Biomed Online*. 2006; Nov;13(5):618-27.
313. Engel J, Ludwig M, Felberbaum R, Albano C, Devroey P, Diedrich K. Use of cetorelix in combination with clomiphene citrate and gonadotrophins: a suitable approach to 'friendly IVF'? *Hum Reprod*. 2002;17:2022 - 6.
314. Takahashi K, Mukaida T, Tomiyama T, Goto T, Oka C. GnRH antagonist improved blastocyst quality and pregnancy outcome after multiple failures of IVF/ICSI-ET with a GnRH agonist protocol. *J Assist Reprod Genet*. 2004;21:317 - 22.
315. Olivennes F, Fanchin R, Bouchard P, de Ziegler D, Taieb J, Selva J, et al. The single or dual administration of the gonadotropin-releasing hormone antagonist Cetorelix in an in vitro fertilization-embryo transfer program. *Fertil Steril*. 1994;62:468 - 76.
316. Check M, Check J, Choel J, Davies E, Kiefer D. Effect of antagonists vs agonists on in vitro fertilization outcome. *Clin Exp Obstet Gynecol*. 2003;31:257 - 9.
317. Barnat L, Chantilis S, Hurst B, Dickey R. A randomized prospective trial comparing gonadotropin-releasing hormone (GnRH) antagonist/recombinant follicle-stimulating hormone (rFSH) versus GnRH-agonist/rFSH in women

pretreated with oral contraceptives before in vitro fertilization. *Fertil Steril.* 2005;83:321 - 30.

318. Pabuccu R, Onalan G, Kaya C. GnRH agonist and antagonist protocols for stage I-II endometriosis and endometrioma in in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection cycles. *Fertil Steril.* 2007;88:832 - 9.

319. Kurzawa R, Ciepiela P, Baczkowski T, Safranow K, Brelik P. Comparison of embryological and clinical outcome in GnRH antagonist vs. GnRH agonist protocols for in vitro fertilization in PCOS non-obese patients. A prospective randomized study. *J Assist Reprod Genet.* 2008;25:365 - 74.

320. Navot D, Bergh P, Laufer N. Ovarian hyperstimulation syndrome in novel reproductive technologies: prevention and treatment. *Fertil Steril.* 1992;58:249 - 61.

321. Sathanandan M, Warnes G, Kirby C, et al. Adjuvant leuprolide in normal, abnormal and poor responders to controlled ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization/gamete intrafallopian transfer. *Fertil Steril.* 1989;51:998 - 1006.

322. Bahçeci M, Ulug U, Ben-Sholomo I, Erden H, Akman M. Use of a GnRH antagonist in controlled ovarian hyperstimulation for assisted conception in women with polycystic ovary disease. *J Reprod Med.* 2005;50:84 - 90.

323. Propst A, Bates G, Robinson R, Arthur N, Martin J, Neal G. A randomized controlled trial of increasing recombinant follicle-stimulating hormone after initiating a gonadotropin-releasing hormone antagonist for in vitro fertilization-embryo transfer. *Fertil Steril.* 2006;86:58 - 63.

324. Heijnen E, Eijkemans M, Hughes E, Laven J, Macklon N, Fauser B. A meta-analysis of outcomes of conventional IVF in women with polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod Update.* 2006;Jan-Feb;12(1):13-21.

